



HAL
open science

Le sommeil : microarchitecture, oscillations cérébrales et consolidation mnésique. Etude électrophysiologique in vivo chez la souris

Marie Lacroix

► To cite this version:

Marie Lacroix. Le sommeil : microarchitecture, oscillations cérébrales et consolidation mnésique. Etude électrophysiologique in vivo chez la souris. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2016. Français. NNT : 2016PA066098 . tel-01811689

HAL Id: tel-01811689

<https://theses.hal.science/tel-01811689>

Submitted on 10 Jun 2018

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

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

Université Pierre et Marie Curie

Ecole doctorale n°158 Cerveau, Cognition, Comportement

Laboratoire Plasticité du Cerveau, ESPCI-CNRS UMR8249

Le sommeil : microarchitecture, oscillations cérébrales et consolidation mnésique

Étude électrophysiologique in vivo chez la souris.

Par **Marie Lacroix**

Thèse de doctorat de Neurosciences

Dirigée par **Karim Benchenane**

Présentée et soutenue publiquement le 08 Juin 2016

Devant un jury composé de :

Dr **Philippe Faure**, Directeur de Recherche, en qualité de président du jury,

Pr **Damien Léger**, Professeur, en qualité de rapporteur,

Dr **Nadine Ravel**, Directrice de Recherche, en qualité de rapporteur,

Dr **David Dupret**, Chef d'équipe de l'université d'Oxford, en qualité d'examineur,

Dr **Alain Destexhe**, Directeur de Recherche, en qualité d'examineur.

À ma mère et à mon père, qui m'ont appris comment ménager la chèvre et le chou...

Remerciements

Tout d'abord, j'aimerais remercier très chaleureusement Philippe Faure, David Dupret et Alain Destexhe pour avoir accepté de faire partie de mon jury, ainsi que Damien Léger et Nadine Ravel qui ont en plus accepté d'être rapporteurs de mon manuscrit.

Merci également à tous les grands scientifiques qui ont croisé ma route et qui, grâce à leur passion et leur dévouement envers les neurosciences, m'ont orienté vers cette thèse et inspirée durant toutes ces années. Je pense à Gyuri Buzsaki, Adrien Peyrache, Thierry Bal, Lisa Roux, mais aussi et surtout à mon directeur de thèse Karim Benchenane. Karim, tu as été un vrai guide pendant ces 4 années. Bien que j'ai pu être parfois intransigeante face aux projets que tu proposais, tous plus intéressants les uns que les autres, tu as su me convaincre et me rassurer. Le résultat est là et, malgré les tensions qui ont pu exister, je te serai à jamais reconnaissante de m'avoir donné la chance de travailler dans ton labo. Merci infiniment à toi, mais aussi à Laure Rondi-Reig, André Klarsfeld, Thomas Prétat, l'ESPCI et l'ENS de m'avoir permis de faire un master et un doctorat dans d'excellentes conditions.

J'aimerais ensuite remercier mes collègues de l'équipe MOBs. Hélène Geoffroy dont le travail impeccable et indispensable m'ont beaucoup aidée dans cette fin de thèse, Thierry Gallopin pour sa bonne humeur et ses blagues insoupçonnables, Léo Macé qui va assurer la relève avec enthousiasme et Karim El Kanbi qui a le moral à tout épreuve. Mais aussi Julie Lefort, merci beaucoup de ton travail, et de ton énergie inépuisable, de ton engagement dans des grandes causes de la « vraie » vie qui font relativiser les ingratitude de la thèse et donnent à réfléchir. Sophie Bagur, merci pour tout le travail que tu as fait, ta foi en *#breathingiseverything* et merci pour ton humour inébranlable et ta grande intelligence ! ça a été vraiment génial de partager mon quotidien avec vous pendant ces dernières années ! Enfin merci à toi mon cher Gaetan de Lavilléon de m'avoir accompagnée (jusqu'au bout !) de ces 4 années de thèse, partageant les Up et m'épaulant dans les Down, découvrant avec moi la folie des congrès américains et la Californie, la manie des start-up, l'ambition Cog'innov, mais aussi en partageant les secrets des soirées électro parisiennes !

Merci aux étudiants MOBs qui se sont succédés (et qui m'ont désignée doyenne du labo. Il est temps que je cède ma place !). Vous avez tous contribué par votre enthousiasme à faire de cette thèse un moment très riche. Merci beaucoup à Antoine, Cristina, Marina, Romain, Johanna, Gabriel et Kejian, pour votre aide très précieuse ! Merci aussi à Manon et Clara, et merci à ceux qui sont devenus de très bons amis : Noelia, Matthieu T. et Matthieu K, vous êtes vraiment super.

Merci à toute l'UMR plasticité du cerveau et aux anciens du labo, acolytes des Jueves de la cerveza: PYM, Emna, Isa, Gigi & Heidy, Alexandra, Raouf, Leiore, Lisa pour les innombrables moments de

bonheur passé en votre compagnie au bar de PC, en soirée, aux buttes Chaumont, à Prague ou à Istanbul ! Merci aussi aux anciens du labo de Jussieu : Béné, Samir, Steeve, Seb !

Un très très grand merci aussi à ma famille. Merci à Papa et Maman qui m'ont permis de faire des études et qui m'ont encouragée l'un comme l'autre à faire des neurosciences par leur curiosité respective. Merci à Léa et Briec, merci à Axel pour votre compassion. Merci à Christiane, Nicole, Isabelle, Nath, Sandrine, Françoise, FX, JB, Gillou, Mamyline et à mes deux Papy pour le soutien.

Merci à mes amis, les piliers sans qui je ne serai pas ce que je suis aujourd'hui, Diana, Sabrina, Jessica et Basile ! j'ai de la chance de vous avoir à mes côtés. Merci à Bouille Bouille ! Merci à mes supers colloqs' Greg et Max pour ces belles années inoubliables ! Merci aux BGBs pour leur motivation à toute épreuve !

Et enfin, je te remercie Julien, mon amour, de m'avoir soutenue et accompagnée dans ces passages mouvementés. Ta confiance m'a donné la force de réussir et je suis heureuse et fière de partager ta vie.

Merci, Merci, Merci.

Résumé

Le **sommeil**, qui occupe un tiers de nos vies, est essentiel pour la consolidation de notre **mémoire**. Chez l'homme, chaque cycle de sommeil est composé d'une phase de sommeil paradoxal (**REM**) durant laquelle l'activité électro-encéphalographique (EEG) est désynchronisée comme dans l'éveil, et de plusieurs phases de sommeil **non-REM**. Les différentes phases de non-REM sont caractérisées par la présence, plus ou moins importante, d'oscillations de grandes amplitudes dans la bande **delta** (1-4Hz), de **spindles** thalamo-corticale (8-14Hz) et de **ripples** hippocampiques (150-200Hz). Chez le rongeur, on retrouve le REM, mais le non-REM constitue une seule et unique phase, en dépit de la présence de nombreux patterns oscillatoires communs à l'homme.

Ces oscillations cérébrales du sommeil sont liées à la mémoire. En effet un apprentissage entraîne une augmentation des spindles et des ondes delta dans le sommeil qui suit, et les performances sont positivement corrélées à cette augmentation. De plus, l'augmentation artificielle du rythme delta durant le sommeil améliore la mémoire.

Les mécanismes fins sous-tendant l'effet bénéfique du sommeil sur la mémoire ont été le plus clairement établis pour la mémoire spatiale, qui dépend en grande partie d'une structure cérébrale appelée **hippocampe**. En effet, l'hippocampe contient des **cellules de lieu**, des neurones dont l'activité est directement corrélée à la position de l'animal. Après un apprentissage spatial, l'activité des cellules de lieu est rejouée durant le sommeil au moment des ripples, comme si la trace mnésique se répétait pour **consolider** l'apprentissage. L'inhibition de l'hippocampe au moment des ripples entraîne une diminution des performances au réveil, montrant que les ripples sont importantes dans la consolidation de la mémoire. Mais qu'en est-il des réactivations neuronales ? Les cellules de lieu portent-elles la même information spatiale dans le sommeil que dans l'éveil ? Et ont-elles réellement un rôle causal dans la navigation spatiale ?

Au moyen d'une interface cerveau machine, nous avons associé les réactivations spontanées d'une cellule de lieu pendant le sommeil à une stimulation de récompense. Au réveil, alors que ce lieu particulier n'avait jamais été associé à une récompense, la souris s'y rendait directement. Une préférence de lieu a donc été apprise durant le sommeil prouvant que les cellules de lieu détiennent la même information spatiale durant la navigation que durant le sommeil. De plus, ce résultat montre le rôle causal des cellules de lieu dans la navigation spatiale, et valide la possibilité de créer une mémoire complexe durant le sommeil.

Enfin, la transposition à l'homme des résultats obtenus chez le rongeur se heurte au fait que le sommeil non-REM semble différent chez les deux espèces, alors que les ripples et les réactivations associées apparaissent précisément pendant ce type de sommeil. Nous avons donc développé une nouvelle méthode pour différencier des sous-stades de non-REM chez la souris, permettant la description fine des interactions entre les oscillations cérébrales du sommeil impliquées dans la consolidation mnésique. Le rôle du rythme respiratoire et du bulbe olfactif dans la régulation du sommeil est également discuté.

Sommaire

Remerciements 6

Résumé..... 8

Sommaire..... 12

I- Introduction Partie 1 : Sommeil et rythmes cérébraux..... 4

I-1 Généralités sur le sommeil 6

I-1-a Définition, origine et importance du sommeil 6

Définition du sommeil 6

Définition des cycles de sommeil..... 8

Fonctions du sommeil : indices provenant de l'étude phylogénétique..... 8

Fonctions du sommeil : les déficits induits par la privation de sommeil 12

I-1-b Physiologie et régulation du sommeil 14

Réseaux cérébraux responsables de l'éveil, du REM et du NREM 14

Modulation et régulation des états de sommeil : Facteurs humoraux 18

Modulation et régulation des états de sommeil : le rythme circadien..... 20

Modulation et régulation des états de sommeil : Facteurs physiologiques 24

Qualité du sommeil, troubles du sommeil et pathologies..... 25

I-2 Microarchitecture du sommeil..... 28

I-2-a Caractéristique d'un cycle de sommeil 28

Les différentes phases d'un cycle de sommeil 28

Cyclic alternative patterns..... 30

Les rythmes cérébraux et leur importance 32

I-2-b Spécificité des sous-stades de sommeil chez l'animal..... 34

Différenciations de sous-stades chez l'animal 34

Raisons putatives pour un manque de consensus 35

I-2-c Régulation de la microarchitecture du sommeil : processus homéostatiques..... 38

Homéostasie du sommeil et NREM..... 38

Contrôle homéostatique ou oscillatoire du REM 42

Homéostasie neuronale 44

I-3 Les oscillations cérébrales du sommeil 48

I-3-a Origine et implication des rythmes cérébraux 48

Le potentiel de champ local..... 48

Les sources et puits de courants 50

I-3-c Genèse des rythmes du sommeil 52

Les spindles..... 52

Les ondes lentes 54

Les ripples..... 56

Le thêta du REM 58

I-3-b Le rythme respiratoire et le bulbe olfactif durant le sommeil..... 60

La respiration et sa régulation..... 60

Anatomie du circuit olfactif et couplage à la respiration..... 62

Respiration, bulbe olfactif et sommeil..... 66

Sommeil, olfaction et dépression..... 68

Chapitre 1 - en bref..... 72

II- Introduction Partie 2 : Mémoire et Sommeil.....	76
II-1 Généralité sur la mémoire	76
II-1-a Historique de l'étude de la mémoire	76
A la recherche de l'engramme.....	78
La classification de la mémoire chez l'homme.....	80
Classification de la mémoire chez l'animal.....	82
Double dissociation chez l'homme et chez l'animal	84
II-1-b Le système limbique.....	86
Anatomie de l'Hippocampe	86
Système de récompense : VTA et NAcc	88
Dialogue dans le système limbique.....	90
II-1-c Substrat et manipulation de l'engramme	92
Le substrat de l'engramme	92
Consolidation mnésique	94
Manipulation de l'engramme.....	98
II-2 Le rôle du sommeil dans la mémoire	102
II-2-a Historique du rôle mnésique du sommeil.....	102
Rôle bénéfique du sommeil pour l'apprentissage	102
Les effets de la privation de sommeil.....	104
Modification du sommeil par l'apprentissage.....	104
II-2-b Homéostasie synaptique durant le sommeil	108
II-2-c Apprentissage durant le sommeil	110
Le sommeil et l'insight.....	110
Création d'une nouvelle mémoire pendant le sommeil	110
Plasticité durant le sommeil	112
II-3 Cas particulier de la mémoire spatiale	116
II-3-a Hippocampe et navigation spatiale.....	116
Les cellules de lieu.....	116
L'information spatiale.....	118
Autres cellules de l'espace	120
II-3-b le rôle causal des cellules de lieu	122
Modification de l'activité des cellules de lieu par le comportement	122
Modification du comportement après modification des cellules de lieu.....	122
Le mind-travelling.....	124
II-3-c Les cellules de lieu durant le sommeil	126
Réactivation des assemblées cellulaire.....	126
Causalité des réactivations neuronales.....	128
Le sommeil, un prisme pour l'étude de la mémoire	130
Chapitre 2, en bref	132
III- Résultats Partie 1 : Création d'une préférence de place durant le sommeil, implication pour la compréhension de la mémoire spatiale.....	136
Problématique	136
III-1 Article publié	138

III-2 Le sommeil : un outil pour comprendre la mémoire (Revue publiée)160

Discussion168

Nouvelle association lieu-récompense durant le sommeil..... 168

Mémoire explicite et comportement dirigée vers un but..... 170

IV- Résultats Partie 2. Microarchitecture du sommeil, description d'une nouvelle classification des états de vigilance chez la souris..... 176

Problématique176

Matériels et Méthodes.....180

Implantation des électrodes 180

Session de sommeil..... 180

Acquisition des signaux électrophysiologiques et vidéo 180

Enregistrement de la respiration par pléthysmographe..... 182

Acquisition wifi des signaux électrophysiologiques (pléthysmographe) 182

Détection et clusterisation des spikes 182

Analyse sur l'activité neuronale 184

Détection des ripples. 184

Spectres de puissance et quantification du rythme delta 184

Détection des spindles..... 186

Détection des périodes oscillantes du sommeil. 186

Base de donnée chez l'homme 186

IV-1 Définition et caractérisation de sous-stades de NREM chez la souris.....188

IV-1-a. Développement d'une méthode de scoring des stades de NREM..... 188

Différenciation classique entre éveil, REM et NREM..... 188

Définition du N3 comme forte densité d'ondes delta 192

Détection des périodes oscillantes N2/N3 194

Résumé de la méthode 196

IV-1-b. Caractéristiques générales des sous-stades de NREM..... 198

Durée totale des sous-stades de NREM..... 198

Variabilité interindividuelle et intra individuelle de la durée des états 198

Les rythmes du sommeil..... 198

Qu'est-ce que le N1 ? 202

Changement de l'activité neuronale 202

IV-1-c. Dynamique des sous-stades de sommeil.....208

Durée moyenne d'un épisode..... 208

Probabilité de transition..... 208

Spectres de transition..... 210

IV-2 Importance des sous-stades de NREM : Homéostasie et coordination des rythmes.....212

IV-2-a. Macrostructure des différents sous-stades du sommeil212

Corrélation entre la durée globale des états..... 212

IV-2-b Processus homéostatique214

Evolution des sous-stades au cours de la « nuit de sommeil » 214

Quantification de la diminution du rythme delta au cours du sommeil 216

Evolution de l'activité neuronale au cours du temps de sommeil..... 216

IV-2-c. Coordinations des rythmes220

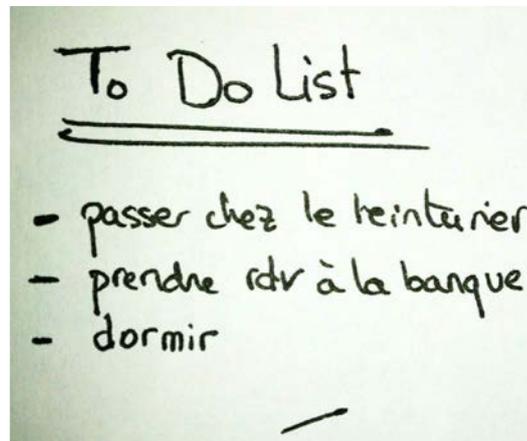
Cross-Corrélogrammes entre spindles, onde delta et ripples..... 220

IV-2-d. Communication entre hippocampe et cortex préfrontal	222
IV-3 Lien entre Bulbe Olfactif et Sommeil.....	224
IV-3-a Détecter les états de vigilance à partir du Bulbe Olfactif	224
Le rythme gamma : différence éveil - sommeil.....	224
Méthode de scoring du sommeil	226
Avantages de la méthode.....	226
Exemples d'application de cette méthode	226
IV-3-b Le rythme respiratoire du Bulbe olfactif et les états de vigilance.....	230
Le rythme respiratoire du Bulbe Olfactif.....	230
La respiration au cours des états de vigilance et gating	232
Sous-stades de NREM et oscillations lentes dans le BO	234
IV-3-c La cohérence entre BO et Cortex au rythme delta.....	236
Modulation du cortex préfrontal par le LFP du BO.....	236
Cohérence entre respiration, BO et cortex	236
Causalité de Granger	238
IV-4. Implication du BO dans les processus du sommeil	238
IV-4-a Le BO comme moteur de l'activité neuronale corticale	238
Modulation des neurones du cortex préfrontal par le BO	240
Modulation des ondes delta et états Down par le LFP du BO.....	242
IV-4-b Homéostasie des oscillations delta du BO	244
Décroissance des oscillations lentes du BO durant le sommeil.....	244
Lien entre homéostasie des oscillations lentes et sous-états de NREM.....	246
IV-4-c Cycles du sommeil et oscillations du BO	248
Décroissance de l'amplitude des oscillations du OB au sein d'un cycle de sommeil.....	248
Décroissance locale et décroissance globale	250
IV-5 Cycles de sommeil, comparaison à l'homme	252
IV-5-a conservation de l'organisation globale des cycles de sommeil	252
Evolution globale des phases de sommeil	252
Des cycles de sommeil	252
Evolution des cycles au cours de la nuit de sommeil	254
IV-5-b conservation de la dynamique de changement de phase	256
Discussion	260
L'homéostasie globale du sommeil (macroarchitecture).....	260
L'homéostasie locale du sommeil (cycle de sommeil).....	264
L'homéostasie ultrarapide (switch)	264
Différencier le sommeil pour étudier la consolidation mnésique.....	266
Conclusion générale	270
Annexe.....	271
Article publié : l'organisation interne des cellules de direction de la tête.....	278
Article publié : Modulation des oscillations lentes du bulbe olfactif par les astrocytes	285
Bibliographie	301

Introduction

I- Introduction Partie 1.

Sommeil et rythmes cérébraux



I- Introduction Partie 1 : Sommeil et rythmes cérébraux

Alors que nous y consacrons un tiers de nos vies, le sommeil reste encore un mystère. Une seule chose est sûre : chaque jour, quelque chose d'irrépressible nous pousse à nous abandonner aux bras de Morphée.

Cette fascination du sommeil provient de l'apparente contradiction entre le besoin d'un organisme d'être sensible, attentif au monde extérieur afin d'assurer sa survie, et le temps quotidien passé dans un état de vulnérabilité totale dès lors qu'il est endormi. Qu'avons-nous de si important à faire durant le sommeil qui ne puisse pas être réalisé dans un repos conscient ?

Ce besoin inéluctable de fermer les yeux et de perdre conscience pour quelques heures chaque jour est d'ailleurs au cœur de l'organisation de nos sociétés et rythme ses activités. Aujourd'hui cependant, un raccourcissement du temps de sommeil est constaté dans les sociétés occidentales dans lesquelles de multiples facteurs nous poussent à rester éveillés. Quand l'homme s'organise autour des besoins de la société et non l'inverse, il en résulte un déséquilibre à l'échelle individuelle et une « épidémie » de troubles du sommeil sévit actuellement. Une meilleure compréhension des processus impliqués dans le sommeil permettra de mieux comprendre les facteurs à l'origine de ces troubles, non seulement pour soigner les maux mais surtout pour aider au choix des pierres qui serviront à bâtir la société de demain.

Un autre aspect du sommeil qui n'a cessé d'interroger les hommes est son contenu onirique. À quoi peuvent bien servir nos rêves ? Cette réalité chimérique, bicornue, étrange, à laquelle nous nous abandonons quelques heures par nuit, est une expérience des plus singulières. La richesse de ce monde imaginaire au moment même où le corps se trouve inactif, comme dépossédé de son âme, a longtemps inspiré philosophes et théologiens pour séparer corps et esprit. Mais l'origine de cet état de conscience désincarnée se trouve bel et bien dans des mécanismes biologiques complexes dont les ressorts donneront encore beaucoup de travail aux scientifiques.

Nous nous proposons ici de faire une revue des processus impliqués dans les états de vigilance, à l'échelle de l'organisme, des systèmes, de l'anatomie puis de réseau cellulaire. Une machinerie complexe et bien rodée, que vient réguler une multitude de facteurs.

I-1 Généralités sur le sommeil

Chacun se représente ce qu'est le sommeil : un état **d'immobilité** prolongée, à quelques mouvements près, dans une **posture** particulière, le plus souvent allongé. Et cette immobilité s'accompagne de la disparition de la réponse normalement observée durant l'éveil, la personne n'interagissant plus avec le monde extérieur. Il faudra alors la secouer, ou l'appeler par son nom, pour la sortir de cet état de non-réponse. On peut alors ajouter à l'immobilité, une **diminution de la réponse** aux stimulations sensorielles externes comme critère pour identifier le sommeil. Enfin, une caractéristique majeure du sommeil est le processus d'**homéostasie** associé : le temps de sommeil quotidien est régulé de sorte qu'une privation de sommeil sera toujours associée à un rebond de sommeil. Ces mêmes caractéristiques -d'immobilité, de posture, de réponse diminuée aux stimuli sensoriels et de rebond de sommeil- sont observés chez les animaux. On visualise tous un chat ou un chien endormi, lové sur le canapé. Quant à l'homéostasie, le rebond de sommeil est observé même chez la mouche.

Dès la fin du XIXème siècle, les enregistrements électrophysiologiques font leur apparition. Il est alors possible d'explorer à travers ces outils les différents états de conscience en terme d'activité cérébrale. Face à la complexité des signaux observés alors, une catégorisation grossière reposant sur les critères les plus saillants permet de différencier les trois grands états de vigilance que nous allons aborder succinctement ici. Cela nous permettra de définir ce qu'est le sommeil, pour ensuite aborder sa préservation au sein du vivant et ses différents rôles.

I-1-a Définition, origine et importance du sommeil

Définition du sommeil

Le sommeil se définit donc par une absence de mouvement, une diminution, rapidement réversible, de la réponse aux stimuli sensoriels et par la présence d'une régulation homéostatique. L'apport des enregistrements électrophysiologiques ont permis d'étendre les paramètres permettant de définir le sommeil.

Dès 1935, le neurophysiologiste Loomis met en évidence cinq phases successives dans une nuit de sommeil grâce à l'EEG et les énonce de A à E: A et B correspondaient à la phase d'endormissement, C au sommeil léger, D et E au sommeil profond (Loomis et al., 1935a). Cette distinction a globalement peu évolué et a abouti à la classification actuelle.

Trois états principaux de vigilance peuvent être définis par polysomnographie, c'est à dire l'enregistrement conjoint de l'activité électroencéphalographique (EEG), électromyographique (EMG) et parfois électro-oculographique (EOG) comme illustré sur la Figure 1.1.

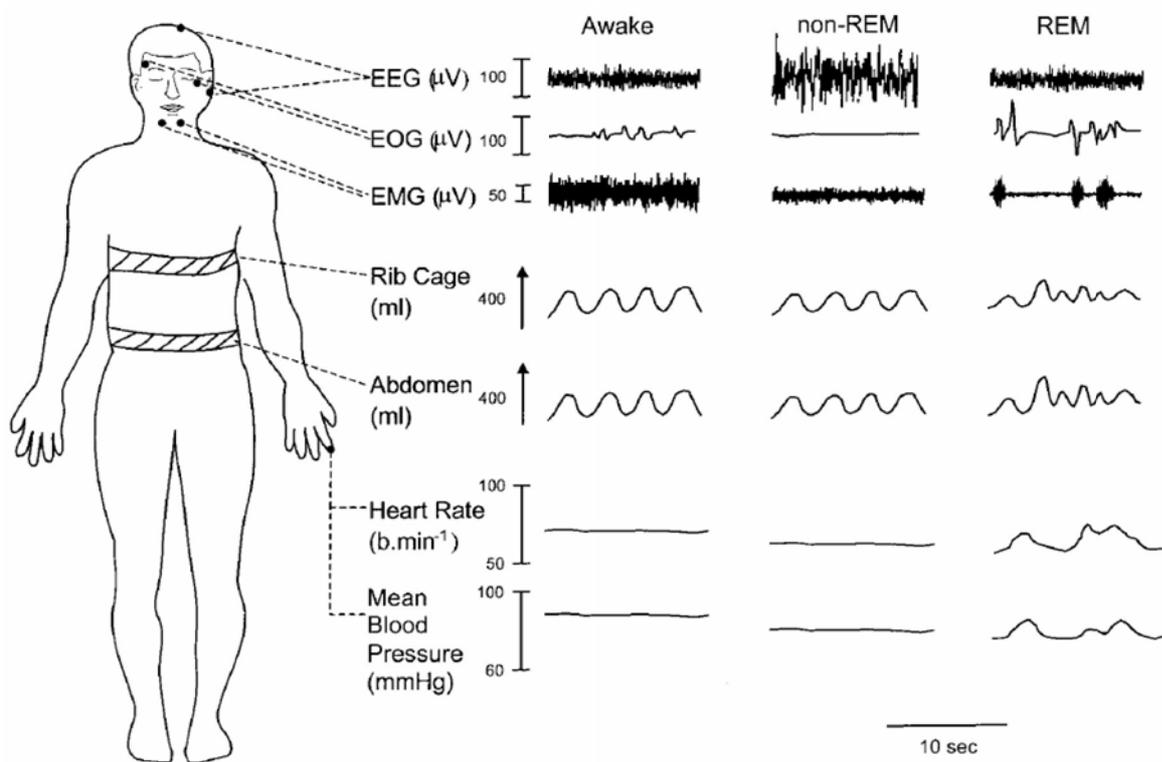


Figure 1.1 schéma illustrant l'étude du sommeil par polysomnographie.

Afin de différencier les différents états de vigilance, des électrodes sont placées à la surface du crâne (EEG), sur les muscles du menton (EMG) et au niveau des muscles des yeux (EOG). Ces enregistrements s'accompagnent également de l'enregistrement du rythme respiratoire, de la pression artérielle et du rythme cardiaque. Lors de l'éveil calme on peut noter une activité EEG de faible amplitude, un EMG très actif, une respiration régulière et quelques mouvements oculaires. En NREM, l'EEG présente des ondes lentes de grande amplitude, un faible EMG, un rythme respiratoire régulier et pas de mouvement des yeux. Le REM présente une activité désynchronisée sur l'EEG, une EMG plat à l'exception de twitch dus aux mouvements oculaires rapides, et une respiration irrégulière. Une diminution de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle est observable entre éveil, NREM et REM, avec une variabilité plus importante en REM (Thompson *et al.*, 2001).

Tout d'abord, l'éveil se caractérise par de grandes variations sur l'EMG indiquant des mouvements fréquents et un tonus musculaire élevé. L'EEG est quant à lui désynchronisé : avec des ondes de faible amplitude et de fréquence élevée.

Le **sommeil paradoxal** se caractérise quant à lui par un EEG de faible amplitude similaire à l'éveil, mais accompagné d'une **atonie musculaire** totale (EMG plat). Cette contradiction entre l'apparente immobilité et l'activité cérébrale proche de l'éveil lui vaut son nom. La présence phasique de mouvements rapides des yeux visibles sur l'EOG lui vaut aussi le nom **REM** (pour Rapid Eye Movement sleep). Cet état fut décrit pour la première fois dans les années 50 (Dement & Kleitman, 1957; Jouvet *et al.*, 1959), et associé à un contenu onirique riche, les sujets réveillés en REM décrivant des rêves complexes.

Enfin, le **sommeil à ondes lentes** se caractérise par un EMG faible, et un EEG présentant des ondes de basse fréquence mais de grande amplitude. Comme les ondes lentes ne sont pas présentes durant tout le sommeil non-paradoxal, nous utiliserons plutôt le terme **NREM** pour désigner ce type de sommeil (voir Introduction I.2a-b et I.3c). Ce stade est classiquement subdivisé en 4 sous-stades (S1, S2, S3, S4) selon la classification Rechtschaffen & Kales (Rechtschaffen & Kales, 1968) ou en 3 sous-stades (N1, N2, N3) selon les dernières recommandations de l'AASM (Iber *et al.*, 2007).

D'autres paramètres physiologiques varient entre les états de vigilance. La température, la pression artérielle, la fréquence cardiaque ou encore le rythme respiratoire, suivent des variations au cours de la journée mais aussi au sein du cycle de sommeil.

Définition des cycles de sommeil

Historiquement la découverte du sommeil REM provient de l'observation d'une apparition régulière de périodes associées à de forts mouvements de yeux. Cela a permis de montrer que le sommeil n'est pas un bloc homogène et de définir le sommeil REM. Mais il a également permis de définir les cycles de sommeil comprenant le sommeil NREM et se terminant par le sommeil REM. Chez l'homme ces cycles durent environ 90 min, et se succèdent durant la nuit avec une quantité de REM de plus en plus grande. Ces cycles ont également été observés chez les animaux notamment chez le rongeur.

Fonctions du sommeil : indices provenant de l'étude phylogénétique

Ces critères établis, une grande question fut de savoir à quel point les phénomènes observés durant le sommeil sont ubiquitaires. En effet, tous les animaux de la planète dorment, mais leur sommeil est-il semblable d'un point de vue EEG, et quels sont les grandes caractéristiques partagées dans le règne animal ? De plus la conservation de certains processus pourrait nous orienter pour identifier la fonction du sommeil.

Introduction

	Primates	Autres mammifères	Monotrèmes	Oiseaux	Reptiles	Amphibiens	Poissons	Mollusques	Insectes
Période prolongée d'inactivité	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Organisation circadienne	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Seuil de réponse plus élevé	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sites/postures spécifiques	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ondes lentes de grande amplitude	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Sommeil paradoxal (atonie)	+	+	+	+	+/-	-	-	-	-

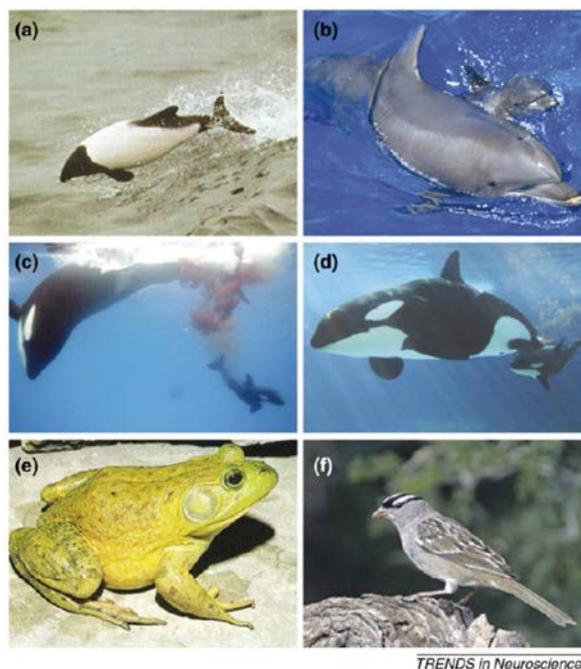


Figure 1.2 : le sommeil dans le règne animal

Table : caractéristiques des périodes d'activité dans différentes classes d'animaux (Meddis, 1975). Le sommeil avec REM et NREM se retrouve uniquement chez les oiseaux et les mammifères. Les monotrèmes, ovipares allaitant leurs petits, entrent en REM uniquement lorsque la température extérieure est autour de 25°C (Siegel *et al.*, 1998), ce qui leur a valu une « absence de sommeil paradoxal » en 1975, corrigé aujourd'hui en rouge. Selon des études plus récentes, les reptiles semblent avoir un REM primitif, suggérant une origine évolutive lointaine (Siegel *et al.*, 1999). *Bas*: Animaux court-dormeurs (Siegel, 2008). Certains oiseaux migrateurs ou mammifères marins réduisent leur temps de sommeil pendant la période migratoire ou de reproduction, mais restent sensibles à la privation de sommeil en dehors de cette période. En revanche certaines espèces comme la grenouille *Rana catesbeiana* présentent des périodes d'inactivité, mais associées à une augmentation de la sensibilité aux stimuli sensoriels, alors non considérées comme du sommeil (Meddis, 1975)..

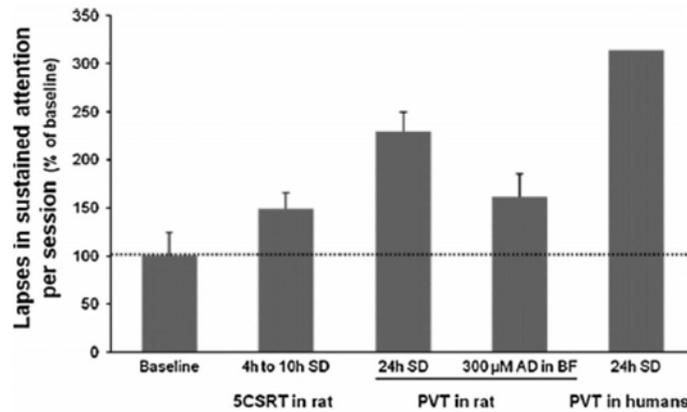
Au sein du règne animal, des états d'inactivité se retrouvent jusqu'aux organismes les plus simples, comme le mollusque ou les insectes. Ces périodes d'inactivité prolongée suivent des rythmes circadiens, obéissant à l'alternance jour/nuit et à un cycle de 24h, et sont associées à une sensibilité diminuée ainsi qu'à une posture ou un endroit spécifique. Privés des informations du monde environnant, les animaux sont donc en situation d'extrême vulnérabilité et il est difficile de comprendre pourquoi le sommeil a été sélectionné par l'évolution. Cette conservation, malgré ce désavantage évident, est un des arguments les plus forts pour donner au sommeil un rôle essentiel qui a été sélectionné au cours de l'évolution, favorisant d'une manière ou d'une autre la survie de l'espèce (Figure 1.2table).

Une observation importante est que le **sommeil**, défini avec les critères EEG détaillés plus haut et caractérisant des phases de REM et NREM, ne se retrouve que chez les animaux homéothermes : mammifères et oiseaux. La présence du REM chez les homéothermes suggère l'existence d'un lien entre le REM et le métabolisme énergétique ainsi que la régulation de la température. La présence de REM permet d'identifier les cycles de sommeil qui sont conservés chez ces animaux, et la durée du cycle est corrélée avec leur poids (Savage & West, 2007). En 1976, Allison & Cicchetti ont effectué une analyse multivariée de la relation entre le sommeil et les variables écologiques ou constitutionnelles pour 39 espèces de mammifères (Allison & Cicchetti, 1976). Le sommeil paradoxal est associé à un facteur lié au danger de prédation, ce qui suggère que de grandes quantités de cette phase de sommeil sont désavantageuses pour les proies. Le sommeil lent est quant à lui négativement associé à un facteur lié à la taille du corps, ce qui suggère que de grandes quantités de cette phase de sommeil sont désavantageuses dans les grandes espèces.

Ces données suggèrent que **la pression évolutive a pu s'exercer différemment sur le NREM et le REM**. Les deux phases du sommeil auraient donc des mécanismes de génération différents, mais cela suppose également que leur régulation doit être finement coordonnée.

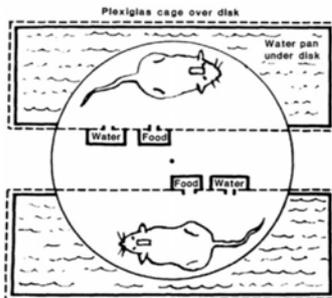
L'idée selon laquelle le rôle originel du sommeil serait de maintenir une moindre consommation énergétique est appuyée par des études comparant sommeil et repos chez différents mammifères et montrant que le sommeil permettrait une économie de 10 à 70% d'énergie selon les espèces, par rapport à une même période éveillée. Chez l'homme cependant, l'économie d'énergie n'atteindrait que 134kcal (Jung *et al.*, 2011) et il semblerait qu'une redistribution de la consommation des ressources ait lieu entre des fonctions prépondérantes pendant l'éveil (musculaire, respiratoire, cardiaque) et des fonctions prépondérantes durant le sommeil (synthèse de certaines hormones, système immunitaire, stockage cérébral de glycogène, plasticité synaptique, etc.). Le sommeil paradoxal est par contre associé à une augmentation du métabolisme, notamment dans le cerveau; il est donc difficile de comprendre le rôle de ce sommeil, pourtant si conservé dans le règne animal (Siegel, 2011). Le sommeil permettrait ainsi une grande sauvegarde énergétique dans le but d'allouer cette énergie à d'autres fonctions que nous essaierons de détailler ici.

a.



b.

Rat #	Day	24-h change from baseline			Microbes cultured from blood
		Food (%)	Weight (%)	Temp. (°C)	
1	20	77	-8	-0.9	<i>Streptococcus agalactiae</i>
	21	130	-8	-1.1	
2	22	125	-24	-0.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	23	55	-28	-1.7	
3	21	103	-26	-0.6	<i>Corynebacterium</i> , Grp JK, <i>Staph.</i> & <i>Bacillus</i> Sp.
	22	91	-30	-1.5	
4	26	46	-25	ND*	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staph. aureus</i>
	27	-35	-27		
5	15	151	-15	-0.3	none
	16	238	-16	-1.5	
6	20	84	-14	0.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	21	-56	-20	-1.1	



* ND, not determined due to transmitter failure.

Figure 1.3 : Effet de la privation de sommeil

a- Effets de perturbations du sommeil sur la vigilance chez l’homme et le rongeur (McCoy & Strecker, 2011). Tests utilisés : test d’attention soutenue mesurant le temps de réaction chez le rat (5CSRT), test classique de vigilance psychomotrice chez l’homme (PVT in humans) et adapté chez le rongeur (PVT in rat). Conditions de perturbation du sommeil : privation de sommeil totale pendant 24h, pendant 4-10h ou avec une injection d’adénosine dans le télencéphale basal (BF) qui augmente la pression de sommeil chez le rat.

b- Privation de sommeil chez le rongeur (Everson, 1995). La privation de sommeil est induite par la méthode du disque au-dessus de l’eau, forçant le rat à bouger à chaque fois qu’il commence à s’endormir. Comme indiqué sur le schéma, un rat contrôle subit exactement le même nombre de rotations, mais peut dormir tant que le rat test reste éveillé. Cette privation de sommeil entraîne une perte de poids accompagnée d’une augmentation de la prise alimentaire, une diminution de la température corporelle et de la résistance aux infections bactériennes.

À noter que la vision du sommeil comme un processus indispensable est relativisée par l'observation de certains contre-exemples. En effet, certains oiseaux et autres animaux migrateurs sont ainsi capables de minimiser leurs temps de sommeil durant de longues semaines, sans aucun impact sur leur santé générale et capacités d'apprentissage, et sans entraîner un rebond de sommeil par la suite (Figure 1.2). La durée de sommeil semble donc avoir évolué pour s'adapter aux besoins énergétiques et comportementaux de l'animal, mais est également malléable pour certaines espèces. En dehors de ces périodes migratoires/reproduction, ces mêmes animaux supportent mal une privation de sommeil. Nous allons voir à présent ces symptômes.

En conclusion, si l'étude phylogénique a abouti à certaines hypothèses attractives quant au rôle du sommeil, il s'avère que chaque théorie est invalidée par de trop nombreuses exceptions pour aboutir à un cadre conceptuel cohérent.

Fonctions du sommeil : les déficits induits par la privation de sommeil

Un autre façon d'aborder la question de la fonction du sommeil est d'étudier les dérèglements induits par sa privation. Chacun a déjà ressenti les effets d'une restriction de sommeil, avec tout d'abord une fatigue : ce besoin de dormir qui nous empêche de rester vigilant et de réaliser les tâches que l'on fait en temps normal. Mais ces effets sont généralement rapidement réversibles. En revanche, une privation chronique ou une restriction prolongée de sommeil a des effets bien plus délétères, avec une vraie perte de qualité de vie.

Chez l'homme, l'**insomnie** a de nombreuses conséquences induisant une augmentation générale des problèmes médicaux (hospitalisation, médication), mais aussi une diminution de certaines capacités cognitives comme l'**attention**, avec pour conséquence une perte de performance au travail et un risque accru d'accident (Leger *et al.*, 2002). L'absence totale de sommeil entraîne sous quelques jours l'apparition d'hallucinations, la perte de mémoire immédiate, des troubles de l'humeur (irritabilité), mais aussi un symptôme pré-diabétique (Schenkein & Montagna, 2006). Le sommeil aurait donc un rôle dans la régulation du métabolisme et des fonctions cérébrales,

La fragmentation ou la réduction du temps de sommeil chez l'homme a également des effets délétères sur les processus cognitifs tels que l'attention et les fonctions exécutives, mais aussi sur les émotions et la perception sensorielle (Killgore, 2010; McCoy & Strecker, 2011). Les symptômes peuvent aller jusqu'à des hallucinations visuelles, confusion du langage, manque de convergence oculaire, baisse de concentration, désorientation, etc... Les tâches de vigilance psychomotrice sont utilisées pour quantifier les effets attentionnels et moteurs. Elles mesurent le temps de réponse à la présentation d'un stimuli, ce temps étant augmenté par la dette de sommeil. Ces résultats se retrouvent également chez l'animal dans des tests similaires (Figure 1.3a), permettant ainsi d'étudier plus en avant ce phénomène. Enfin, la mémoire est une des fonctions cognitives affectées directement par la privation de sommeil, ce point sera traité dans la partie II de l'introduction. La dette de sommeil affecte donc le fonctionnement cérébral de manière globale.

Introduction

En revanche, contrairement aux attentes, peu de changements apparaissent au niveau cérébral : pas de mort neuronale, pas d'augmentation de la consommation de glucose dans au moins 60 régions cérébrales testées. Une diminution de cette consommation est cependant observée dans le thalamus et l'hypothalamus, responsable de la sécrétion d'un nombre conséquent d'hormones, ainsi que dans le système limbique. Une autre étude montre en revanche une dégénérescence du noyau supraoptique (SON), jouant un rôle dans la régulation de la pression artérielle, de la résistance vasculaire et de la température corporelle en conditions normales (Eiland *et al.*, 2002).

Chez l'animal, la privation prolongée de sommeil a un effet létal (Everson, 1995). Les rats qui ne dorment pas perdent du poids et augmentent leur apport en aliments riches, suggérant un rôle métabolique du sommeil (Figure 1.3). Mais malgré un régime alimentaire enrichi pour compenser cette différence énergétique, leur température baisse d'1°C au bout de 2 à 3 semaines et ils ne sont plus capables de résister aux infections, suggérant également que la régulation de la température et du système immunitaire sont des rôles essentiels du sommeil.

Dans l'ensemble, les expériences de privation de sommeil ont permis d'identifier 4 modifications majeures : (1) un bilan énergétique négatif associé à une malnutrition, (2) une diminution hétérogène des fonctions cérébrales et cognitives, (3) une diminution des concentrations d'hormones thyroïdiennes, et (4) une diminution de la résistance à l'infection. Ces quatre facteurs peuvent être considérés comme ayant une origine précoce au cours du processus de privation de sommeil. Les autres dérèglements seraient des conséquences indirectes induites par la perturbation de ces 4 facteurs primaires (Everson, 1995).

En conclusion, comme pour les études phylogéniques, les études de privation de sommeil ont apporté de nombreuses indications sur les fonctions possibles du sommeil. Cependant, il reste toujours difficile d'expliquer pourquoi ces différentes fonctions nécessitent une période d'inactivité totale associée à une absence de réaction à l'environnement.

Le sommeil se définit par des critères d'immobilité, de posture, de seuil de réponse sensorielle abaissée et d'homéostasie. Chez les homéothermes, la présence de REM permet également de définir des cycles de sommeil, et le REM et NREM seraient deux processus régulés de manière différentielle.

La privation de sommeil entraîne des effets délétères sur plusieurs plans, suggérant un rôle du sommeil dans la régulation métabolique, thermique, immunitaire et des facultés cognitives.

I-1-b Physiologie et régulation du sommeil

Réseaux cérébraux responsables de l'éveil, du REM et du NREM

Pendant très longtemps le sommeil a été vu comme un processus passif induit par l'absence de stimulations sensorielles. Les premières évidences supportant cette hypothèse viennent des études de transection au niveau du tronc cérébral effectuées par Bremer chez le chat (Bremer, 1935). La section complète entre la moelle épinière et le tronc cérébral (cerveau isolé) entraîne de profondes modifications de l'EEG qui présente alors un état synchronisé similaire à celui observé au cours du sommeil chez les animaux normaux. Bremer conclut de ces expériences que l'état de veille normal est maintenue par les entrées sensorielles et que le sommeil représente un processus de désafférentation passif.

Afin d'évaluer davantage son hypothèse, Bremer a mené une seconde expérience de transection à un niveau plus bas du tronc cérébral (encéphale isolé). Cette procédure prive le cerveau de toutes les entrées sensorielles provenant de la colonne vertébrale, mais laisse toutes les entrées provenant des nerfs crâniens intactes. Contrairement à l'état de sommeil perpétuel induit par le cerveau isolé, le cerveau après transection inférieure présentait un cycle veille/sommeil, proche de ce qui est observé chez le chat en conditions normales, avec cependant une diminution de l'occurrence des phases de sommeil paradoxal. Cela renforçait ses convictions qui attribuait le cycle veille-sommeil aux effets des entrées sensorielles sur le cerveau, le sommeil étant une simple manifestation d'une diminution de « tonus » cortical normalement maintenu par le flux continu d'informations sensorielles.

Ce point de vue sur le sommeil fut remis en question par Moruzzi et Magoun (Moruzzi & Magoun, 1949) postulant que la section ne supprimait pas seulement les afférences sensorielles mais plutôt des afférences de systèmes cérébraux de maintenance de l'éveil. En stimulant électriquement certaines parties du mésencéphale d'un chat sous barbituriques, une désynchronisation de l'EEG similaire à l'éveil était visible, suggérant que cette structure était responsable du maintien de l'éveil. Ils observèrent alors que les chats atteints de lésions massives dans le mésencéphale étaient endormis ou comateux pendant la période postopératoire.

Le sommeil des mammifères est donc un état actif, et nous allons à présent détailler les mécanismes responsables du maintien des états de vigilance et ceux responsables du passage d'un état à l'autre. Les structures responsables des états veille/sommeil et de la régulation de l'alternance entre les états de vigilance semblent se répartir entre un grand nombre de noyaux du tronc cérébral et de l'hypothalamus (Brown, Basheer, *et al.*, 2012; Richter *et al.*, 2014).

Lors de l'éveil, le cortex cérébral est activé par les noyaux cholinergiques (LDT/PPT), sérotoninergiques (DR/MRN) et noradrénergiques (LC) du tronc cérébral, soit directement, soit indirectement via l'hypothalamus ou le thalamus ; et par des noyaux cholinergiques du cerveau antérieur basal (Figure 1.4a). D'autres noyaux importants comme, le LHA (hypocrétine), le TMN

Introduction

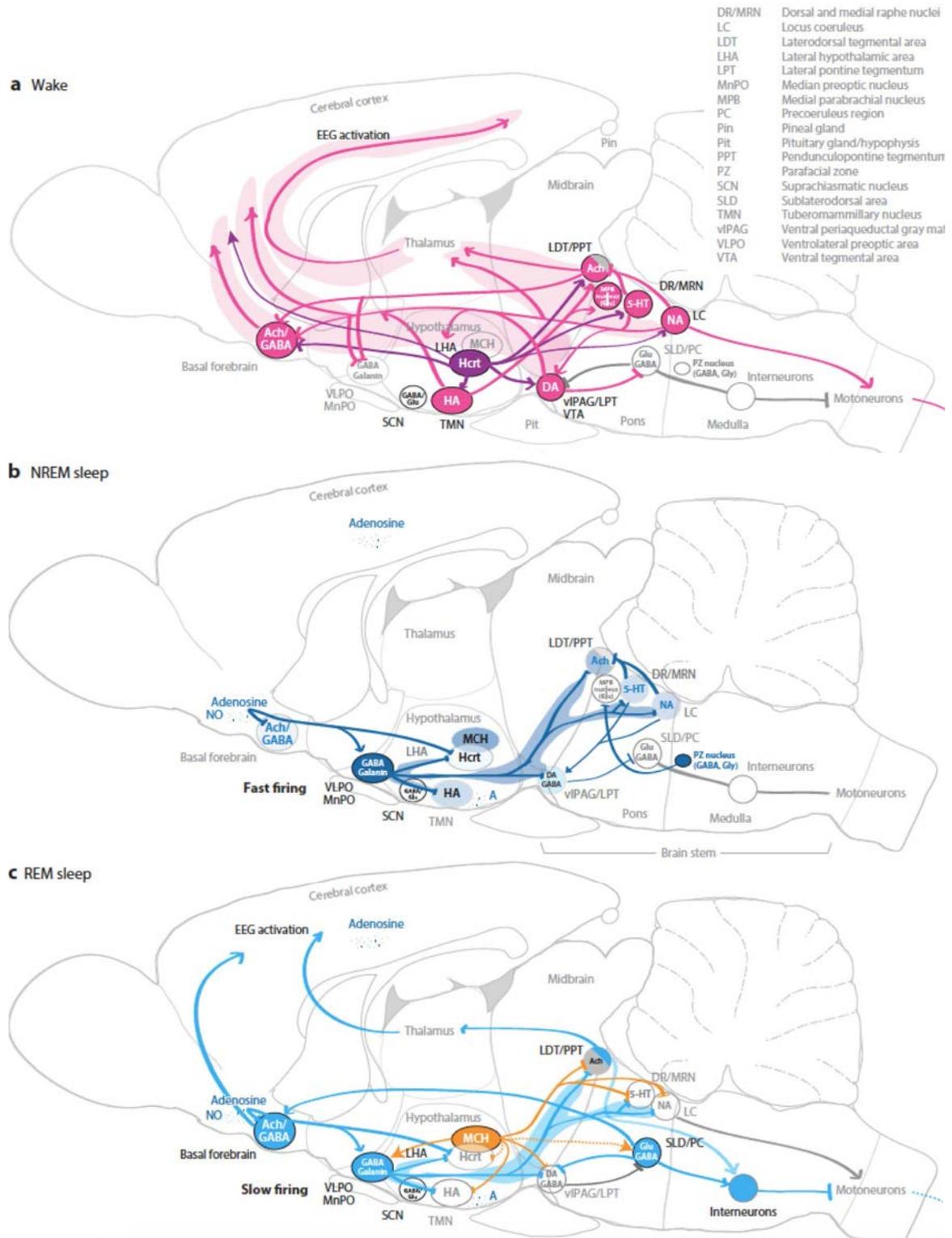


Figure 1.4 : Noyaux responsables de l'éveil, du NREM et REM (Richter *et al.*, 2014).

a- Durant l'éveil, les noyaux du tronc cérébral activent l'hypothalamus, les motoneurons, ainsi que le cortex cérébral via le thalamus et le télencéphale basal. b- Durant le NREM, le VLPO inhibe le tronc cérébral et les aires hypothalamiques associées à l'éveil. Les substances hypnogènes endogènes (adénosine, NO) inhibent le télencéphale basal et l'hypothalamus mais l'adénosine active le VLPO. c- Les noyaux actifs du REM (LDT, PPT, SLD, PC) activent le télencéphale basal et le cortex, induisent l'atonie musculaire et les mouvements des yeux. Les noyaux hypothalamiques contenant la MCH (melanine-containing hormone) inhibent les noyaux inhibiteurs du REM (vPAG/LPT, DR, LC).

(histamine) et dans une moindre mesure VTA (dopamine) sont également impliqués dans le maintien de l'éveil par l'activation du cortex ou des noyaux antérieurs et pontiques cités précédemment. Notamment, une grande partie de ces noyaux inhibent les centres impliqués dans le sommeil que nous allons voir maintenant.

Lors du NREM, le VLPO inhibe les noyaux pontiques et hypothalamiques impliqués dans l'éveil par transmission GABA et galanine. Le cortex cérébral, ainsi que le Locus Cœruleus responsable du tonus musculaire, cessent alors d'être activés (Figure 1.4b). L'adénosine et le monoxyde d'azote (NO), deux substances hypnogènes, inhibent l'activité dans le cortex, l'hypothalamus et le télencéphale basal actifs durant l'éveil. En revanche l'adénosine active le VLPO et vient renforcer le maintien du NREM.

Enfin, des études lésionnelles montrent que la région cruciale pour le maintien du REM est le pons dorso-latérale, notamment les noyaux SLD (sublatérodorsal) et PPT (tegmentum pédonculopontin). Ils sont responsables de l'activation du cortex via le thalamus et le télencéphale basal, mais aussi de l'atonie musculaire si caractéristique du REM (Figure 1.4c). Quant au VLPO impliqué dans le sommeil de type NREM, il change de pattern d'activité mais continue d'inhiber une partie des noyaux du tronc cérébral impliqués dans l'éveil. Les neurones à MCH (melanine-containing hormone) viennent alors lever l'inhibition du REM par les noyaux du tronc cérébral (noyau REM-off DR et LC).

Pour faire un bilan des neurotransmetteurs impliqués dans les différents stades, l'éveil est associé à des concentrations élevées d'acétylcholine, de noradrénaline, de sérotonine, d'histamine et d'hypocrétine. Le sommeil est quant à lui associé à de plus faibles concentrations de ces neurotransmetteurs, à l'exception de l'acétylcholine qui est à nouveau élevée durant le REM et la sérotonine élevée durant le NREM.

L'identification de ces différentes structures cérébrales et la caractérisation de leurs connexions anatomiques montre que les noyaux responsables de l'éveil et du sommeil s'inhibent réciproquement. A partir de ces observations, Saper a proposé un modèle de régulation du sommeil appelé « **flip-flop** », dans lequel l'alternance veille-sommeil serait due à l'inhibition réciproque des deux grands systèmes (Figure 1.5) : l'éveil serait dû à l'activation prépondérante des systèmes d'éveil inhibant les systèmes responsables du sommeil et réciproquement (Saper *et al.*, 2010).

Il est important de noter que la régulation du sommeil est encore très controversée. En effet, s'il est admis que ces différents noyaux et systèmes de neurotransmetteurs participent à l'alternance du sommeil, il reste à montrer si les noyaux impliqués dans l'initiation des différents états de vigilance participent également à leur maintien. Il est tout à fait possible que des structures initient un état et en activent d'autres, qui seront, elles, responsables du maintien de l'état considéré.

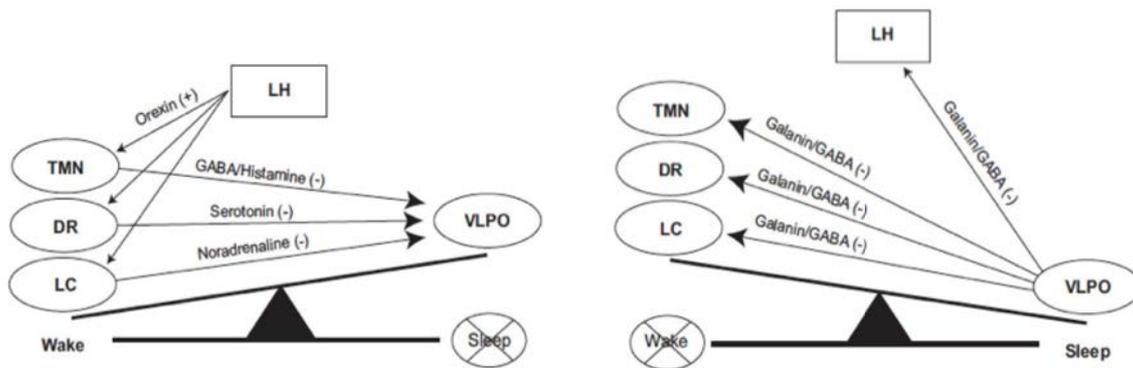


Figure 1.5 : Le modèle flip-flop

Le modèle de transition entre l'éveil et le sommeil propose que l'éveil soit stabilisé grâce à l'excitation par l'hypothalamus latéral (LH) des noyaux responsables de l'éveil. Ces noyaux, composés notamment du noyau tuberomammillaire (TMN), du raphe dorsal (DR) et du locus Coeruleus (LC), inhibent le noyau pré-optique ventral (VLPO) responsable de la stabilisation du sommeil. Durant le sommeil, ce dernier inhibe à son tour les noyaux promouvant l'éveil, y compris le LH, via une communication GABAergique/galaninergique. Le switch entre éveil et sommeil serait dû à cette inhibition réciproque (Brown, Basheer, et al., 2012).

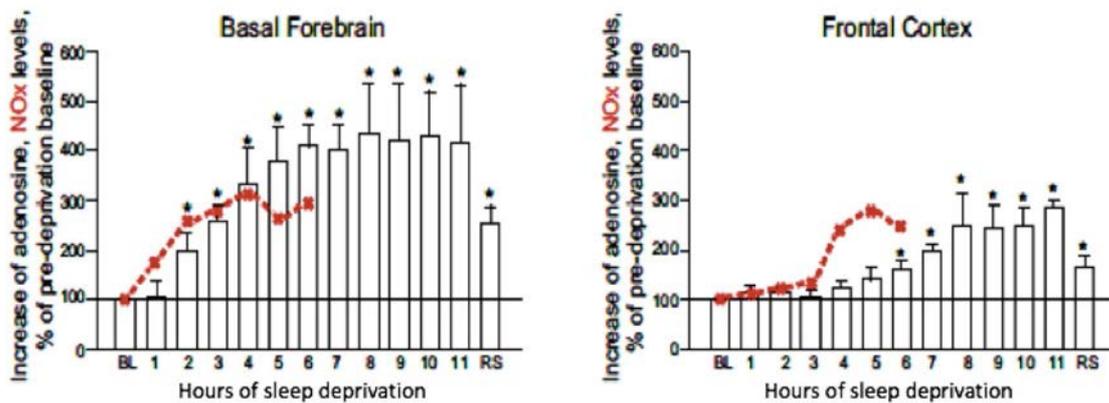


Figure 1.6 : Le facteur hypnogène adénosine.

a- concentration d'adénosine dans le télencéphale basal (BF) de chat, pendant 6h de privation de sommeil suivi de 3h de sommeil. b- concentration d'adénosine et de monoxyde d'azote (NO en rouge) dans le BF et le cortex préfrontal du rat durant 11h de privation de sommeil et pendant le sommeil qui suit (RS). Les valeurs sont normalisées par rapport à la période avant la privation de sommeil. Noter le décalage entre l'augmentation de NO et d'adénosine, particulièrement prononcé dans le cortex préfrontal (Brown, Basheer, et al., 2012).

Modulation et régulation des états de sommeil : Facteurs humoraux

Les premières études sur le sommeil que l'on doit à Henri Piéron (1913) et rapportées par Michel Jouvet, ont dévoilé que l'injection de liquide céphalorachidien prélevé sur un chien préalablement privé de sommeil pendant 48h, à un autre chien au niveau ventriculaire, entraînait un sommeil profond chez ce receveur. Une substance hypnogène y était donc présente, capable d'induire une pression de sommeil. De nombreuses études ont ainsi caractérisé différentes substances avec un pouvoir hypnogène important. Nous ne ferons pas une description exhaustive de tous ces facteurs mais nous insisterons sur les plus importants.

L'adénosine est apparue comme un des facteurs hypnogènes majeurs. Une administration centrale ou systémique d'adénosine, entraîne un état de somnolence associé à des troubles de l'attention, mais aussi à une augmentation des ondes lentes similaire à celle induite par la privation de sommeil (Brown, Basheer, *et al.*, 2012).

En accord avec l'idée d'un facteur s'accumulant pendant l'éveil pour servir de signal de pression de sommeil, la concentration d'adénosine augmente au cours de l'éveil au niveau du télencéphale basal et du cortex, et l'augmentation perdure lors de la privation ou fragmentation de sommeil, expliquant la pression grandissante de sommeil (Figure 1.6).

L'accumulation extracellulaire en adénosine serait due à l'activité du réseau neuronal local, mais le réseau glial, composé des cellules non-neuronales du cerveau, participerait également à ce processus. En effet le blocage de la glio-transmission chez les souris KO pour la protéine SNARE astrocytaire, qui limite la libération d'adénosine, diminue fortement l'augmentation des oscillations lentes induites par une privation de sommeil (Fellin *et al.*, 2009). De manière intéressante ces souris sont plus résistantes à la pression de sommeil, leurs performances cognitives ne diminuant pas avec la dette de sommeil (Halassa *et al.*, 2009), suggérant que les déficits des fonctions cognitives seraient directement liés à l'accumulation de ce facteur. La pression de sommeil induite par l'adénosine serait due à la fois à l'inhibition des neurones responsables du maintien de l'éveil via les récepteurs A-1, et à l'excitation des neurones impliqués dans le NREM via les récepteurs A-2A. L'effet stimulant de la caféine, un antagoniste des récepteurs A-1 et A-2A passerait d'ailleurs par cette voie (Brown, Basheer, *et al.*, 2012).

D'autres facteurs hypnogènes sont à dénombrer. Notamment, le monoxyde d'azote (NO), une molécule vaso-dilatatrice, s'accumule lors de l'éveil (Figure 1.6) et son injection augmente le NREM. Le NO agit en augmentant la concentration d'adénosine extracellulaire et induit ainsi les mêmes effets (Brown, Basheer, *et al.*, 2012). Aussi, des molécules comme les prostaglandines et les cytokines sont aussi d'importants facteurs de régulation du sommeil.

Un lien étroit existe en effet entre le sommeil et le système immunitaire. L'insuffisance de sommeil est associée à une sensibilité accrue aux infections (Everson, 1995) et réciproquement, une infection entraîne une augmentation de la durée de sommeil à ondes lentes et de l'amplitude de ces

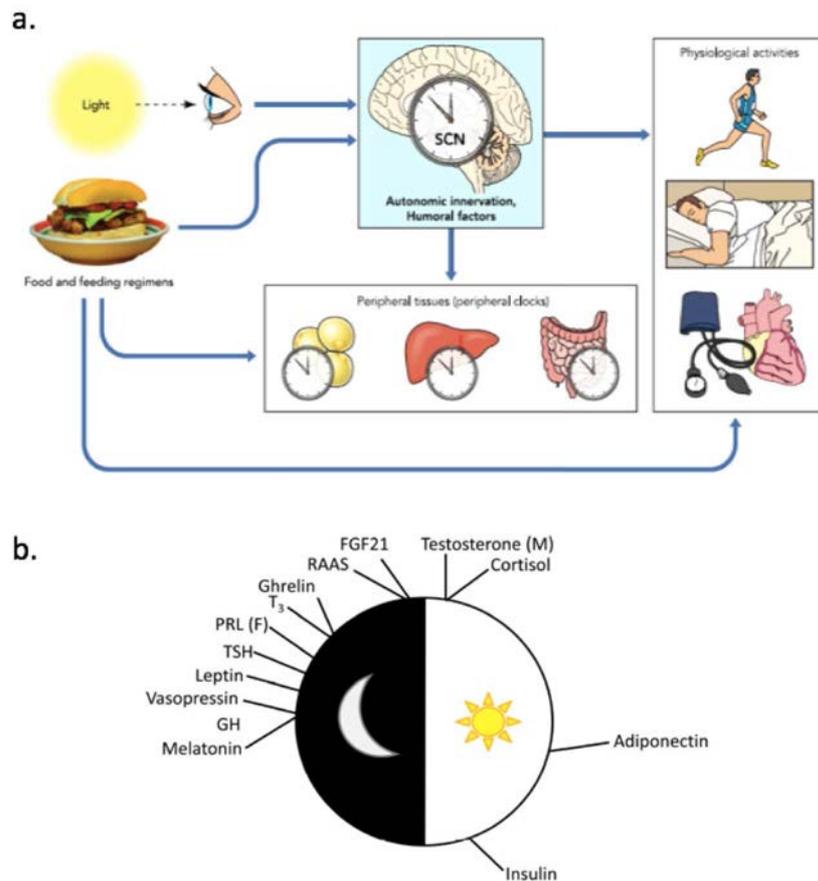


Figure 1.7 : Les rythmes circadiens

a- Signaux de régulation des horloges centrales et périphériques (Froy, 2011). Le noyau suprachiasmatique (SCN) est une horloge centrale qui orchestre les rythmes des tissus périphériques et des paramètres physiologiques comme la locomotion, le cycle veille-sommeil, la pression artérielle, et la fréquence cardiaque. La lumière, les repas, et le type d'alimentation affectent cette horloge centrale ou les horloges périphériques. b- moment de la journée correspondant au pics de concentration de différentes hormones impliquées dans la régulation du métabolisme, du comportement alimentaire et de la physiologie (Gamble *et al.*, 2015).

oscillations (Bryant *et al.*, 2004). Cette réponse est médiée par des cytokines pro-inflammatoires telles que Interleukin-1 β (IL-1 β) et le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α), et les variations dans la perturbation du sommeil selon la pathologie proviendraient d'ailleurs du pattern de cytokine activé par le pathogène (Bryant *et al.*, 2004). Il est à noter que l'effet de ces molécules sur la régulation du sommeil semble indépendant de l'induction de fièvre (Walter *et al.*, 1989). De manière intéressante, les souris KO IL-1 β , ou injectées avec un antagoniste des récepteurs aux cytokines pro-inflammatoires, présentent une diminution du sommeil basal, suggérant que ces molécules ont une fonction **physiologique** dans la régulation du sommeil. La majorité des cytokines pro-inflammatoires augmente en effet la durée du sommeil, les anti-inflammatoires diminuant cette durée ; ces molécules étant d'autre part régulées par les cycles veille-sommeil. La libération de ces cytokines pro-inflammatoire par l'activité cérébrale pendant l'éveil en condition basale pourrait ainsi participer à l'homéostasie du sommeil en tant que signal de pression de sommeil.

En plus de cette fonction de signal de pression de sommeil, ces cytokines participeraient à la modulation des réponses immunitaires selon les cycles veille/sommeil. En effet les concentrations sanguines de cellules de l'immunité, lymphocytes, monocytes et natural killer, changent selon le cycle circadien (Bryant *et al.*, 2004).

Modulation et régulation des états de sommeil : le rythme circadien

L'alternance jour/nuit est le facteur le plus explicatif de la répartition des périodes d'éveil et de sommeil dans le règne animal. Un rythme circadien désigne un processus biologique oscillant sur une période d'environ 24h, tels que la libération d'hormones, la température corporelle, l'appétit, le sommeil, le métabolisme, etc. Les mécanismes responsables de cette périodicité sont appelés « horloges circadiennes » et ont pour caractéristique d'être maintenus en l'absence de stimuli extérieurs, par exemple en condition de nuit ou de jour constant.

Le noyau suprachiasmatique (SCN) situé dans l'hypothalamus est considéré comme l'horloge centrale, responsable de la régulation et synchronisation des horloges périphériques ou secondaires (Figure 1.7a), via la sécrétion d'hormone ou par communication neuronale (Froy, 2011). La base moléculaire de ces horloges est une boucle de rétrocontrôle négative dont le cycle dure environ 24h et permet la libération d'hormones comme la mélatonine, le cortisol ou encore l'insuline (Figure 1.7b), régulant à leur tour la physiologie et le comportement de l'animal (Gamble *et al.*, 2015). En plus des facteurs environnementaux tels que la lumière, des comportements tels que l'alimentation, l'activité locomotrice ou la température corporelle peuvent venir en retour entrainer cette horloge.

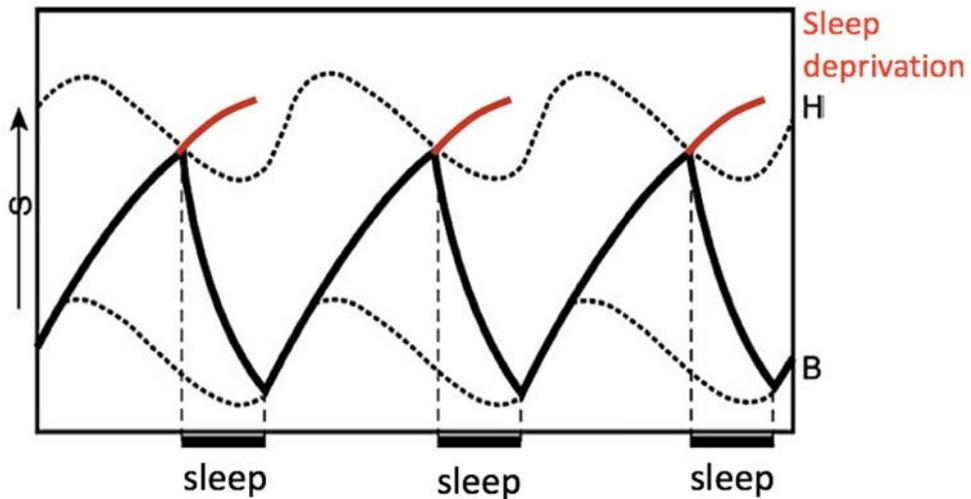


Figure 1.8 : Le two-process model (Borbely, 1982; Dauvilliers & Billiard, 2004)

a- La régulation de l'alternance veille-sommeil se fait à la fois par un processus homéostasique (S) et un processus circadien (C). Le processus S s'accumule durant l'éveil jusqu'au seuil haut (H) qui déclenche le sommeil, et durant le sommeil il diminue jusqu'au seuil bas (B) déclenchant alors l'éveil. Le processus C vient alors moduler les seuils au cours de la journée (pointillés). La privation de sommeil entraîne une élévation du seuil H.

Pour ce qui est du sommeil, la régulation circadienne de l'alternance veille/sommeil repose sur l'horloge centrale SCN, qui active de manière cyclique les noyaux responsables de l'éveil tel le locus cœruleus via l'hypothalamus latéral, et inhibe en parallèle les noyaux responsables du sommeil (VLPO). Des lésions du SCN chez le rongeur entraîne une arythmie de l'alternance veille-sommeil mais sans forcément modifier la durée totale de sommeil, ou le rapport REM/NREM (Rusak & Zucker, 1979; Franken, 2013).

Ces résultats sont à la base de la théorie du double entrainement (**Two-Process model**) qui stipule que le sommeil est entrainé à la fois par un rythme circadien et par un processus **homéostatique** (Borbely, 1982). Ainsi la probabilité qu'un organisme s'endorme ou reste éveillé dépend à la fois de la dette homéostatique et de la phase du rythme circadien. Selon ce modèle, le processus homéostatique (S) aurait 2 seuils : un seuil haut (H) à partir duquel l'animal s'endort, et un seuil bas (B) à partir duquel il se réveille. Durant l'éveil, S augmente exponentiellement jusqu'au seuil haut, déclenchant le sommeil durant lequel il décroît aussi de manière exponentielle jusqu'au seuil bas induisant le réveil. Le processus circadien (C) viendrait alors moduler ces deux seuils (Figure 1.8) et modulerait ainsi la probabilité du sommeil à un rythme de 24h (Borbely, 1982; Dauvilliers & Billiard, 2004).

Ce modèle a été confronté aux résultats de différentes expériences. Notamment la restriction de sommeil qui allonge le temps d'éveil entraîne une élévation du seuil H, expliquant ainsi l'allongement de la durée de sommeil subséquent. Le repos forcé quant à lui a pour effet d'abaisser ce seuil et fragmente alors le sommeil. Ce modèle a donc le mérite d'expliquer les principaux phénomènes liés à la pression de sommeil mais a cependant certaines limites : il ne prend pas en compte l'alternance entre les sommeil NREM et REM, et les processus associés à ces différents stades restent encore débattus.

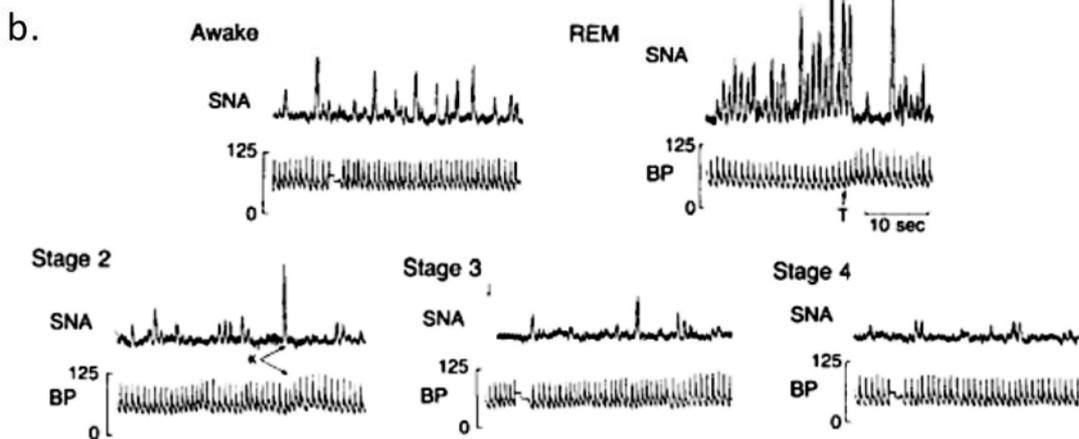
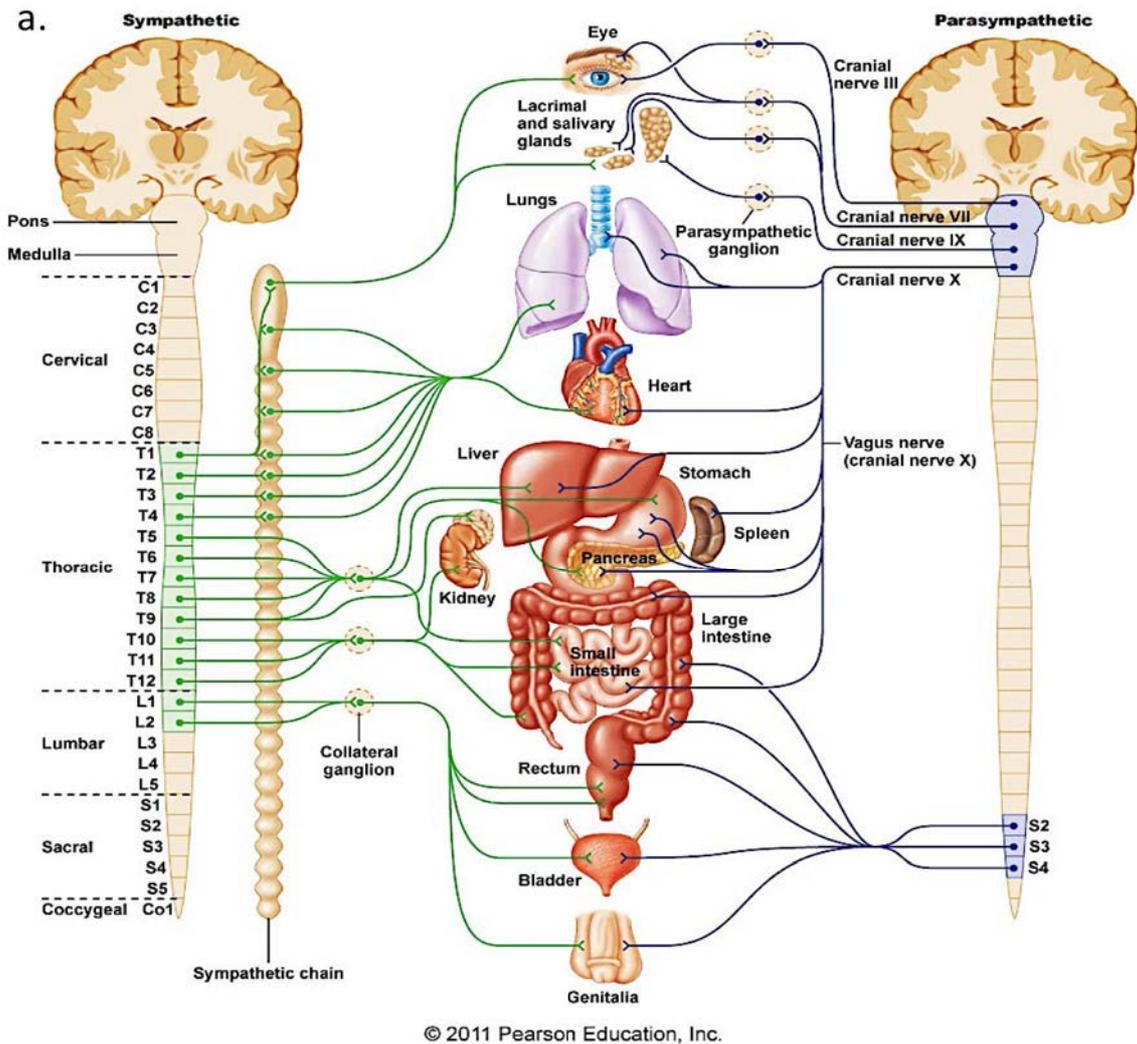


Figure 1.9 : le système nerveux autonome et le sommeil

a- Diagramme représentant l'innervation des différents organes par le système autonome, sympathique (vert) et parasympathique (bleu). b- enregistrement de l'activité du nerf sympathique (SNA) et de la pression artérielle (BP) dans différents états de vigilance : éveil, REM et 3 profondeurs de NREM (voir partie I-2). Noter les bouffées d'activité du SNA, caractéristiques du REM et la variabilité de la pression artérielle.

Modulation et régulation des états de sommeil : Facteurs physiologiques

Les concentrations sanguines de différentes hormones régulées par l'axe hypothalamo-hypophysaire, suivent également un rythme circadien. La ghréline et la leptine impliquées dans la régulation de l'appétit, varient au cours de la journée et régulent en retour l'activité de l'hypothalamus (Froy, 2011; Gamble *et al.*, 2015). L'insuline, le glucagon, l'adiponectine, la prolactine, la corticostérone régulent également le métabolisme de manière circadienne (Figure 1.7b).

Concernant le système nerveux autonome, la privation prolongée de sommeil induit une sur-activation du système sympathique (Everson, 1995). Le système nerveux autonome agit comme un homéostat grâce à l'opposition des effets induits par le système parasympathique d'une part qui promeut digestion et repos, et par le système sympathique d'autre part promouvant activité locomotrice et excitation (Figure 1.9a). Ces systèmes étant régulés par les noyaux du pons et de l'hypothalamus dont l'activité dépend de l'alternance veille-sommeil, la privation de sommeil altère leur fonctionnement et entraîne des conséquences notamment au niveau digestif et cardiaque.

D'autre part, la baisse d'activité du système sympathique durant le NREM est responsable d'une partie des apnées du sommeil : les voies respiratoires moins toniques s'obstruent et bloquent la respiration, induisant des réveils fréquents et donc une restriction chronique de sommeil.

Enfin, durant le REM, le système sympathique semble encore plus inhibé que dans le NREM mais s'activerait en bouffée, causant la variabilité de la fréquence cardiaque et du rythme respiratoire mentionnée plus haut (Figure 1.9b). Ce système est également impliqué dans l'érection du pénis caractéristique de cette phase de sommeil, sous le contrôle de l'aire pré-optique latérale (LPOA) dont les lésions abolissent le phénomène (Somers *et al.*, 1993; Brown, Basheer, *et al.*, 2012).

La température corporelle est également modifiée pendant les cycles veille-sommeil, baissant globalement au cours d'une nuit de sommeil. En regardant plus précisément, elle baisse pendant le sommeil NREM, mais augmente légèrement pendant le sommeil REM. Cette observation, en plus du fait que le REM est présent uniquement chez les animaux régulant leur température, a poussé certains chercheurs à proposer que le REM était important pour le maintien de la température pendant le sommeil lorsque la régulation du système végétatif est perturbé (Wehr, 1992).

De manière intéressante, la température semble également influencer le sommeil. Un changement de la température ambiante sur une seule nuit induit une diminution du REM et du NREM chez la plupart des mammifères testés, ces durées étant maximales à des températures avoisinant les 25°C (zone thermo-neutre). Notamment, au dessus de 33°C, le REM disparaît complètement, le NREM est quant à lui moins affecté par la hausse de température. Mais ces résultats induits par des expériences ponctuelles sont différents d'une exposition chronique à des changements de température. Maintenus à 33°C, le chat présente une augmentation de 50% de REM et de 10% de NREM, alors qu'à 10°C le REM diminue de 30%.

Introduction

Ces résultats sont retrouvés chez l'homme, la durée du REM étant maximale à 25°C et diminuant proportionnellement à l'augmentation ou à la diminution de la température. Le froid semble notamment être un réel inhibiteur du REM puisqu'un rebond de REM intervient une fois la température retournée à la normale (Roussel *et al.*, 1984; Jhaveri *et al.*, 2007).

Qualité du sommeil, troubles du sommeil et pathologies

Nous avons détaillé jusqu'alors les caractéristiques physiologiques du sommeil et quelques uns des mécanismes biologiques sous-jacents. Mais que se passe-t-il lorsque ces processus sont perturbés ? Il vient alors la question de ce qui définit la qualité du sommeil : qu'est-ce qu'un bon sommeil ?

Les facteurs responsables d'une bonne ou d'une mauvaise qualité de sommeil sont encore mal compris. En effet, les enregistrements polysomnographiques ne présentent pas de différence entre une nuit déclarée comme bonne ou mauvaise. Notamment les « insomniaques subjectifs » rapportent être restés éveillés malgré un polysomnogramme normal. Il a toutefois été observé que ces derniers présentent en moyenne une diminution de l'amplitude de la bande delta durant le NREM et une augmentation dans les plus hautes fréquences, modifications moins présentes chez les « insomniaques objectifs » dormant effectivement peu (Krystal *et al.*, 2002). En revanche la présence accrue de l'activité EEG de l'éveil au moment de l'endormissement et au réveil est associée avec la mauvaise perception du sommeil (Corsi-Cabrera *et al.*, 2012). Cela suggère qu'un état de conscience anormal durant une partie du sommeil serait responsable de la qualité subjective de sommeil. Enfin, la durée de sommeil chez l'homme adulte est de 7 à 8h en moyenne. Un défaut de sommeil est un facteur de risque pour le développement de certaines maladies chroniques, mais l'excès de sommeil est quant à lui associé à l'obésité et à des maladies psychiatriques comme la dépression (Léger *et al.*, 2014).

En plus de l'insomnie, de nombreuses pathologies affectent le cycle veille-sommeil et sont extrêmement invalidantes. Elles sont le plus souvent reliées à un dysfonctionnement, voire une dégénérescence des circuits évoqués plus haut. Les noyaux thalamiques responsables du sommeil sont atteints dans l'insomnie familiale fatale, les réseaux impliqués dans le maintien de l'éveil sont perturbés dans le coma, et la narcolepsie provient d'une activation inopinée des noyaux responsables du REM. En revanche les apnées nocturnes peuvent avoir une origine périphérique, et le syndrome des jambes sans repos serait lié à la dopamine (Schenkein & Montagna, 2006; Brown, Basheer, *et al.*, 2012).

Pour finir, la plupart des pathologies psychiatriques sont associées à une perturbation du sommeil. Notamment les patients atteints de schizophrénies, de troubles de l'anxiété, de dépression

unipolaire et bipolaire, ont des durées de REM plus élevées que la moyenne (Steiger & Kimura, 2010). Ce symptôme pourrait être un marqueur d'une maturation dysfonctionnelle du cerveau ; en effet la durée du REM décroît au cours du développement, un nouveau né présentant 16h de REM par jour contre 2h à partir de la puberté, période marquant par ailleurs le déclenchement des pathologies évoquées (Garcia-Rill, 1997; Garcia-Rill *et al.*, 2008).

L'alternance entre éveil, REM et NREM est donc régulée par des noyaux cérébraux situés au niveau du tronc cérébral, et de l'hypothalamus. L'activité de ceux-ci dépendent d'autres facteurs comme l'horloge circadienne centrale SCN, la température, et la concentration de facteurs hypnogènes comme l'adénosine et le NO. Ils contrôlent également l'activité du système nerveux autonome responsable de la régulation de nombreux paramètres physiologiques, ainsi que l'activité thalamique, télencéphalique et corticale. Des dysfonctionnements de ces noyaux du sommeil et de l'éveil sont à l'origine de troubles extrêmement invalidants et sont souvent présents dans les maladies psychiatriques.

Introduction

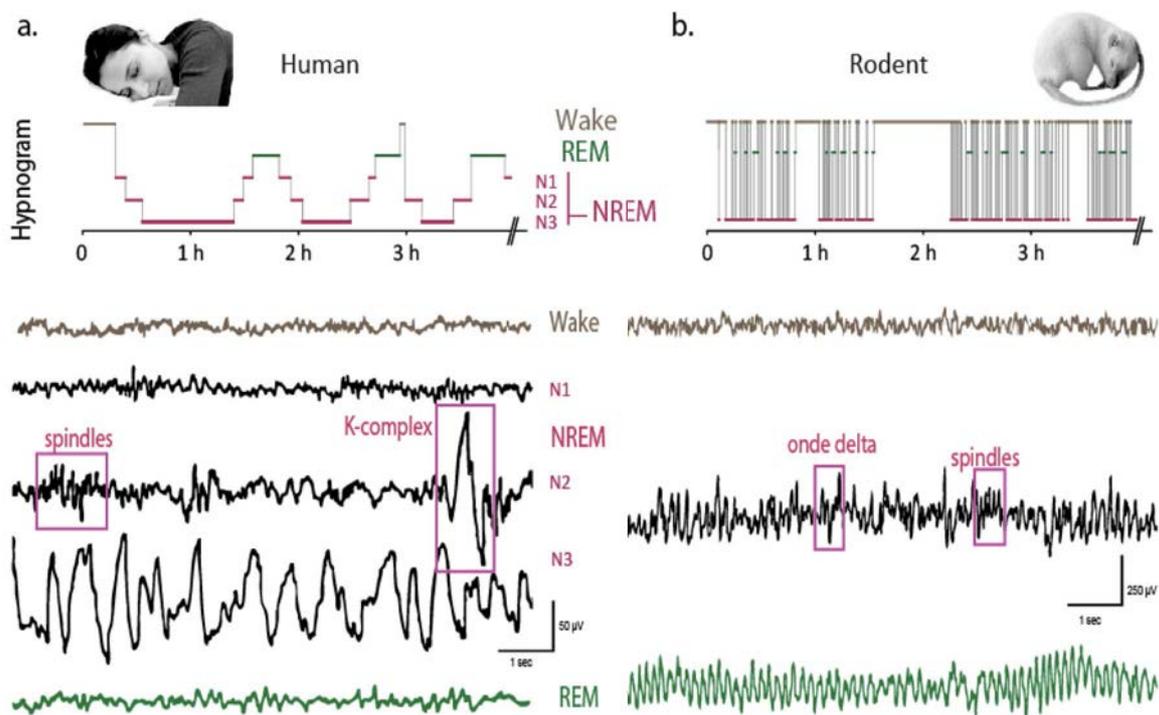


Figure 1.10 : Comparaison des cycles de sommeil entre l'homme et le rongeur.

a-b Hypnogramme (haut) et EEG enregistré durant l'éveil, le sommeil NREM et le REM, chez l'homme (a) et le rongeur (b). Figure adaptée de la revue (Astori *et al.*, 2013). Noter la présence de spindles dans les tracés des deux espèces durant le NREM. Les ondes delta ou K-complexe font également partie des patterns conservés de l'homme au rongeur.

I-2 Microarchitecture du sommeil

Notre sommeil s'organise donc par cycle, chaque cycle étant composé de phase NREM et REM, et la durée de nos cycles est régulée de manière très stricte. Qu'est-ce qui organise la durée des cycles de sommeil ainsi que l'arrivée des différentes phases au sein de chacun des cycles ?

I-2-a Caractéristique d'un cycle de sommeil

Les différentes phases d'un cycle de sommeil

Nos nuits de sommeil se composent habituellement de 4 à 5 **cycles de sommeil**, chacun d'une durée d'environ 90min, avec peu de variation d'un cycle à l'autre, et d'un individu à l'autre. Un cycle commence toujours par du NREM et se termine systématiquement par du REM, puisqu'il est défini ainsi (Figure 1.10a).

En plus des deux grands types de sommeil REM et NREM présenté en I-1, il est possible de différencier plusieurs phases de sommeil au sein du NREM selon leurs signatures électrophysiologiques (Iber *et al.*, 2007). Un sommeil léger tout d'abord, appelé **N1** (ou stade 1) ayant lieu majoritairement au moment de l'endormissement, associé à une activité EEG de faible amplitude oscillant entre 4 et 7Hz. Des mouvements lents des yeux peuvent être présents. Durant le stade N1, les individus sont parfois capables de se réveiller en réponse à des sollicitations, et rapportent alors ne pas s'être endormis et être restés conscients de l'extérieur, en dépit de ce qu'indique l'EEG (Campbell & Colrain, 2002). Pour cette raison certains chercheurs refusent de considérer le N1 comme du sommeil.

Puis le sommeil devient plus profond, avec d'abord un stade **N2** (ou stade 2 dans l'ancienne nomenclature), caractérisé par la présence de K-complexe et de **spindles** (voir I.3), puis le sommeil profond **N3** (ou stade 3/4), également appelé sommeil à ondes lentes en raison de la présence de rythmes lents (<1Hz) et amples sur l'EEG. Dans l'ancienne nomenclature, le stade 3 correspondait à une densité d'onde delta moyenne (présente >25% de l'épisode), le stade 4 forte (>50%) ; cette distinction n'a pas été conservée, bien que pertinente par certains aspects notamment pour la compréhension des phénomènes de terreurs nocturnes et de somnambulisme (Oudiette *et al.*, 2009). Au cours d'un **cycle de sommeil**, un être humain passe donc d'abord par une phase de sommeil léger N1, puis semi-profond N2 et enfin profond N3, puis repasse par des stades plus légers en fin de cycle avant d'entrer en REM ou de se réveiller.

Chez l'animal en revanche, on ne distingue souvent que REM et NREM, sans sous-catégoriser le NREM en stades N1, N2 et N3. Ce stade unique de NREM conserve pourtant les caractéristiques du sommeil chez l'homme, avec la présence d'ondes lentes de grande amplitude et de spindles. Le REM quant à lui est caractérisé par un rythme thêta (6-9Hz) mesuré au niveau du

Introduction

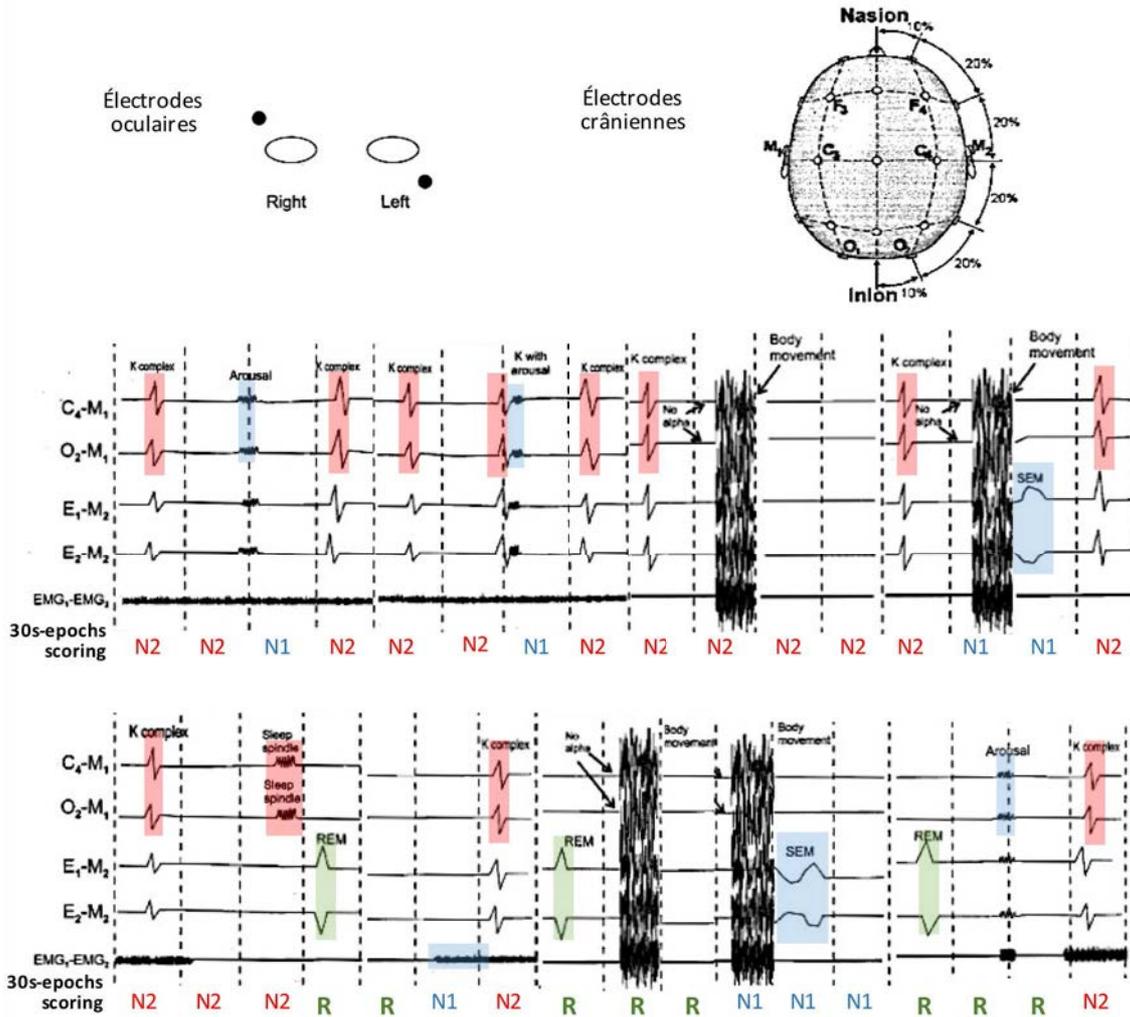


Figure 1.11 : Le scoring du sommeil chez l'homme, dernières recommandations (Iber *et al.*, 2007).

Haut : placement des électrodes au niveau oculaire pour l'EKG (noté E1 et E2) et au niveau crânien pour l'EEG (C centrale et O occipitale). L'EMG est également mesuré au niveau du menton.

Bas: diagramme schématique indiquant les recommandations de scoring (N1, N2 ou sommeil paradoxal R) en fonction des événements enregistrés par polysomnographie. SEM : slow eye movement, REM : rapid eye movement.

cortex mais généré au niveau de l'hippocampe (voir I-3), et qui est également retrouvé durant l'éveil. Cette similarité entre homme et rongeur est représentée Figure 1.10.

Aussi, la plupart des mammifères ont des cycles beaucoup plus variables que chez l'homme, et plus courts en moyenne : 28min chez le chat, 25min chez le lapin, 10-12min chez le rongeur (Tobler, 1995). De plus, les cycles de sommeil chez l'animal peuvent être séparés par de longues minutes d'éveil, le sommeil est alors dit **fragmenté**. Le sommeil sans interruption comme le nôtre, dit consolidé ou monophasique, n'a été décrit que chez les primates. L'hypnogramme de rongeur présente ce fractionnement, absent chez l'homme en conditions normales (Figure 1.10b).

Particularités de scoring chez l'homme

Quelques recommandations du AASM sont à souligner ici car elles ont une importance dans notre étude. Elles sont présentées Figure 1.11 :

- Le stade N1 caractérise l'état séparant l'éveil de l'arrivée du premier K-complexe, alors spécifique du N2.
- Un K-complexe suivi d'un micro-réveil n'est pas considéré comme du N2 mais comme du N1
- Un micro-éveil ayant lieu durant le REM est considéré comme du REM, sauf s'il est suivi d'un mouvement lent des yeux (non montré)
- Des mouvements amples du corps peuvent avoir lieu durant le sommeil, seule la présence de mouvements lents des yeux (SEM) indiquent un éveil.
- En l'absence de changement caractéristique d'un état particulier, l'époque considérée est scorée dans le même stade que la précédente.

Cyclic alternative patterns

En plus de l'analyse de la macrostructure du sommeil en stades à l'échelle de fenêtres temporelles assez larges (30s pour R&K et 20s pour l'AASM), certains auteurs ont proposé une analyse plus fine en fonction de la présence de « burst » d'oscillations lentes. Cette analyse permet de détecter des profils d'activité cyclique alternant entre des phases actives et des phases silencieuses (Terzano *et al.*, 1985). Ces cycles sont associés à de nombreux complexes-K dans le stade N2. De plus, les périodes actives sont associées à une augmentation de la fréquence cardiaque et respiratoire. Au sein du sommeil, il existerait donc un rythme à l'échelle de la minute capable de réguler l'activité cérébrale.

Chez le rongeur, l'intervention de périodes désynchronisées sur l'EEG a déjà été reportée. Appelé micro-éveil, ces événements sont également caractérisés par une modification de la respiration et sont dépendants de l'acétylcholine (Lena *et al.*, 2004). Ces résultats seront détaillés dans la partie suivante.

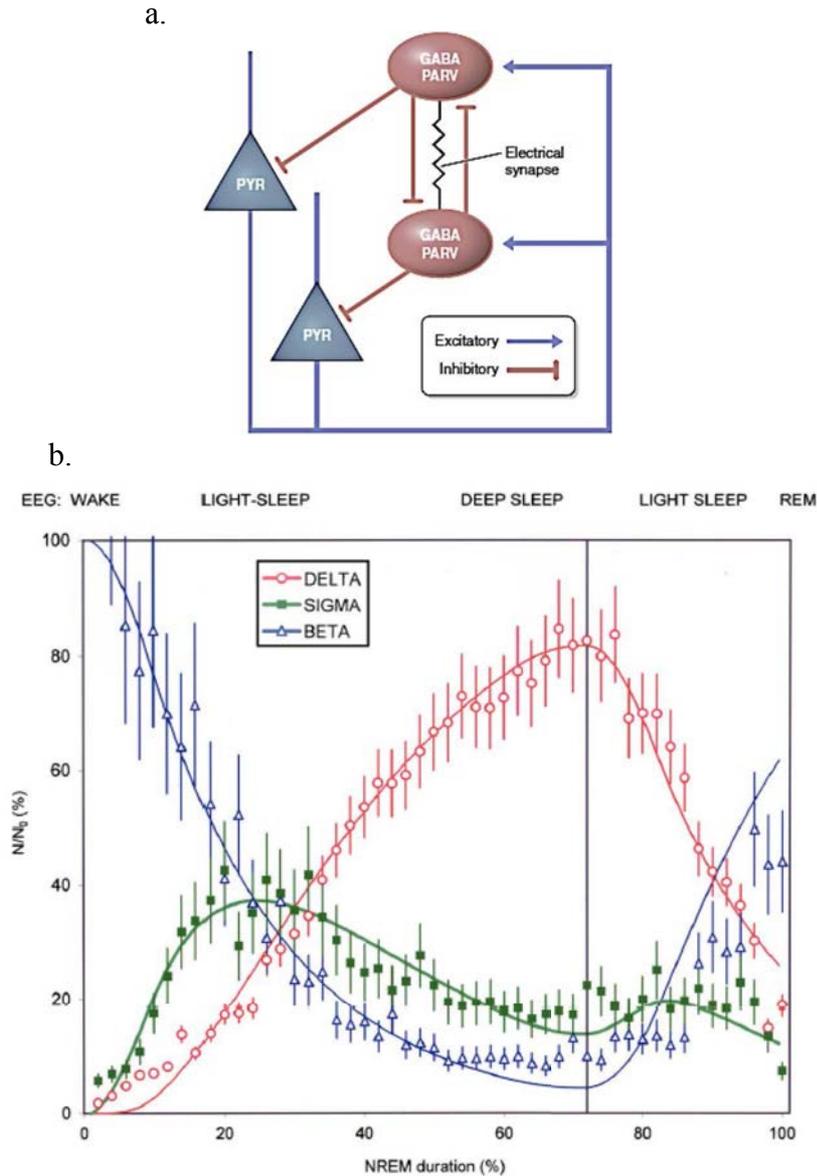


Figure 1.12 : les rythmes cérébraux

a- modèle simplifié de l'interaction inhibition-excitation à l'origine du rythme gamma cortical (Brown, Basheer, *et al.*, 2012). Les neurones pyramidaux excitateurs (PYR) contenant du glutamate excitent les interneurons inhibiteurs GABAergiques contenant le marqueur Parvalbumine (PV ou PARV) et dont le taux de décharge est élevé. Un couplage par synapse chimique mais aussi électrique (jonction GAP) permet la synchronisation du réseau d'interneurone à l'origine de ce rythme. b- puissance dans les bandes bêta (18-30Hz), sigma (12-16Hz) et delta (1-4Hz) au cours du premier épisode de NREM chez l'homme (n=6). Un modèle NTP (Neuronal Transition Probability, lignes) décrit bien les phénomènes en action. La ligne à 72% de la durée du NREM correspond au début de l'allègement du sommeil (Merica & Fortune, 2004).

Les rythmes cérébraux et leur importance

Chez l'homme, les rythmes rapides comme le **gamma** (30-150Hz) et le **beta** (15-30Hz) sont particulièrement importants durant l'éveil. Le gamma a pour origine l'interaction rapide entre excitation et inhibition (Figure 1.12a) et correspond essentiellement à des phénomènes locaux, au niveau cortical pour ce qui concerne l'EEG.

Lors de période de repos les yeux fermés, le rythme **alpha** (8-14Hz) apparaît au niveau du cortex occipital mais aussi au niveau du cortex somatosensoriel (appelé alors rythme **mu**), accompagné d'un rythme **thêta** (4-8Hz) dans les régions frontales. Le rythme alpha jouerait un rôle dans les processus de pensées complexes puisqu'il apparaît également lors de la résolution de problèmes mathématiques ou lors de la construction mentale d'une scène visuelle. Il provient d'une interaction thalamo-corticale dont l'activité ralentirait au moment de l'endormissement, passant graduellement de l'alpha au thêta en raison d'un changement de concentration en neuro-modulateurs comme l'acétylcholine, la noradrénaline ou la sérotonine (Brown, Basheer, *et al.*, 2012).

Le rythme thêta quant à lui, apparaît lors de tâches comportementales entraînant un mouvement chez le rongeur, et lors de tâches attentionnelles et de mémorisation chez l'homme. Cependant il faut noter que le thêta chez l'homme, principalement celui enregistré au niveau préfrontal, serait contrôlé par le télencéphale basal ou encore par la boucle thalamo-corticale citée précédemment. Il pourrait donc être indépendant du thêta mesuré chez le rongeur généré par l'hippocampe et contrôlé par le septum médian. Le REM présente également des bouffées d'onde gamma et alpha, concomitantes avec des ondes caractéristiques au niveau du cortex occipital : les ondes PGO.

Enfin, le NREM se caractérise par la disparition de ces rythmes de l'éveil, l'alpha disparaissant lors du passage en N1, mais aussi par plusieurs types de rythmes particuliers. En N2 l'EEG est caractérisé par la présence de **spindles** (7-15Hz) incluant le rythme **sigma** (12-16Hz) et de complexe-K (Figure 1.12b). On appelle complexe K l'arrivée sur l'EEG d'une unique **onde delta** d'origine thalamo-corticale (Figure 1.10a), souvent suivie d'une spindle, dont les caractéristiques seront détaillées en partie I-3. Durant le N2 et le N3, un rythme lent (<1Hz) s'ajoute, correspondant à l'alternance entre un état « UP » actif et un état « **DOWN** » où les neurones corticaux sont silencieux, accompagné de **sharp-wave ripples** dans l'hippocampe. Le rythme **delta** (1-4Hz) est caractéristique du sommeil profond N3 et l'amplitude de ce rythme est proportionnelle à la pression de sommeil (Brown, Basheer, *et al.*, 2012).

Le sommeil est caractérisé par des signatures électrophysiologiques précises et conservées dans le règne animal, qui permettent notamment de définir un cycle de sommeil composé de phases de NREM et de REM. Mais la durée d'un cycle ainsi que le nombre et la répartition des cycles au cours d'une journée varient selon les espèces animales.

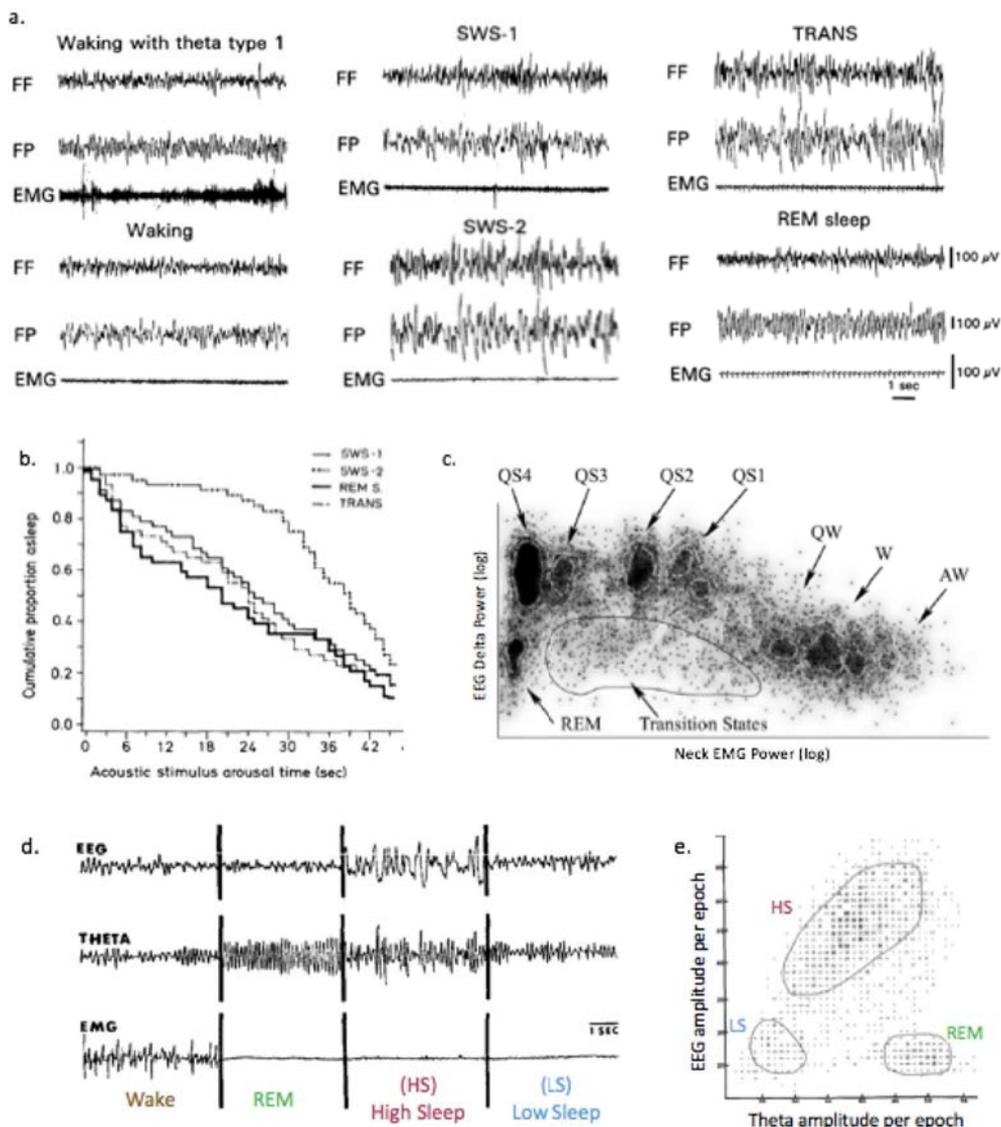


Figure 1.13: Différenciation de sous stades de NREM et leur importance fonctionnelle

a-b Importance de deux sous-stades de sommeil à onde lente (SWS) (Neckelmann & Ursin, 1993). a- caractéristique EEG au niveau frontal (FF) et pariétal (FP) et EMG au niveau de la nuque chez le rat en condition normale. b- Analyse de survie exprimant le nombre cumulé de réveil pour chaque temps de stimulation sonore. Le volume du son (1000Hz) est augmenté de 1.5dB chaque seconde pendant 45s, et le temps nécessaire au réveil de l'animal est mesuré, correspondant donc à un seuil de volume. Noter l'absence de réveil de l'animal en SWS-2 pour des temps/volume faibles, indiquant une diminution du seuil sensoriel.

c- 10 états de vigilance chez le rat (Rector *et al.*, 2009). Scatter-gramme pour 2h d'enregistrement, où chaque point correspond à une période de 2s placée en fonction de la puissance de l'EMG et de l'EEG dans la bande delta (0.1-4Hz), smoothée pour faire ressortir les clusters

d-e sommeil à faible amplitude (Bergmann *et al.*, 1987). d- EEG cortical, signal de l'hippocampe filtré dans la bande thêta et EMG au cours de l'éveil, du REM, du NREM de haute amplitude (HS) et de faible amplitude (LS). f- diagramme 2D classant chaque épisode de 30s de sommeil selon l'amplitude du thêta hippocampique et de l'EEG.

I-2-b Spécificité des sous-stades de sommeil chez l'animal

Le rongeur est utilisé comme modèle dans la majorité des études sur le sommeil, puisque beaucoup de processus du sommeil sont conservés de l'animal à l'homme, tels les patterns oscillatoires comme les spindles, ripples et ondes delta ; les facteurs hypnogènes ou encore les circuits anatomiques. Cependant cette recherche translationnelle se heurte au fait qu'il n'existe pas à l'heure actuelle de sous-stades de NREM clairement définis chez le rongeur. La description des mécanismes fins impliqués dans chaque phase est donc rendue difficile et la microstructure du sommeil doit être approfondie.

Il existe cependant un ensemble de travaux chez le rongeur qui ont eu recours à une catégorisation des états de NREM afin de décrire les variations observées dans leurs enregistrements. Nous détaillerons ici ces études et interpréterons ensuite les possibles raisons d'un manque de consensus quant à la définition de ces sous-stades.

Différenciations de sous-stades chez l'animal

En étudiant le sommeil chez le rat, Ursin (Neckelmann & Ursin, 1993) met en évidence 6 états de vigilance par l'enregistrement EEG au niveau frontal et pariétal, accompagné d'un EMG au niveau de la nuque (Figure 1.13a). D'abord (1) l'éveil caractérisé par un EMG actif et un EEG rapide, d'amplitude relativement faible. (2) Un deuxième stade considéré à l'époque comme de l'éveil, mais caractérisé par l'absence d'oscillations lentes et un EMG plat caractéristique du sommeil. On pourrait proposer de ré-analyser ce stade en le considérant comme du N1. Un sommeil à onde lente appelé (3) SWS1 et (4) SWS2, durant lequel les ondes lentes apparaissent sur l'EEG pariétal et de nombreuses spindles sont détectées en frontal. L'amplitude des ondes lentes et leur densité se fait plus grande en SWS2 rappelant le N3, cependant le cortex frontal est encore caractérisé par la présence de spindles corticales. (5) Un stade intermédiaire de transition vers le REM est également décrit, caractérisé par des spindles en frontal et le début d'un rythme thêta caractéristique du REM au niveau pariétal. Et enfin, (5) un REM caractérisé par une désynchronisation au niveau frontal, un rythme thêta au niveau pariétal et une atonie musculaire.

Les auteurs de cette étude valident l'importance fonctionnelle de la subdivision des états SWS1 et SWS2 en présentant un son (100Hz) durant le sommeil et montrant que le volume nécessaire pour réveiller l'animal est plus élevé en SWS2 (Figure 1.13b).

Une étude plus systématique de l'EEG par (Rector *et al.*, 2009) met en évidence 10 états de vigilance, grâce à une clusterisation de tout l'enregistrement subdivisé en période de 2s dans un espace 2D constitué de l'EEG dans la bande delta et de l'EMG (Figure 1.13c). Notamment 4 états de NREM (QS) et 3 états d'éveil (W) sont définis. Ces différents états sont associés à des réponses

Introduction

différentes du système auditif évoquées par un son, suggérant également que ces sous-stades ont un sens physiologique.

L'étude des cellules de lieu de l'hippocampe, dont l'activité dépend de la position de l'animal dans un environnement (voir chapitre 2), est un outil de choix pour interpréter l'état de conscience du rongeur. L'équipe de Skaggs a montré que l'activité de large amplitude présente dans l'hippocampe durant le NREM (LIA) était interrompue par des épisodes d'activité irrégulière de faible amplitude associée à un EEG cortical désynchronisé. Ces épisodes appelés SIA faisaient irruption de manière spontanée ou en réponse à un stimulus sonore. Durant cet état particulier, les cellules de lieu associées au lieu auquel est endormi l'animal s'activent, suggérant que l'animal reprend momentanément « conscience » de là où il se trouve (Jarosiewicz & Skaggs, 2004). De manière intéressante, si l'on réveille un individu dans le stade N1, il dira ne pas s'être endormi et être encore conscient de l'extérieur contrairement à ce qu'indique l'EEG (Campbell & Colrain, 2002). Il serait intéressant de comprendre les processus communs entre le N1 et le SIA présenté ici.

A ce propos, les micro-éveils constituent une phase particulièrement difficile à classer. Chez l'animal, le maintien d'un EMG inactif pendant de longues périodes nous indique un état de sommeil. Cependant des épisodes de mouvement de courte durée associés à un arrêt des oscillations lentes de grande amplitude sont observés. Comment classer ces épisodes ? trop courts pour être de l'éveil, plusieurs études catégorisent alors ces irrégularité EEG-EMG durant le sommeil comme des micro-éveil (Lena *et al.*, 2004; Watson *et al.*, 2016), ou les catégorisent en sommeil à EEG de basse amplitude (Bergmann *et al.*, 1987), figure 1.13d-e

Ces états particuliers seraient dus à l'acétylcholine puisque l'absence de récepteur cholinergique à sous-unité $\beta 2$ entraîne une diminution de ces évènements, rallongeant la durée des épisodes de NREM et de REM (Lena *et al.*, 2004). Ainsi le fractionnement du sommeil, interrompu par des épisodes de micro-éveil survenant toutes les 3 à 5min, serait en partie dû à cette activation cholinergique.

Raisons putatives pour un manque de consensus

Malgré les multiples tentatives et le besoin de définir des sous-états de sommeil chez l'animal, aucun consensus n'a été imposé concernant la sous-catégorisation de stades de NREM chez le rongeur.

Une raison potentielle expliquant ce manque est l'absence de sommeil à onde lente consolidé tel qu'il est présent chez l'homme en N3. Notamment les spindles interviennent tout au long du NREM chez l'animal et il peut paraître difficile de différencier N2 et N3. Cependant l'assimilation des complexes K aux ondes delta et donc aux états DOWN, nous donne un moyen de quantifier

précisément l'occurrence de ces événements et potentiellement de proposer des critères objectifs pour définir un sommeil à onde lente consolidé.

Concernant le N1, un ensemble d'études s'est accordé pour différencier un état intermédiaire de NREM caractérisé par un EEG de faible amplitude et potentiellement des mouvements brefs. Le N1 ayant principalement lieu au moment de l'endormissement il est intéressant de raffiner ces critères chez le rongeur afin de trouver éventuellement un consensus.

Une autre raison de ce manque de consensus, vient du fait que les classifications proposées par les études détaillées plus haut n'ont pas été reprises dans les études du sommeil et notamment dans la littérature étudiant le rôle du sommeil dans la mémoire. Ce manque de transfert entre les domaines de recherche liés au sommeil, peut s'expliquer par l'absence de comparaison des stades décrits chez l'animal avec ceux décrits chez l'homme alors que d'autres phénomènes comme les ondes delta, ripples et spindles sont plus facilement comparables. Les études concernant le rôle du sommeil dans la consolidation mnésique se sont donc attachées à décrire les processus liés à ces rythmes, sans apporter d'intérêt à une architecture globale. Mais certaines incohérences apparaissent, notamment avec une apparente incompatibilité entre deux phénomènes liés à la consolidation mnésique : l'homéostasie synaptique liée aux ondes lentes d'une part et les réactivations neuronales d'autre part (voir partie II). Dans une revue récente, Francesco Battaglia propose que la sous-catégorisation du sommeil NREM pourrait permettre d'expliquer et de réconcilier ces deux phénomènes qui interviendraient à des stades particuliers du sommeil (Genzel *et al.*, 2014)

REM et NREM sont deux phases très différentes du sommeil, et leurs rôles respectifs sont peut-être indépendants. Cependant les processus homéostatiques que nous allons décrire maintenant, lient ces deux phases, suggérant qu'elles seraient peut-être les deux faces d'une même pièce.

Le sommeil est constitué d'un stade NREM caractérisé par des oscillations de grande amplitude, et d'un stade REM dont les caractéristiques EEG sont proches de l'éveil. La sous-catégorisation du NREM chez l'homme en stade de sommeil léger N1, en stade N2 dominé par les spindles et complexe K, ou en stade N3 dominé par les oscillations lentes, permet de mieux décrire les phénomènes différentiels au cours du sommeil tels que la variation des seuils sensoriels induisant l'éveil. Le manque de consensus concernant le scoring du NREM chez l'animal est une limitation à la recherche translationnelle sur le sommeil.

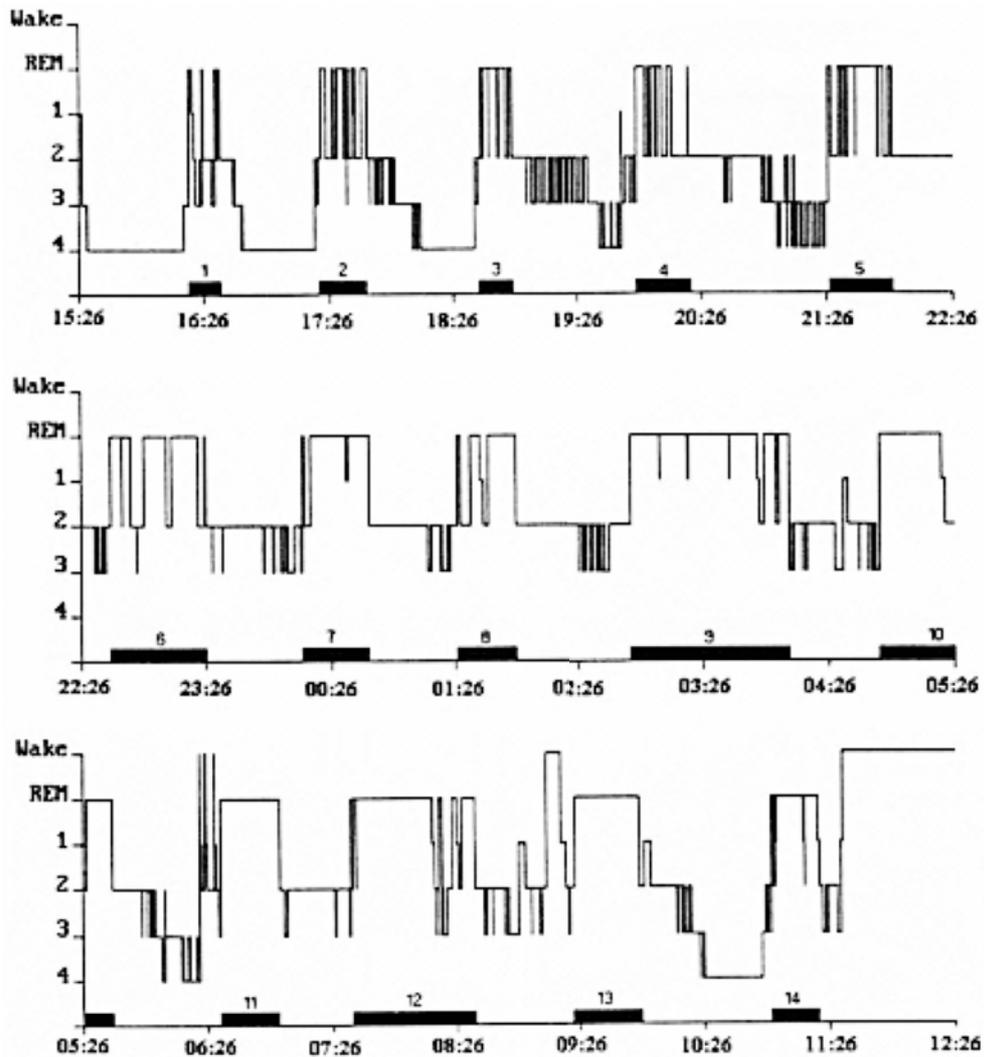


Figure 1.14: Polysomnogramme d'une jeune femme après 11 jours de restriction de sommeil (Nielsen *et al.*, 1995). A la suite d'un ciné-marathon, un rebond de sommeil de plus de 20h est enregistré. Les 14 épisodes de REM sont indiqués par les barres noires, le premier réveil a lieu après près de 15h de sommeil.

I-2-c Régulation de la microarchitecture du sommeil : processus homéostatiques

Comme nous l'avons montré, le sommeil est soumis à une régulation de type homéostatique, puisqu'une privation de sommeil entraîne un rebond de sommeil. Cela est d'ailleurs un des facteurs importants pour identifier le sommeil dans des espèces animales en absence d'enregistrements électrophysiologiques.

Il faut toutefois noter que cette régulation n'est pas obligatoirement observée au niveau global. En effet, certains mammifères marins entrent en sommeil uni-hémisphérique : un seul hémisphère cérébral présente des oscillations lentes de grande amplitude caractéristiques du sommeil profond (voir I-2) alors que l'autre conserve les caractéristiques de l'éveil, maintenant ainsi des fonctions sentinelles et respiratoires nécessaires à la protection et à la survie de l'animal. Cette adaptation étonnante va dans le sens de ce besoin de repos du réseau neuronal qui exigerait une déconnexion complète de l'extérieur. De plus, certains oiseaux migrateurs et mammifères marins sont capables de ne pas dormir pendant de très longues périodes. Quels mécanismes sont mis en place pour permettre la récupération du cerveau malgré le maintien d'une activité quasi permanente ?

Malgré ces exceptions, la régulation par processus homéostatique est un des effets les plus robustes observés dans les études sur le sommeil. La privation de sommeil entraîne quasi systématiquement un allongement de la durée de sommeil. A cette augmentation de quantité de sommeil s'accompagnerait une modification de la 'qualité' de sommeil qui serait alors plus *réparateur*. L'exemple exceptionnel de la figure 1.14 montre le sommeil de rebond après une privation volontaire et prolongée de sommeil et l'on peut observer la prépondérance de sommeil de type 3/4 pendant les premières heures de récupération. Bien qu'il soit encore difficile de trouver un corrélat électrophysiologique d'un sommeil de qualité, de nombreuses études montrent qu'il existe une régulation homéostatique des différents sous-stades de sommeil que nous allons détailler maintenant.

Homéostasie du sommeil et NREM

Le NREM profond (N3) est associé à un rythme delta (1-4Hz) de grande amplitude, une plus faible fragmentation du sommeil et un seuil de réveil plus élevé qui a souvent poussé les auteurs à considérer ce stade comme du sommeil 'profond' (Neckelmann & Ursin, 1993). Cette profondeur est reliée à la pression de sommeil puisque l'amplitude des oscillations lentes est forte au début de la période de sommeil, diminuant au cours de celle-ci, et est décuplée lors du rebond suivant une privation de sommeil (Schwierin *et al.*, 1999).

Cependant le rebond de sommeil est accompagné d'une augmentation des oscillations lentes uniquement durant la période de sommeil qui suit la privation. En effet l'allongement du temps de sommeil après privation perdure plusieurs jours, contrairement à l'augmentation des oscillations lentes, suggérant deux mécanismes distincts. Cela suggère également que l'amplitude des

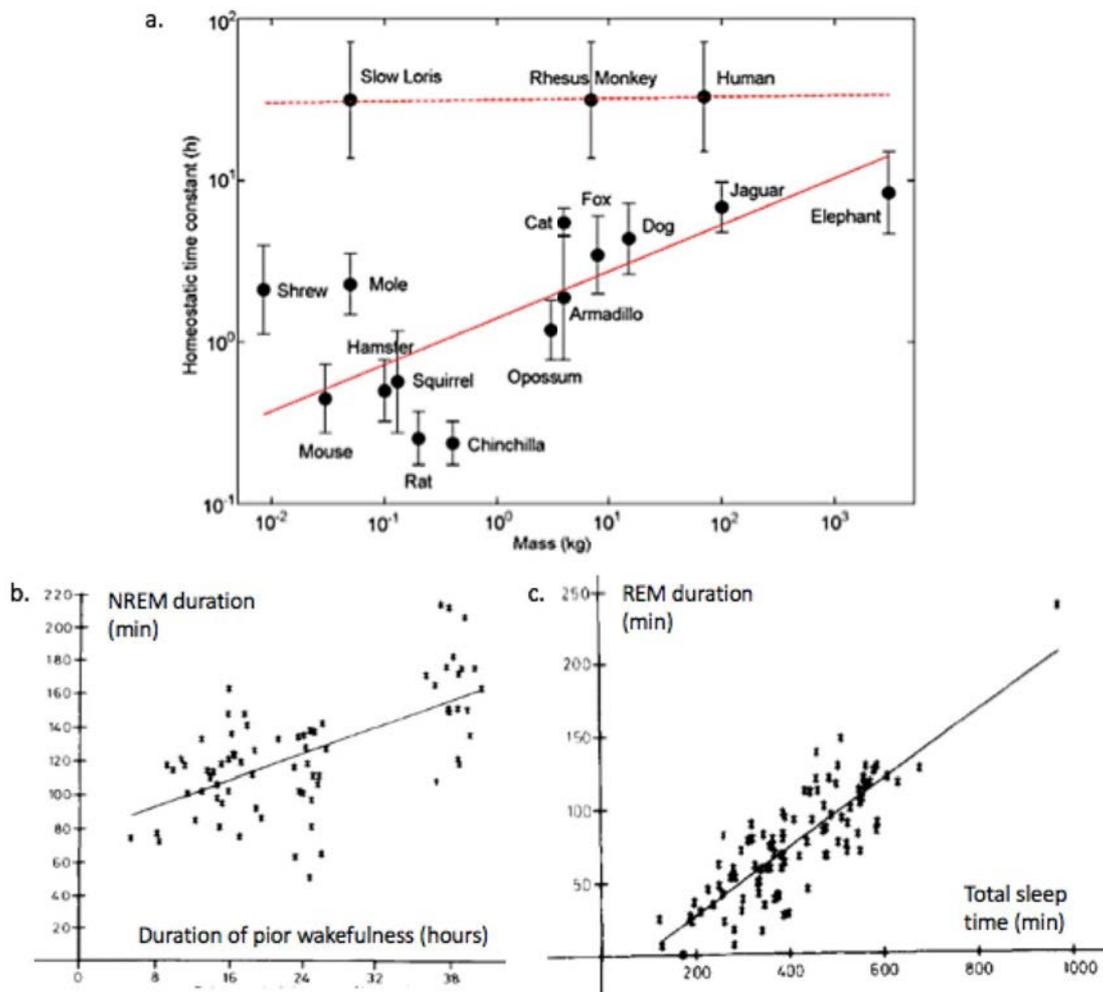


Figure 1.15: L'homéostasie du sommeil

a- modèle reproduisant les caractéristiques de durée et fragmentation du sommeil chez les mammifères en prenant uniquement en compte la masse de l'animal et en ajustant la constante de temps homéostatique (correspondant au turn-over des facteurs hypnogènes). Ces facteurs semblent décrire une grande partie de la variabilité du sommeil des mammifères. Le sommeil monophasique, uniquement présent chez les primates, serait dû à une constante plus élevée que chez les autres mammifères (Phillips *et al.*, 2010). b-c homéostasie du REM et NREM en condition normale, de privation, et de rebond de sommeil pour des court-dormeurs, long-dormeurs, et dormeurs réguliers (Benoit *et al.*, 1980). b- La durée d'éveil entraîne une augmentation proportionnelle de la durée de NREM (toutes conditions poolées) suggérant que le NREM est particulièrement sensible à l'accumulation de l'éveil. c- La durée de REM est par contre corrélée à la durée du sommeil, représentant donc un pourcentage constant.

oscillations lentes ne peut pas être considéré comme le facteur unique représentant la pression de sommeil.

Il est important de noter que, chez l'homme, la décroissance des oscillations lentes est plus prononcée dans les régions frontales que pariétales, ce qui semble indiquer que la pression homéostatique du sommeil pourrait être régulée localement (Zavada *et al.*, 2009).

Comme cité précédemment, une privation de sommeil entraîne un allongement systématique du temps de sommeil, le rebond de sommeil (Figure 1.14), suggérant qu'une dette s'est accumulée lors de la privation. Le NREM semble dépendre essentiellement de cette pression de sommeil décrite ici. En effet la durée de NREM chez l'homme est toujours corrélée à la durée de l'éveil (Benoit *et al.*, 1980), que ce soit pour des courts dormeurs (environ 6h de sommeil par nuit), des longs dormeurs (9h30) ou dormeurs normaux (8h), et pour des conditions normales, en privation ou lors du rebond de sommeil (Figure 1.15b).

Deux hypothèses ont été proposées pour expliquer ce processus homéostatique. Selon Krueger (Krueger *et al.*, 2016), l'éveil et l'activité neuronale associée s'accompagnent en effet d'une accumulation de facteurs hypnogènes comme l'adénosine ou le TNF-alpha (voire d'autres cytokines), qui seraient donc directement reliés à la pression de sommeil. Ces hypnogènes seraient dégradés en permanence, mais la balance accumulation / dégradation serait inversée durant le sommeil, et la pression serait levée au fur et à mesure du temps passé endormi. Ce turn-over des hypnogènes est appelé la **constante de temps homéostatique** et est calculé pour chaque espèce grâce à la durée du rebond de sommeil qui suit une privation : plus le rebond est court, plus le turn-over est rapide. En ajustant cette variable, des modèles ont pu reproduire la fragmentation et la durée de sommeil d'un grand nombre d'espèces (Figure 1.15a), suggérant que ce facteur de pression de sommeil pourrait à lui seul expliquer en grande partie les variabilités des patterns de sommeil dans le monde animal (Phillips *et al.*, 2010).

La deuxième hypothèse proposée par Tononi et Cirelli (Tononi & Cirelli, 2003) suggère que l'éveil serait associé à des apprentissages dont le mécanisme implique la potentialisation à long terme des synapses. Cette potentialisation des synapses entraîne une plus forte synchronisation neuronale aboutissant à de plus fortes oscillations lentes pendant le sommeil suivant. Ces oscillations lentes correspondent à une fréquence similaire à la fréquence optimale pour induire une dépression à long terme des synapses (environ 1 Hz). Les oscillations lentes induiraient donc une dépression des synapses et donc une diminution de la synchronisation, s'accompagnant de la diminution de l'amplitude des oscillations lentes. Ce phénomène de dépression synaptique par les oscillations lentes elles-mêmes expliquerait alors la diminution de leur amplitude pendant l'évolution du sommeil. Ainsi les oscillations lentes seraient dans cette théorie à la fois un marqueur et un agent de l'homéostasie. Cette théorie a l'avantage de coupler l'apprentissage à la pression de sommeil et à la consommation énergétique. En effet, les synapses potentialisées consomment plus d'énergie. En

diminuant le poids des synapses, l'homéostasie synaptique permettrait donc de diminuer la consommation d'énergie nécessaire à l'apprentissage.

Contrôle homéostatique ou oscillatoire du REM

Le REM constitue la moitié du temps de sommeil chez le nouveau né et semble avoir un rôle essentiel lors du développement du cerveau. Chez l'adulte, la persistance d'une régulation homéostatique du REM, un rebond étant observé après privation sélective de REM, suggère qu'il servirait encore quelques fonctions. Cependant certaines substances telles l'antidépresseur imipramine ou l'agoniste adrénergique clonidine entraînent respectivement une réduction et une suppression du REM, et pourtant leur prise sur de longues périodes ne semble pas avoir de conséquence importante. Ce résultat, bien qu'en situation pathologique, suggère la mise en place de mécanismes compensatoires pour palier au manque de REM (Landolt & De Boer, 2001). La conservation systématique de cette phase dans le règne animal suggère malgré tout que ce stade est essentiel.

La théorie ultradienne du REM suggère que le système d'éveil et de vigilance s'activerait de manière cyclique au cours de la journée (augmentation de la vigilance chez l'homme toutes les 90min, toutes les 15min chez le rongeur), et que le REM ne serait que la manifestation de ce cycle ultradien au cours du sommeil (Kleitman, 1963). Notamment la température corporelle varie selon ces cycles de 90min et favoriserait l'arrivée du REM lors du sommeil.

Cette théorie fut testée directement par un protocole de sommeil fragmenté chez l'homme, durant lequel les individus dormaient 8h par jour au total mais par fragment de 30min, recréant ainsi un cycle artificiel de 90 min (Carskadon & Dement, 1980). L'analyse du sommeil des participants a montré que la variation cyclique de température était toujours associée à une probabilité plus forte de rentrer en REM lors d'un épisode de 30min, renforçant l'hypothèse ultradienne. En revanche, plus le nombre d'épisodes sans REM augmentait, plus la probabilité d'entrer en REM à l'épisode suivant augmentait, notamment avec un raccourcissement de la durée de NREM précédant le REM. Ce dernier résultat est donc en faveur d'une seconde hypothèse de régulation homéostatique du REM.

L'**hypothèse homéostatique du REM** est soutenue par plusieurs arguments (Benington & Heller, 1994) notamment par la présence d'un rebond de REM après privation (augmentation de la durée) et l'augmentation de la fréquence d'entrée en REM après une suppression sélective de REM. Différentes théories s'affrontent pour expliquer l'homéostasie du REM. Selon l'hypothèse de Benington la pression de REM s'accumulerait dans le NREM (Benington & Heller, 1994) alors que d'autres auteurs tels que Franken soutiennent que la pression de REM s'accumulerait à la fois dans le NREM et l'éveil (Franken, 2002). Il est important de noter que contrairement à la pression de NREM, il n'existe pas à l'heure actuelle de facteur neurophysiologique indicateur de la pression de REM.

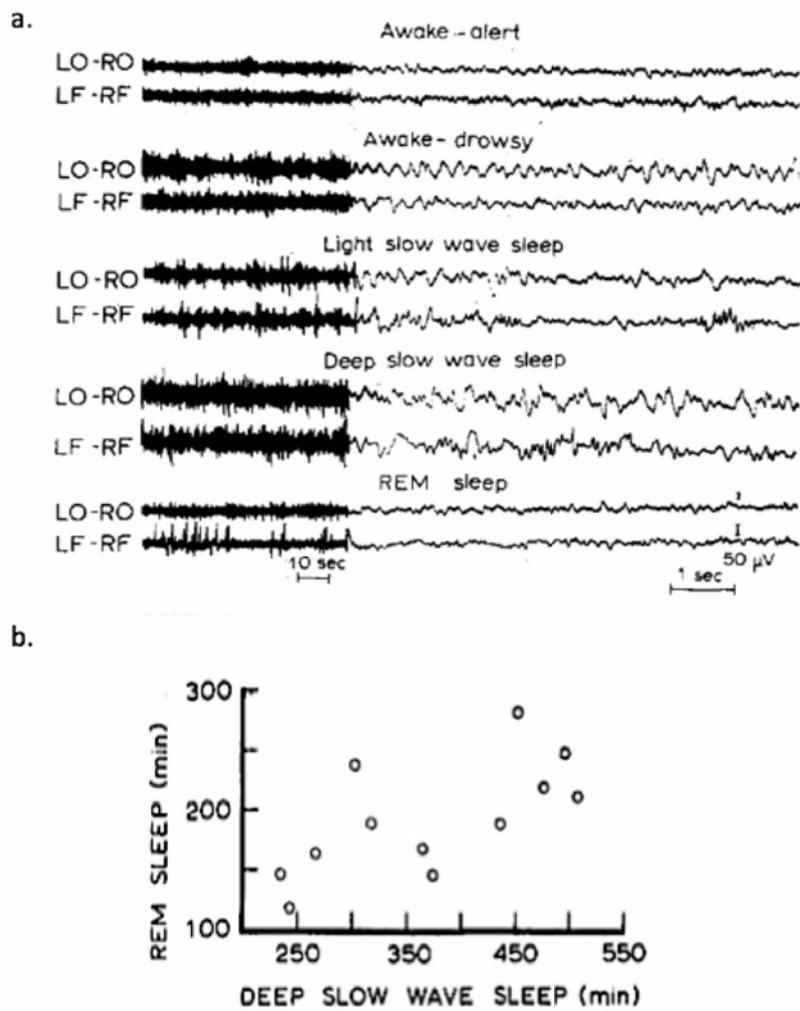


Figure 1.16 : Homéostasie du REM et sous-stades de NREM (Ursin, 1968)

a- deux types de sommeil à ondes lentes chez le chat, avec des ondes de grandes amplitudes et constantes mesurées en occipital (LO-RO) et en frontal (LF-RF) durant le stade profond, qui deviennent plus faibles et moins fréquentes durant le stade léger.

b- Relation entre la quantité de sommeil à ondes lentes de type profond, et la quantité de REM chez le chat (n=12).

Le fait que le REM soit toujours précédé de NREM en condition normale et que le ratio entre les temps totaux de REM et NREM est très conservé et indépendant du temps d'éveil soutiennent l'hypothèse d'une accumulation de pression de REM durant le NREM. En effet, la comparaison entre des individus dormant plus ou moins, dans des conditions normales, de privation ou en rebond de sommeil, montre que ce ratio est constant (Figure 1.15c). Cependant, différentes durées de privation aboutissent à des rebonds différents de NREM et de REM suggérant au contraire que les deux processus sont régulés différemment. En particulier, de nombreuses études suggèrent que le rebond de REM s'expliquerait par la quantité de REM perdus pendant la période de privation (consistant en une majorité d'éveil). Cette controverse initiée dans les années 90 par des études de Rechtschaffen (Rechtschaffen *et al.*, 1989, 1999) s'est poursuivie jusque dans les années 2000 (Benington, 2002; Franken, 2002; Villablanca *et al.*, 2003) sans apporter de conclusions définitives.

Un des facteurs pouvant expliquer l'absence de consensus est l'absence de considération pour les sous-états de sommeil NREM. En effet, dans une étude chez le chat différenciant un sommeil léger d'un sommeil profond (Figure 1.16a) il a été montré que la quantité de REM est corrélée à la quantité de NREM profond (Figure 1.16), et non à la quantité de sommeil léger (Ursin, 1968). Ainsi la compréhension des processus d'homéostasie peut être améliorée par la différenciation des sous-stades de sommeil. L'absence de définition consensuelle des différents types de sommeil NREM chez le rongeur est un profond handicap pour la résolution de cette controverse.

Enfin, d'autres facteurs peuvent influencer la durée de REM. De nombreux résultats ont montré un lien entre stress et REM, une baisse de la quantité totale de sommeil puis un rebond de REM étant observé chez les animaux ayant subi un épisode stressant (Rampin *et al.*, 1991; Pawlyk *et al.*, 2008). Ceci complique l'interprétation des études sur la privation de sommeil puisque celle-ci s'accompagne nécessairement d'un stress pour l'animal. Aussi, l'apprentissage peut également être associé à une augmentation de la quantité de REM (Jha *et al.*, 2005).

Homéostasie neuronale

En plus de l'homéostasie de la macrostructure du sommeil (NREM et REM), des oscillations (delta, spindles, ripples), il existe également une homéostasie au niveau neuronal.

Le sommeil ou le repos semble présent chez tous les organismes possédant un réseau glio-neuronal, à commencer par le réseau de 302 neurones du vers *C.elegans* qui présente des périodes prolongées d'inactivité. Même en culture, des réseaux neurones-glie présentent spontanément des alternances de phase active et inactive, suggérant une caractéristique intrinsèque au réseau (Krueger *et al.*, 2016). L'activité neuronale aurait un coût qui nécessiterait une période de récupération et qui expliquerait pourquoi le réseau alterne entre des phases Up actives et Down de repos formant les oscillations lentes.

Introduction

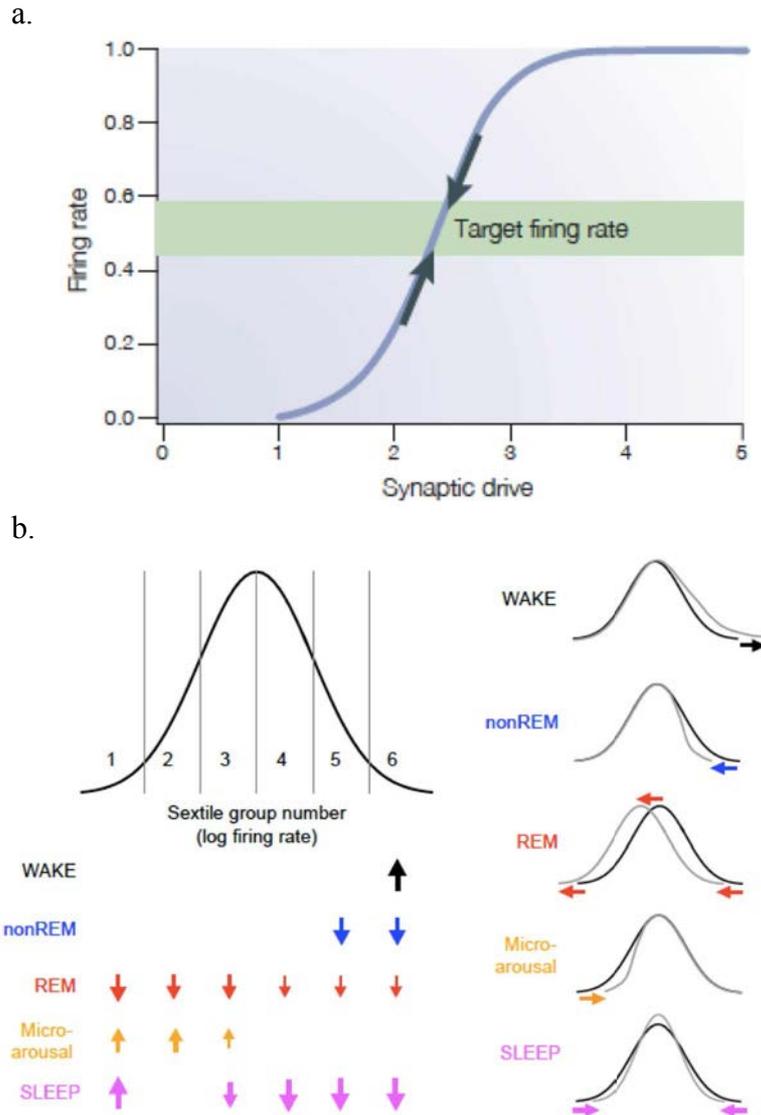


Figure 1.17 : tuning de la décharge neuronale par le sommeil

a- stabilisation du taux de décharge par régulation homéostatique (Turrigiano & Nelson, 2004). Les flèches illustrent les mécanismes homéostatiques régulant la force des connexions synaptiques et le maintien du taux de décharge.

b- illustration du rôle des différents états de vigilance dans l'adaptation homéostatique du taux de décharge (Watson *et al.*, 2016). L'effet global du sommeil serait de ramener les neurones vers un taux de décharge cible, évitant ainsi les excès et les défaut d'activité synaptique et stabilisant le réseau.

Des travaux sur l'homéostasie synaptique suggèrent que la force des connexions synaptiques dans un réseau de neurones est contrôlé de manière homéostatique (Figure 1.17a), stabilisant ainsi le niveau général d'excitabilité et le taux de décharge (Turrigiano & Nelson, 2004). Il y aurait donc une **nécessité de reposer les neurones** et le sommeil pourrait participer à cette restauration. Cette nécessité serait une propriété intrinsèque émergente de tout réseau de neurones, à un niveau local, et les processus de régulation du sommeil à l'échelle de l'organisme seraient l'adaptation évolutive de cette nécessité. Dans le cas du cerveau de mammifères, la meilleure stratégie pour permettre la restauration de l'excitabilité de tous les réseaux locaux hautement interconnectés serait de coordonner globalement le repos.

Selon certains auteurs et en accord avec cette idée de repos nécessaire, le taux de décharge des neurones augmente pendant l'éveil et diminue pendant le sommeil (Vyazovskiy *et al.*, 2009). Il est relié, selon l'hypothèse de Tononi et Cirelli (Tononi & Cirelli, 2003), à la potentialisation à long terme ayant lieu pendant les apprentissages de l'éveil. Cette régulation n'est cependant pas observée par tous les auteurs. De plus il semble que ces processus soient beaucoup plus complexes qu'une simple augmentation pendant l'éveil et diminution pendant le sommeil (Grosmark *et al.*, 2012).

Dernièrement deux études suggèrent que la modulation serait différente pour les neurones à forts ou faibles taux de décharge. Le taux de décharges des neurones dont l'activité est soutenue diminue au cours du sommeil tandis que celui des neurones à faible activité augmente (Miyawaki & Diba, 2016; Watson *et al.*, 2016). L'effet du sommeil serait alors de diminuer la variabilité du taux de décharge sur l'ensemble de la population.

Les cycles veille/sommeil suivent un rythme circadien, cependant le sommeil ne dépend pas seulement de ce rythme puisqu'il est également entrainé par des processus homéostatiques : des substances hypnogènes s'accumulent au cours de l'éveil et comptent ainsi scrupuleusement la dette dont il va falloir s'acquitter. REM et NREM semblent être soumis à des pressions de sommeil différentes. Au sein du NREM, des processus de régulation différentielle pourraient également être présents selon la profondeur du sommeil, mais l'absence de différenciation des sous-stades de NREM chez l'animal rend difficile l'étude de ces phénomènes.

Introduction

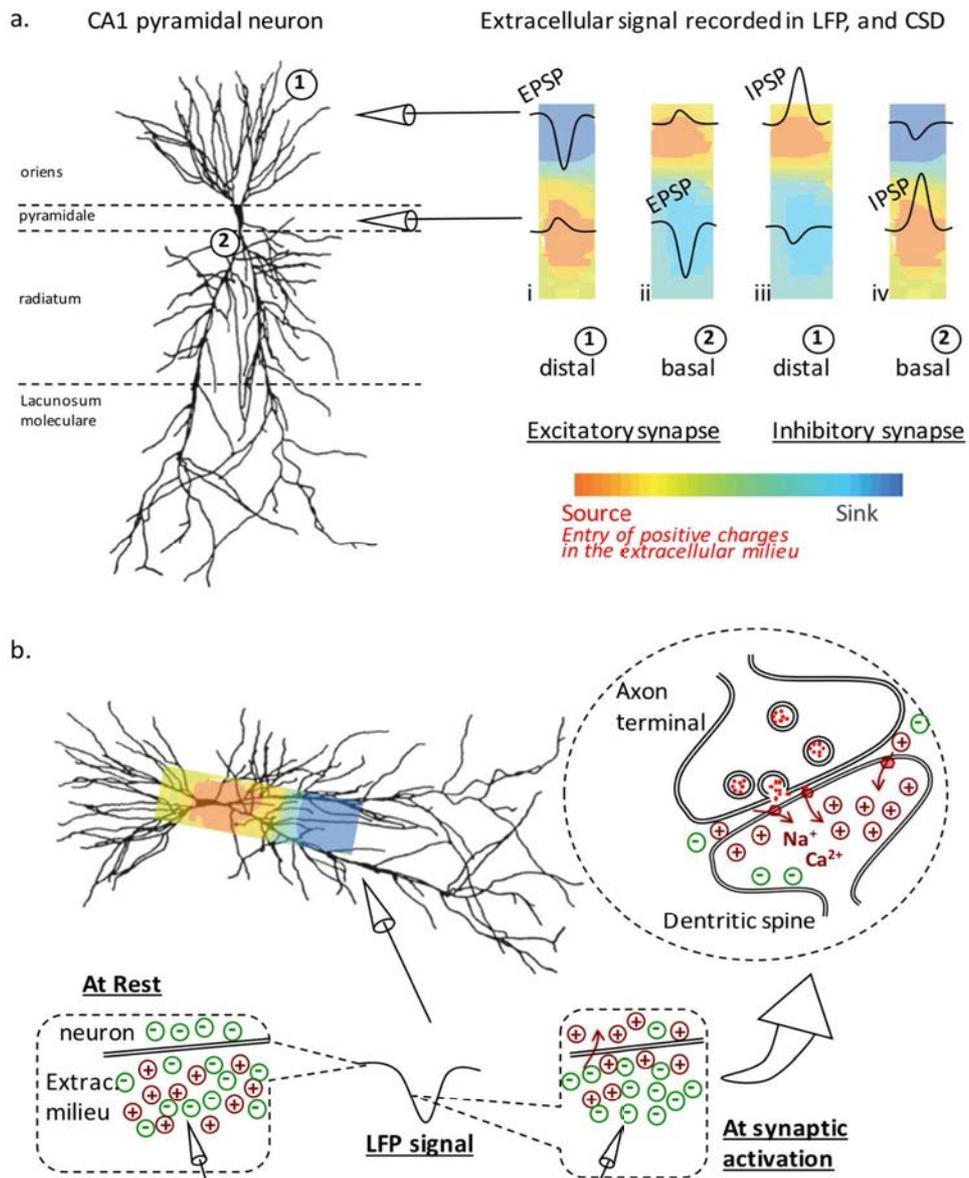


Figure 1.18: Origine du signal enregistré en LFP et analyse en CSD.

a- schéma d'une cellule pyramidale du champ CA1 de l'hippocampe et du LFP enregistré à différentes hauteurs de ce neurone, soit au niveau des dendrites distales (1) soit au niveau du soma (2). La réponse en LFP à un potentiel postsynaptique excitateur (EPSP, i-ii) ou inhibiteur (IPSP, iii-iv) est indiquée en noir. L'analyse en CSD correspondant à chacun des phénomènes est également présentée en couleur. b- schéma simpliste expliquant les mouvements d'ions à l'origine des sources et puits mesurés en CSD. L'activation d'une synapse excitatrice entraîne l'entrée de cations dans le neurone postsynaptique, entraînant un défaut de charge positive dans le milieu extracellulaire (puits). L'électroneutralité au sein du neurone est conservée par des courants sortants potassiques au niveau du soma (source).

I-3 Les oscillations cérébrales du sommeil

Nous abordons maintenant un sous-chapitre assez technique, qui décrit ce qu'est une oscillation cérébrale et ce qu'elle nous apprend sur l'activité des régions d'enregistrement.

I-3-a Origine et implication des rythmes cérébraux

L'activité électrique du cerveau des mammifères fut enregistrée dès la fin du XIX^{ème} siècle. De faible amplitude, les potentiels dont les composantes fréquentielles dépassent 500Hz correspondent aux potentiels d'action initiés dans la structure enregistrée. En revanche, en dessous de 500Hz, plusieurs facteurs peuvent contribuer au signal électrique alors appelé potentiel de champ local (LFP) et il n'y a pas encore de consensus sur l'étendu du rôle de chacun (Einevoll *et al.*, 2013). Nous allons essayer ici d'en faire la revue.

Le potentiel de champ local

Le LFP retranscrit des processus synaptiques clés dans l'intégration de l'information neuronale à l'échelle du réseau, qui ne peuvent être perçus lorsque l'on regarde l'émission de potentiels d'action par une poignée de neurones.

Toute membrane excitable, que ce soit une épine dendritique, une dendrite, un soma, un axone ou une terminaison axonale, et tous les courants transmembranaires qui y prennent place contribuent au LFP. Le LFP est donc la somme de tous ces mouvements ioniques, depuis le potentiel d'action jusqu'aux très lents processus gliaux (Buzsáki *et al.*, 2012). Cette sommation nécessite cependant une large fenêtre temporelle et une grande quantité d'évènements simultanés, et la majorité du signal proviendrait donc des courants post-synaptiques (Schomburg *et al.*, 2012), qu'ils soient excitateurs ou inhibiteurs.

La stimulation d'une fibre activant une synapse excitatrice distale (Figure 1.18a-i) entraîne la mesure d'une diminution du potentiel extracellulaire à hauteur de cette synapse. Cette diminution est due à l'entrée de cations dans le neurone et donc à la diminution de la concentration de cations dans le milieu extracellulaire (Figure 1.18b). A l'opposé, un potentiel extracellulaire positif est mesuré plus loin grâce aux courants passifs qui permettent de conserver l'électro-neutralité, particulièrement au niveau du soma où la concentration de canaux passifs est grande (Buzsáki *et al.*, 2012). De la même façon, l'activation d'une synapse excitatrice basale/proximale (Figure 1.18a-ii) entraîne un potentiel extracellulaire négatif à hauteur de cette synapse et d'un potentiel positif à mesure que l'on s'en éloigne le long du neurone.

Dans le cas des synapses inhibitrices, leur activation entraîne un potentiel extracellulaire positif à hauteur de cette synapse dû à une diminution d'anion dans le milieu extracellulaire (Cl⁻ pour synapse GABA), et d'un potentiel positif au niveau d'un point d'enregistrement lointain (Figure 1.18a-iii,iv).

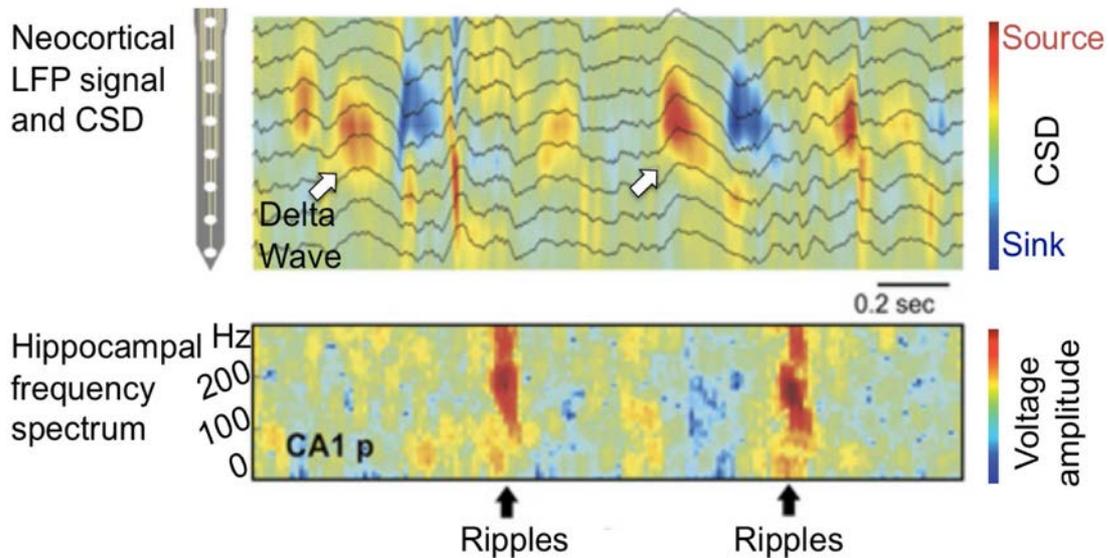


Figure 1.19: CSD des ondes delta corticales enregistrées pendant le sommeil chez le rongeur (Isomura *et al.*, 2006)

Enregistrement du LFP cortical par une probe linéaire, dont les points de contact sont schématisés à gauche, chez un rat en sommeil naturel (tracé noir). L'analyse en CSD indique les sources (rouge) et les puits (bleu) de courant, correspondant majoritairement aux ondes delta (flèches blanches). Le spectre de puissance issu du signal enregistré dans l'hippocampe au niveau de la couche pyramidale de CA1, est aligné afin de mettre en évidence la coordination entre les ondes delta générées localement dans le cortex préfrontal et les ripples (flèches noires) intervenant environ 100ms après.

Du fait du faible gradient ionique Cl⁻, la contribution des synapses inhibitrices au LFP est estimée plus faible que celle des excitatrices.

Les sources et puits de courants

L'EEG cortical chez l'homme utilisé pour mesurer les états de vigilance, enregistre un signal correspondant à la somme de l'activité électrique se déroulant sur au moins 10cm² autour de l'électrode et il est difficile de faire un lien direct entre l'activité neuronale locale et ce signal intégré (Buzsáki *et al.*, 2012). L'enregistrement du LFP est soumis au même problème puisque celui-ci correspond à la somme de l'activité autour de l'électrode. Notamment le signal électrique se propage dans la matière organique qu'est le cerveau, c'est le phénomène de **conduction volumique**. Mais des méthodes d'analyse telles que l'analyse des puits et sources de courants (Current Source Density - **CSD**) permettent d'inférer les phénomènes locaux à l'origine des micro-variations électriques enregistrées en LFP ou en EEG. La CSD nécessite l'enregistrement du LFP par des probes composées de plusieurs points de contacts espacés de manière régulière, et analyse la dérivée spatiale du courant le long de ces points d'enregistrement. Classiquement représentée par des couleurs chaudes, la source est définie comme une arrivée de charges positives ou une sortie de charges négatives au niveau de l'électrode d'enregistrement extracellulaire comme représenté sur la Figure 1.18a. Cette situation est rencontrée lors de l'activation d'une synapse inhibitrice aux alentours de l'électrode d'enregistrement où l'IPSP correspond à une diminution du Cl⁻ extracellulaire au niveau de la synapse GABA par exemple. Le puits correspond à l'inverse, à une diminution des charges positives, ce qui correspond à un EPSP pendant lequel les concentrations en cations Ca²⁺ et Na⁺ diminuent dans le milieu extracellulaire à proximité de la synapse excitatrice.

Durant le sommeil, les oscillations lentes enregistrées au niveau cortical sont associées à un signal particulier en CSD. La figure 1.19 présente le signal enregistré par une probe linéaire au niveau cortical et la CSD associée, montrant une alternance source-puit de courant au niveau local correspondant à une onde delta. Il est important de noter que le signal LFP intègre un ensemble d'évènements électriques et peut fluctuer de manière similaire entre un phénomène local (dévoilé par la CSD), et un évènement qui a lieu à un autre point d'enregistrement (absence de source-puit sur la CSD).

Le potentiel de champ local correspond à la somme des potentiels de courant post-synaptiques générés dans un volume autour de l'électrode. L'analyse des puits et des sources de courant permet de localiser la genèse des rythmes enregistrés, prenant en compte le phénomène de conduction volumique.

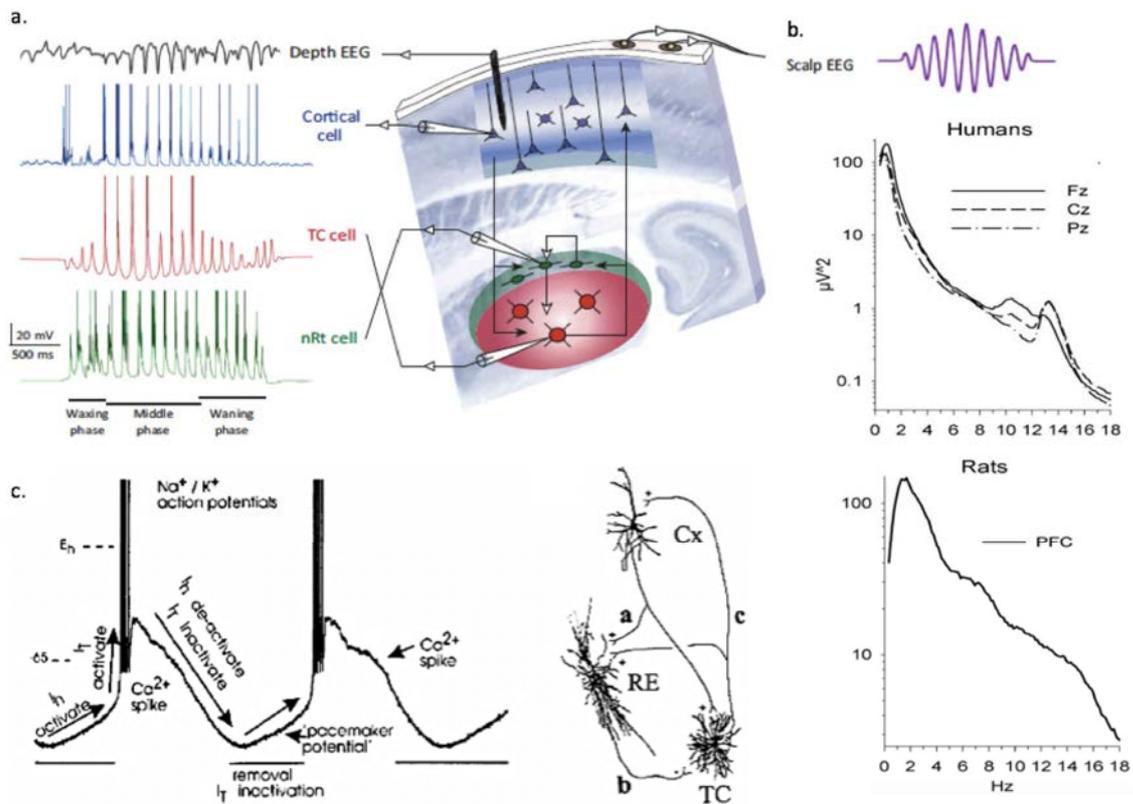


Figure 1.20 : les spindles et le circuit thalamo-cortical

a- circuit thalamo-cortical et génération des spindles (Astori *et al.*, 2013). Les neurones GABA du noyau réticulé thalamique (nRt, vert) sont réciproquement connectés aux neurones glutamatergiques thalamo-corticaux (TC, rouge). b- spectre de puissance correspondant à l'EEG mesuré au dessus des cortex frontal (Fz), central (Cz) et pariétal (Mölle *et al.*, 2009). c- dépolarisation rythmique endogène des cellules TC et réseau récurrent à l'origine des spindles (Steriade & Llinas, 1988). Une hyperpolarisation entraîne la dé-inactivation des canaux calciques à bas seuil I_T , et la dépolarisation par les courants de fuite I_h entraîne un rebond calcique. Les courants I_T s'inactivent alors et seule une hyperpolarisation pourra les rendre à nouveau fonctionnels. Cette oscillation est présente dans le thalamus, même en absence d'inputs du nRt. L'inhibition rythmique des TC par le nRt entraîne une bouffée d'activité par le rebond qui est transmise au cortex, mais aussi au nRt inhibant à nouveau les TC. Le réseau thalamique génère donc la spindle corticale, mais le cortex vient réguler ce rythme en agissant au niveau des TC et du nRt. Cet input cortical permet notamment de dépolariser les TC, bloquant ainsi les canaux I_T pour arrêter la spindle.

I-3-c Genèse des rythmes du sommeil

Les rythmes du sommeil sont conservés chez les mammifères et nous allons voir ici quels mécanismes au sein des réseaux neuronaux sont à l'origine de ces phénomènes.

Les spindles

Les spindles, sont très présentes durant le sommeil à ondes lentes, et sont une des caractéristiques principales du stade II chez l'homme. Elles correspondent à une succession de cycles oscillatoires à 10-20Hz, visibles dans les enregistrements EEG (Loomis *et al.*, 1935b).

Llinas, Steriade et McCormick ont dédié leur carrière à l'étude de ces rythmes thalamo-corticaux et ont découvert l'existence de conductances non-linéaires dans les cellules du thalamus expliquant ce phénomène (Figure 1.20a,c). Une hyperpolarisation entraîne la dé-inactivation de canaux calciques à bas seuil de types I_T , de sorte qu'une dépolarisation légère induite par des courants de fuite I_h entraîne un potentiel calcique dépolarisant complètement le neurone et permettant l'émission de potentiel d'action. Ce rythme intrinsèque est donc totalement autonome et persiste dans les tranches de thalamus isolé.

Un réseau de connexions réciproques existe entre les cellules thalamiques inhibitrices du noyau réticulé (nRt), les cellules thalamiques excitatrices projetant leurs axones sur le cortex (TC), et les cellules excitatrices corticales. Ainsi l'inhibition rythmique du nRt entraîne un rebond calcique dans les TC qui déchargent alors en bouffée, transmettant massivement cette excitation au cortex dont l'activité devient phasique : c'est la spindle enregistrée au niveau cortical (Steriade & Llinas, 1988). Seules les lésions thalamiques entraînent la disparition des spindles corticales, le cortex n'est donc pas nécessaire à la génération de ce rythme. En revanche, les lésions corticales modifient la fréquence d'occurrence et la synchronie des spindles dans différentes régions corticales, montrant que le cortex est essentiel dans leur régulation (Steriade *et al.*, 1993; Contreras *et al.*, 1996).

Durant le sommeil NREM, les cellules réticulées sont **progressivement hyperpolarisées** par la diminution des afférences excitatrices provenant des noyaux cholinergiques, serotoninergiques et noradrenergiques (McCormick & Bal, 1994). Cette diminution est progressive et peut commencer bien avant les transitions vers le sommeil (Aston-Jones & Bloom, 1981). Cette hyperpolarisation progressive expliquerait l'évolution des stades de sommeil au cours d'un cycle, passant du stade N1 au stade N2, ainsi que l'apparition des spindles.

Les spindles sont des rythmes très conservés chez l'homme et chez l'animal, en revanche le pic de spindles visible dans le spectre moyen chez l'homme (Figure 1.20b), ne se retrouve pas chez le rongeur (Mölle *et al.*, 2009).

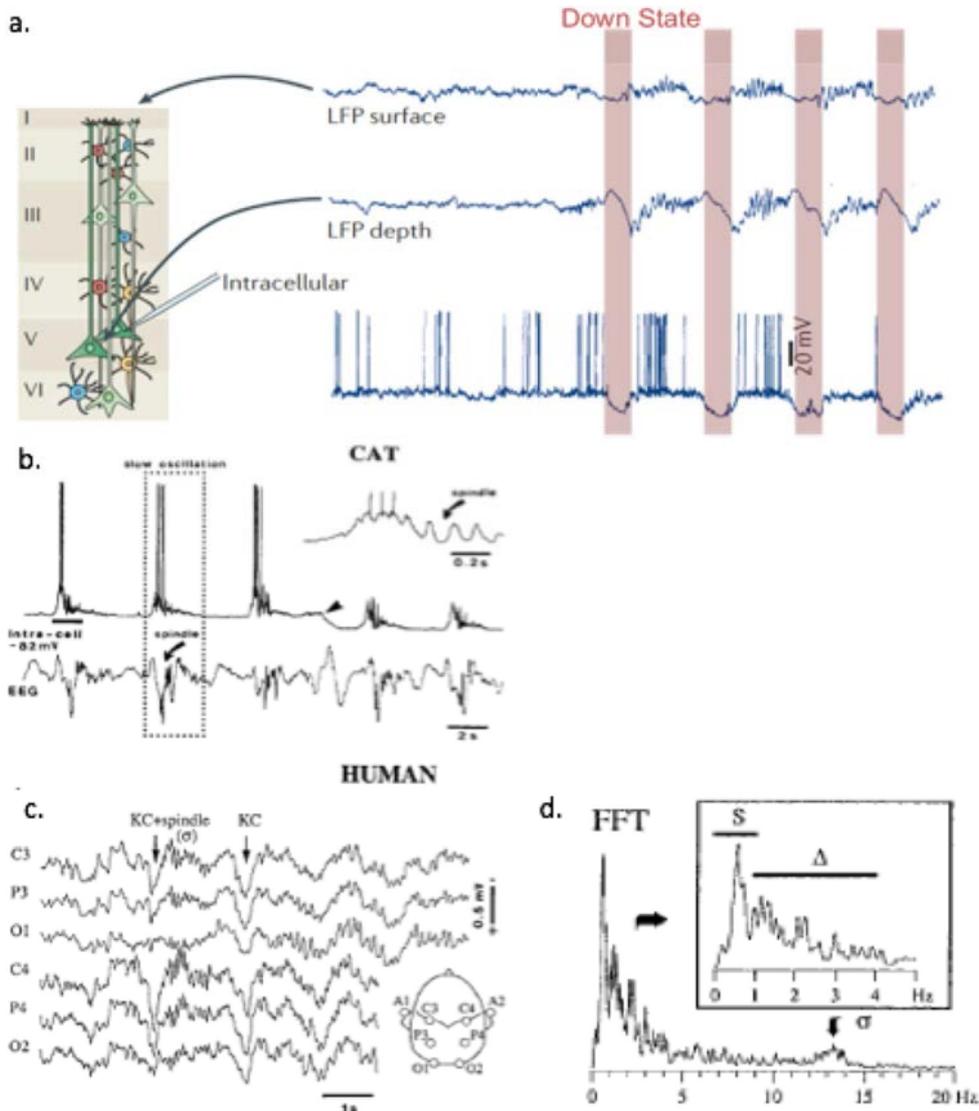


Figure 1.21 : oscillations lentes corticales

a- LFP enregistré en surface et en profondeur du cortex moteur chez le chat anesthésié, et enregistrement intracellulaire (Buzsáki *et al.*, 2012). Noter l’alternance entre un état hyperpolarisé DOWN (rouge) et dépolarisé des cellules pyramidales de la couche 5, et les modifications correspondantes du LFP. Noter aussi la différence de LFP entre les couches supérieures et profondes au moment du DOWN.

b-d sommeil à onde lente et complexe K : comparaison entre homme et chat (Steriade, 2001).

b- exemple d’enregistrement intracellulaire chez le chat oscillant entre UP et DOWN. L’onde delta enregistrée au niveau EEG au moment de la transition DOWN-UP ressemble au complexe K observé chez l’homme, et est parfois suivie d’une spindle. c- EEG durant le sommeil chez l’homme présentant deux K-complexes (ou onde delta), l’un suivi d’une spindle, l’autre non. Noter la ressemblance avec l’onde delta du chat. d- spectre de puissance de l’EEG chez l’homme durant le sommeil à ondes lentes. Noter le pic associé aux spindles vers 14Hz, et le pic en dessous de 1Hz et ses harmoniques correspondant à l’onde lente.

Les ondes lentes

Durant le sommeil, les neurones corticaux oscillent spontanément entre des états hyperpolarisés et dépotarisés (Figure 1.21a). Certains réseaux de neurones isolés, comme les cellules thalamo-corticales du thalamus, ou les neurones du néocortex, sont en effet capables d'osciller spontanément. Le potentiel de membrane de l'ensemble des neurones passe par un état hyperpolarisé durant lequel les neurones excitateurs et inhibiteurs sont silencieux (**DOWN**), puis l'activité synaptique reprend et les connexions récurrentes maintiennent cet état UP pendant quelques secondes, avant de repasser en DOWN (Steriade *et al.*, 1993; Steriade, 2001).

L'alternance entre UP et DOWN est caractéristique des enregistrements corticaux durant le NREM. L'origine des silences durant le sommeil à ondes lentes pourrait s'expliquer en partie par la diminution de l'excitation cholinergique présente durant l'éveil (McCormick & Bal, 1997). La transition vers le UP pourrait quant à elle provenir d'une activité synaptique spontanée, ou encore d'une activation sous corticale. Il faut noter que cette « oscillation » lente est en fait une transition entre deux états stables et non une réelle oscillation ; mais les DOWN se répétant toutes les 2 à 10 secondes on parle d'oscillation <1Hz

Les périodes de silence associées aux DOWN produisent des modifications visibles sur les enregistrements LFP et EEG, créant ce qui est appelé une **onde delta**. Les LFP enregistrés au niveau des couches 5 corticales présentent une déflexion de grande amplitude (Figure 1.21a) et cette onde delta dépend de la durée du DOWN enregistré au niveau intracellulaire, suggérant que ces deux phénomènes ne font qu'un (Contreras & Steriade, 1995). Les DOWN mesurés sont associés à une onde positive dans les couches profondes du cortex, mais à une onde négative dans les couches superficielles, signe de la présence entre ces deux sites d'enregistrements d'un dipôle générateur de ces ondes (Contreras & Steriade, 1995). D'après la théorie des puits et de sources de courants à l'origine des déflexions visibles dans le LFP, il est donc très difficile de comprendre pourquoi le Down state (absence d'arrivée synaptique) est associé à un dipôle. Cependant, même s'il est difficile d'expliquer théoriquement ce phénomène, les études expérimentales montrent une forte concordance entre les signaux LFP/EEG et l'activité neuronale sous-jacente.

Ces déflexions ont été appelées ondes delta, car leur apparition et leur durée entraînent une forte augmentation de la puissance spectrale dans la bande delta (2-4Hz). Encore une fois, il est important de préciser qu'il ne s'agit pas d'une oscillation au sens strict du terme mais un événement unique pouvant apparaître de façon plus ou moins rythmique.

Le **complexe K** observé sur l'EEG chez l'homme serait en réalité une onde delta. Bien que la démonstration soit indirecte, le DOWN et la transition vers le UP mesurés en intracellulaire chez le chat induisent une onde delta qui ressemble à un complexe K (Figure 1.21b-c), suggérant que ce complexe K serait dû au même phénomène chez l'homme (Amzica & Steriade, 1998; Steriade & Amzica, 1998; Steriade, 2001). La reprise de l'activité UP est souvent associée à une spindle,

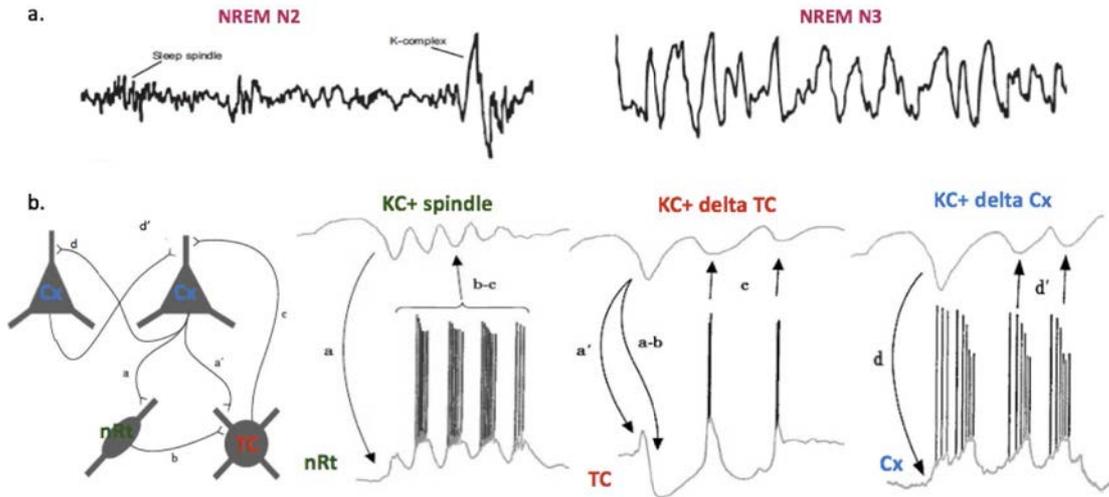


Figure 1.22 : Le rythme delta dans le réseau thalamo-cortical

a- exemple d'enregistrement EEG chez l'homme durant le sommeil à ondes lentes (Brown, Tan, *et al.*, 2012). Noter l'oscillation delta en N3, comme un enchainement rapide de complexe K.
 b- l'origine thalamique et corticale du rythme delta (Amzica & Steriade, 2002). Les conductances calciques à bas seuil ainsi que le réseau interconnecté entre cellules corticales (Cx), cellules thalamiques (TC) et nRT, génèrent soit des spindles, soit un rythme delta thalamique, soit un rythme delta cortical.

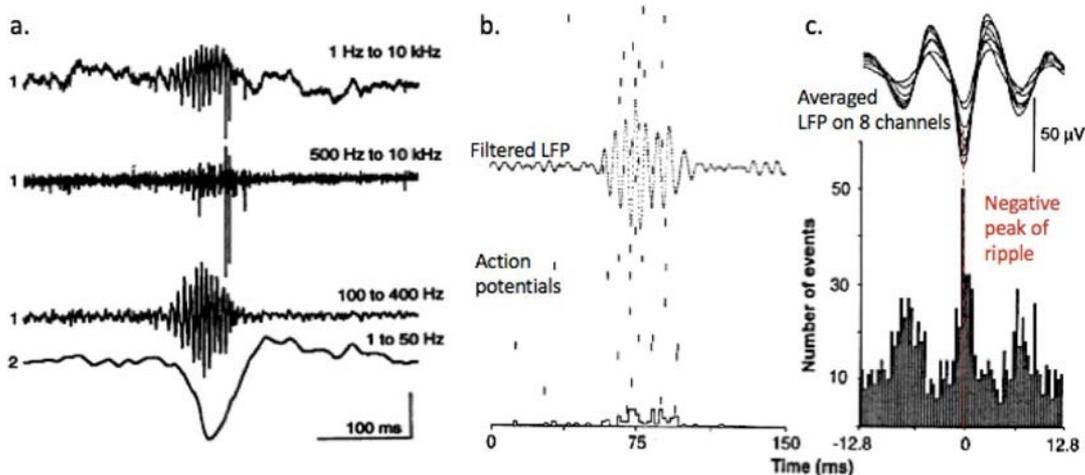


Figure 1.23: les ripples de l'hippocampe

a-c Sharp wave - ripples (Buzsáki *et al.*, 1992). a- oscillations rapides (>100Hz) mesurées avec des électrodes extracellulaires (tétrodes) dans la couche pyramidale (1) ou la couche radiatum (2) du champ CA1 de l'hippocampe dorsal, accompagnées de potentiels d'action (spikes > 500Hz) et d'une grande déflexion sur le LFP (sharp wave). b- potentiel d'actions au moment de la ripples, chaque ligne correspond à un neurone différent. c- cross-corrélogramme entre les spikes des neurones enregistrés et le pic négatif de chaque cycle de la ripple (signal moyenné en haut). Noter l'augmentation de la décharge neuronale aux creux de la ripples.

notamment durant le N2, ce qui est également le cas chez l'animal (Figure 1.21b). Une controverse existe puisque les complexes K sont très souvent associés à une forte excitation suivant la transition DOWN-UP, expliquant sa forme bi-phasique caractéristique. Les complexes K seraient donc des sous-types d'ondes delta suivies d'un rebond d'excitation (Cash *et al.*, 2009, 2010; Amzica, 2010). Un stimulus sensoriel présenté durant le sommeil peut également être à l'origine d'un complexe K (Iber *et al.*, 2007).

Le **rythme delta** (1-4Hz) est caractéristique du stade de sommeil profond N3 chez l'homme. Sur le tracé EEG figure 1.22a, on peut voir que les grandes amplitudes du rythme delta dans le stade N3 ressemble à un enchaînement rapide de complexe-K ou onde delta. Le rythme delta serait ainsi dû à une accélération de l'occurrence des ondes delta, survenant alors à un rythme de 2-4Hz (Amzica & Steriade, 2002; Destexhe & Sejnowski, 2003). Bien que son importance soit encore mal comprise, le rythme delta pourrait également avoir une origine thalamique. En effet lorsque l'état d'hyperpolarisation des neurones TC ou du nRt et des cellules corticales le permet, le rythme delta prend naissance. Les courants calciques à bas seuil au niveau du nRT permettent la génération de bouffées d'activité rapides que sont les spindles ; ces mêmes courants créent des bouffées d'activité avec une fréquence plus lente dans les TC ou dans les cellules corticales formant le rythme delta (Figure 1.22b). Le LFP mesuré proviendrait donc de la somme des EPSP en provenance du thalamus et du cortex lui-même.

Les ripples

Les **ripples** sont caractéristiques du NREM. Ce sont des oscillations à hautes fréquences générées dans l'hippocampe et mesurées au niveau de la couche pyramidale du champ CA1 (Buzsáki, 2002). Pour une raison encore inconnue, une forte activité est observée dans CA3 entraînant une activation de CA1 par les collatérales de Schaffer. Les ripples sont donc accompagnées d'une déflexion mesurée sur le LFP au niveau de la couche *radiatum*, site des arrivées de CA3 (Figure 1.23a), et d'une grande activité neuronale mesurée par le nombre de potentiels d'action (Figure 1.23b-c). Chaque cycle de la ripple correspond à une bouffée d'activité de la population de cellules pyramidales (Figure 1.23c). L'interaction entre interneurons inhibiteurs et cellules pyramidales excitatrices est à l'origine de cette oscillation très rapide.

L'activité de certains neurones du cortex, notamment du cortex entorhinal ou du cortex préfrontal, semble modulée par les ripples. Ainsi ces rythmes rapides pourraient favoriser une communication entre l'hippocampe et le cortex à des moments particuliers du sommeil (Chrobak & Buzsáki, 1996). Nous aborderons plus en détail l'importance des ripples pour l'organisation des assemblées cellulaires et pour la mémoire dans le chapitre II.

Introduction

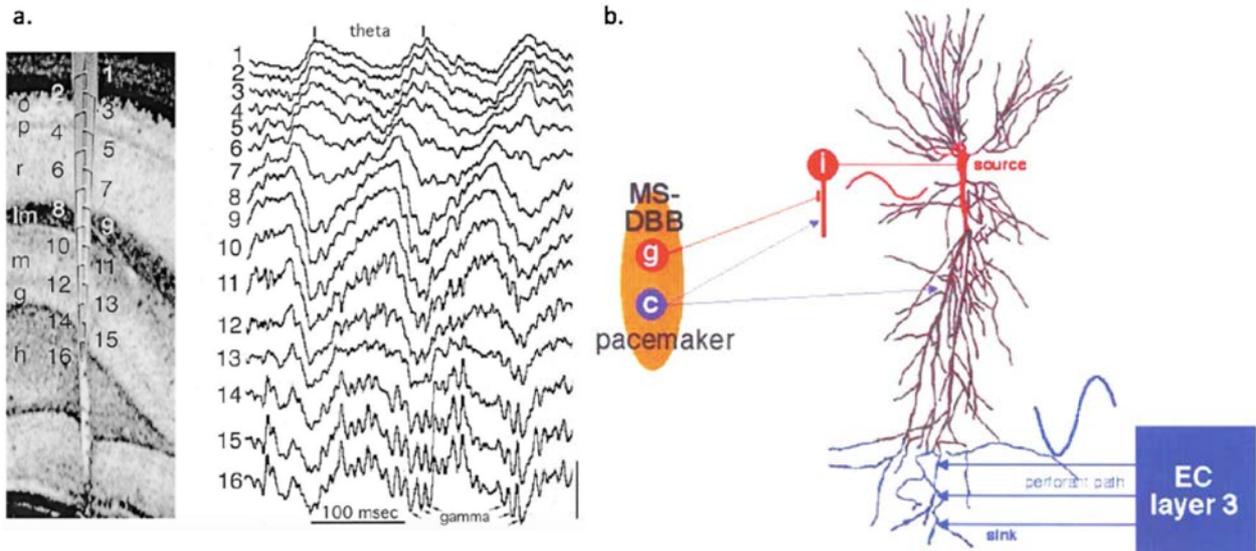


Figure 1.24 : le rythme thêta de l'hippocampe (Buzsáki, 2002)

a- thêta mesur     différents points d'enregistrement d'une probe linéaire. Noter l'inversion entre les couches superficielles (o : oriens) et profondes (r : radiatum), l'amplitude des oscillations étant minimale dans la couche pyramidale (p). Les électrodes dans le gyrus denté (10-16) présentent également un rythme plus rapide gamma. b- modèle classique de la génèse du rythme thêta. Le septum médian et la bande diagonale de Broca (MS-DBB) forment le pacemaker de thêta : les neurones cholinergiques (c) dépolarisent légèrement la cellule pyramidale ainsi que l'interneurone (i, basket cell), tandis que les neurones GABA du MS-DBB (g) hyperpolarisent cet interneurone i. ces IPSPs rythmiques génèrent une source de courant au niveau somatique. D'autre part, des EPSP rythmiques en provenance du cortex entorhinal entraine un puit de courant au niveau des dendrites distales.

Le thêta du REM

Durant le REM, l'EEG du rongeur présente un rythme thêta (5-8Hz) de grande amplitude (Figure 1.24). Ce rythme est également présent durant l'éveil et caractérise les tâches de locomotion, lorsque l'animal doit être attentif et actif : orientation, exploration, et en préparation à l'action (Vanderwolf, 1969). Le thêta, absent lorsque l'animal éveillé est immobile, est pourtant présent durant le sommeil REM.

Le rythme thêta est généré au sein de l'hippocampe : les cellules pyramidales reçoivent des inputs excitateurs du cortex entorhinal au niveau distal (Figure 1.24b) et inhibiteurs du septum médian, via les interneurons locaux, au niveau somatique (Buzsáki, 2002). Ces courants postsynaptiques rythmiques, synchronisés au sein des cellules pyramidales organisées de façon laminaire, sont à l'origine du rythme mesuré en LFP.

Le thêta du REM est proche de celui de l'éveil mais se distingue par quelques spécificités, notamment la coordination des rythmes plus rapides comme le gamma entre le gyrus denté, CA3 et CA1. Durant le REM, le thêta est de type tonique pour 95% du temps, cependant 5% du REM présente un thêta phasique, plus proche de l'éveil et potentiellement associé à des fonctions spécifiques dans la consolidation mnésique (Montgomery *et al.*, 2008).

Chez l'homme, le thêta est un rythme spécifique de l'éveil, et aurait une origine distincte de celui mesuré chez le rongeur. En effet le thêta chez l'homme est principalement enregistré au niveau préfrontal et serait contrôlé par la boucle thalamo-corticale que nous venons de voir, ou par le télencéphale basal.

Les spindles et les oscillations lentes visibles sur l'EEG durant le NREM ont une origine à la fois thalamique et corticale. Les ripples également caractéristiques du NREM sont formées dans l'hippocampe. Le rythme thêta quant à lui est présent durant tout le REM chez le rongeur, et est retrouvé durant l'éveil à des moments où l'animal doit être attentif et actif.

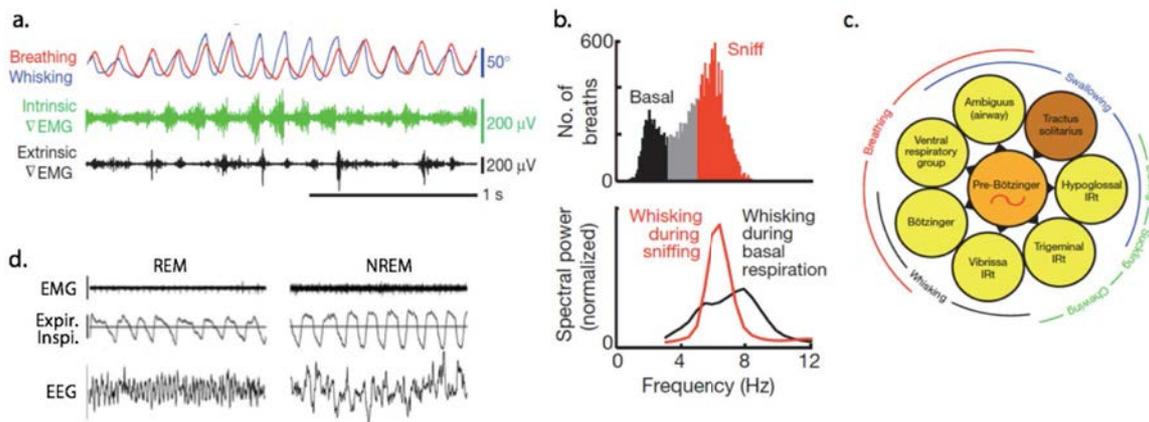


Figure 1.25: Contrôle de la respiration et sommeil.

a-c coordination des rythmes corporels (Moore *et al.*, 2013). a- Enregistrements simultanés du signal de respiration, du mouvement des vibrisses (whisking) et du mouvement des muscles extrinsèques et intrinsèques contrôlant les vibrisses. Noter la coordination entre ces différentes activités lors d’une période de sniff. b- histogramme des fréquences instantanées de respiration (haut) délimitant la respiration basale comme en dessous de 3Hz, et le sniff, au dessus de 5Hz. La bande grise correspond à une absence de classification. Le spectre de puissance du whisking (bas) montre un pic au niveau de la fréquence de sniff, lorsque l’animal est effectif en sniff. c- résumé des différents noyaux pré-moteurs (jaune) recevant un input rythmique de la part du complexe pré-Bötzinger (orange). Ces noyaux ont des rôles joints, notamment dans le contrôle de la respiration et du whisking.

d- Exemple chez le rat de la respiration irrégulière durant le REM en comparaison de la respiration très régulière durant le NREM (Soulaïrac *et al.*, 1965).

I-3-b Le rythme respiratoire et le bulbe olfactif durant le sommeil

Comme nous l'avons décrit, le sommeil peut être caractérisé par la présence d'oscillations cérébrales, notamment les oscillations lentes avec une fréquence comprise entre 1 et 4 Hz. Les oscillations cérébrales peuvent avoir deux origines différentes. Elles peuvent être générées de manière endogène par les circuits neuronaux : nous venons de décrire les mécanismes neurophysiologiques à la base des ondes delta, des spindles. Mais ces oscillations peuvent également provenir d'entrées sensorielles rythmiques.

Il a par exemple été montré que le mouvement de la tête du rongeur oscille à une fréquence de 6-9 Hz lors de ses déplacements, cette oscillation correspondant au rythme thêta généré de manière endogène par l'hippocampe. Dans ce cas, la rythmicité des entrées sensorielles pourrait entrer en cohérence ou non avec le rythme endogène. Une partie des recherches portent justement sur le bénéfice apporté par des oscillations cohérentes pour permettre une bonne communication entre structures cérébrales : phénomène parfois appelé **communication par cohérence** (Fries, 2005).

Cette coordination de différents rythmes est aussi présente pour la respiration. Le rythme respiratoire et le whisking, mouvement rapide des vibrisses chez le rongeur, sont en effet coordonnés (Figure 1.25a-c), notamment par le noyau pré-Bötzing (Moore et al., 2013). Il est proposé que cette coordination ait un rôle dans l'intégration de l'information multi-sensorielle : par exemple il est important pour interpréter les informations provenant de l'activation des vibrisses de pouvoir soustraire l'information provenant des mouvements liés à la respiration qui vont les faire bouger.

Dans le cas du sommeil, les entrées sensorielles dont la rythmicité est proche des oscillations enregistrées dans le cerveau endormi, pourraient ainsi s'ajouter aux rythmes endogènes. Une analyse sommaire chez le rongeur montre clairement que la fréquence respiratoire correspond à la fréquence des oscillations lentes du sommeil. Nous allons donc présenter les caractéristiques de la respiration et sa régulation chez l'homme et l'animal, puis présenter en quoi la physiologie respiratoire pourrait avoir un lien, voire un rôle, dans la régulation du sommeil.

La respiration et sa régulation

La respiration chez l'homme est composée de 3 phases : inspiration, pause et expiration, un cycle durant 4-5s (0.2Hz). Chez le rongeur la respiration est beaucoup plus rapide, environ 3Hz en basal pour la souris, et jusqu'à 15Hz lors du sniff un comportement permettant l'échantillonnage de l'environnement olfactif (Figure 1.25a-b). Le rythme respiratoire est présent tout au long du sommeil et il est intéressant de comprendre ses interactions avec les autres rythmes lents.

La respiration est contrôlée par un ensemble de neurones situés dans le tronc cérébral qui sont notamment sensibles aux variations de concentration en CO₂. Des sous-groupes de neurones correspondent chacun à des phases précises de la respiration, et s'activent en chaîne pour entraîner le cycle respiratoire. Ces noyaux centraux activent les motoneurones responsables de la contraction

Introduction

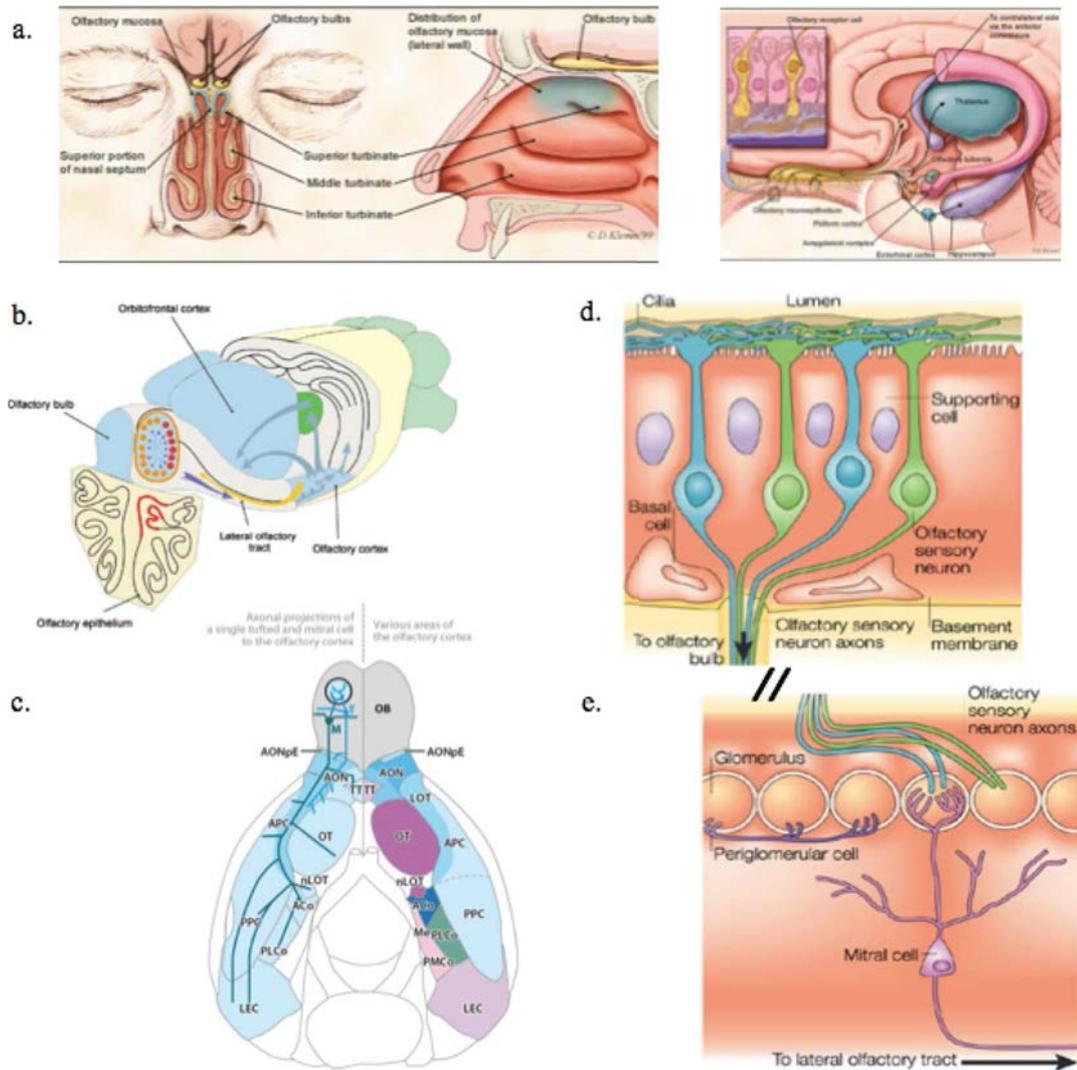


Figure 1.26 : Le système olfactif, chez l'homme et le rongeur

a- Le système olfactif chez l'homme soulignant son interaction avec le système limbique (Bromley, 2000).
 b- Schéma plaçant une coupe transversale de l'épithélium et du bulbe olfactif (BO) de rongeur par rapport au reste du cerveau. Les glomérules (cercles rouge et orange) tapissent la surface du BO. c- Le tracte latéral olfactif est composé des fibres des cellules mitrales projetant sur le cortex piriforme, projetant ensuite vers le système limbique et le cortex préfrontal (Mori & Sakano, 2011). d-e les neurones sensoriels de l'épithélium olfactif (d) projettent vers le BO (e) : les neurones sensoriels exprimant un récepteur olfactif donné convergent vers un même glomérule (bleu versus vert). Les cellules mitrales du BO relaient ensuite l'information olfactive vers le cortex (Mombaerts, 2004).

du diaphragme, également régulés par certains nerfs crâniens comme le nerf vague. La fréquence et l'amplitude de respiration résultent donc de différentes commandes cérébrales inconscientes, mais il est également possible de contrôler sa respiration consciemment, nécessitant des voies corticales.

Ainsi la respiration, et notamment le 'sniff', est sous contrôle cortical. Les cortex insulaire et infralimbique projettent sur les noyaux du tronc cérébral impliqués dans la génération du rythme respiratoire, et leur stimulation entraîne une augmentation de la fréquence respiratoire, mimant un sniff (Bianchi & Gestreau, 2009). L'effet de ces stimulations sur l'activité du cortex piriforme et du bulbe olfactif, ainsi que sur le traitement de l'information olfactive dans ces régions n'a pas été testé.

Anatomie du circuit olfactif et couplage à la respiration

Bien que l'olfaction fasse partie des 5 sens incontournables, le bulbe olfactif chez l'homme représente un volume minuscule comparé au reste du cerveau (Figure 1.26a). Cependant, il est connecté à un ensemble de structure du système limbique (voir partie II) telles que l'amygdale et l'hippocampe, via le cortex piriforme, également de petite taille chez l'homme, et les odeurs sont associées à un contenu émotionnel particulièrement riche. En revanche, l'olfaction est un sens primordial chez le rongeur et la taille du bulbe olfactif (BO) représente un volume conséquent du cerveau (Figure 1.26b-c).

L'arrivée des molécules odorantes sur l'épithélium olfactif principal, et sur l'organe voméronasal responsable de la réponse aux hormones et comportements sociaux chez le rongeur, se fait via la cavité nasale, la respiration par la bouche leur étant impossible (Figure 1.26b). Un ensemble de neurones exprimant un seul et unique type de récepteur olfactif, répartis de manière aléatoire dans l'épithélium, projettent sur un même glomérule (Figure 1.26d). Les glomérules correspondant à un récepteur donné sont localisés précisément et symétriquement dans les bulbes droit et gauche. Bien sûr, une odeur est un cocktail de molécules odorantes, activant une combinatoire de récepteurs et donc un ensemble de glomérules (Mombaerts, 2004).

Le glomérule du bulbe olfactif est donc une unité fonctionnelle, qui répond à l'activité d'une seule molécule. Cette unité est contactée par les dendrites de plusieurs **cellules mitrales** donc les axones projettent directement sur le cortex piriforme, un proto-cortex à 3 couches. L'information est ensuite relayée au cortex préfrontal, directement et indirectement via le thalamus (Figure 1.26b). Aussi, le cortex piriforme est considéré comme le cortex primaire de l'information olfactive, et la perception consciente de l'odeur se produirait au niveau du cortex préfrontal. En retour, le cortex olfactif active les neurones granulaires inhibiteurs du BO et exercerait ainsi un contrôle top-down (Figure 1.27a).

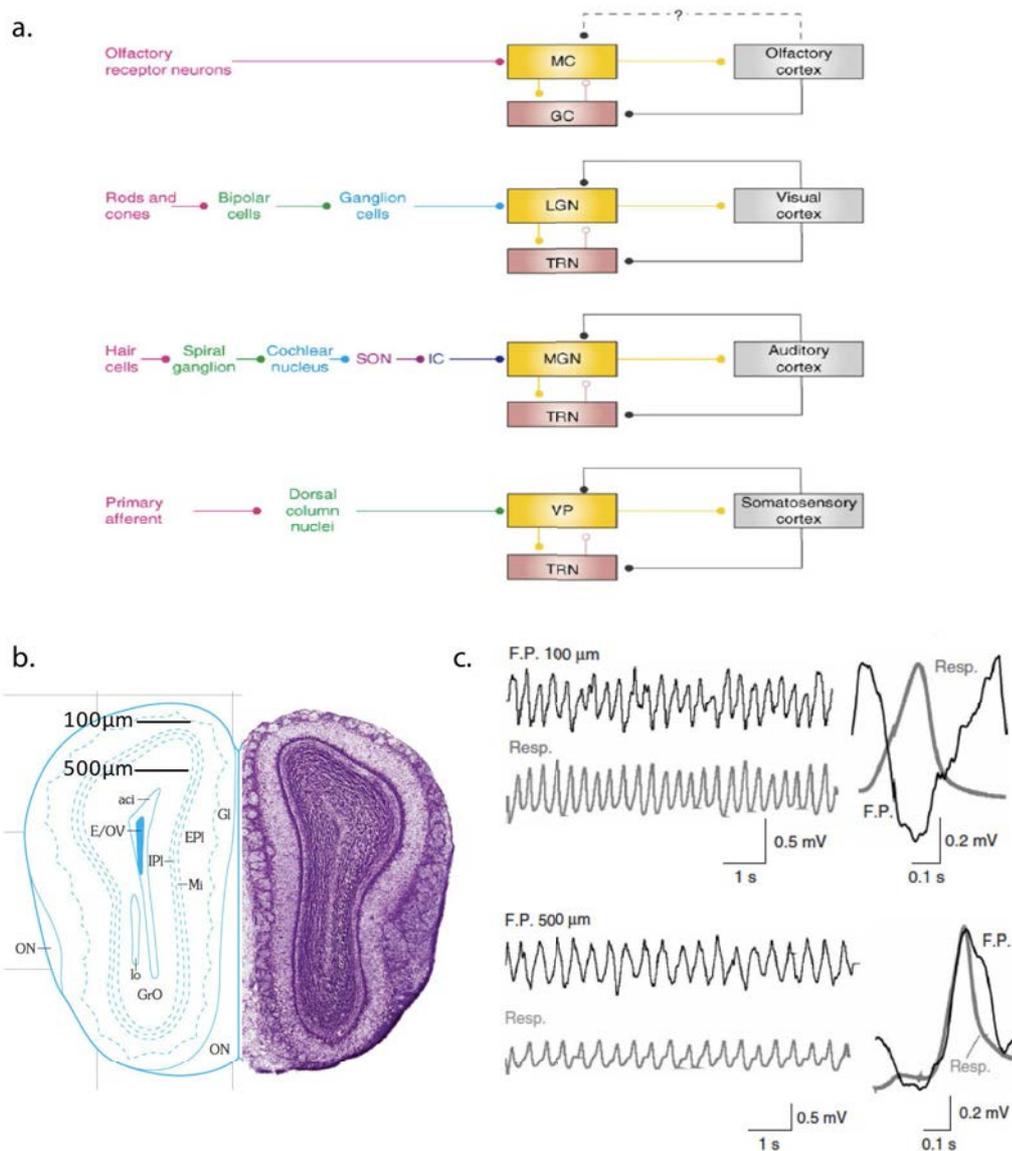


Figure 1.27 : Le BO comme relais de l'information olfactive, intégrant la respiration

a- Comparaison des voies sensorielles (Kay & Sherman, 2007). Le relais thalamique est composé de neurones excitateurs (jaune) et inhibiteurs (rouge), étape qui pourrait être remplacée dans le système olfactif par les cellules mitrales (MC) et granulaires (GC) du BO. b- coupe transversale de BO, avec l'arrivée latérale des neurones sensoriels olfactifs (ON) projetant sur la couche glomérulaire (GI). Les cellules mitrales (couche Mi) envoient leur axones vers le cortex en passant par la couche granulaire (GrO). E/OV : ventricule. E/IPI : couche plexiforme (Franklin & Paxinos, 2008). c- Enregistrements de la respiration et du LFP dans le BO (F.P) à 100µm ou 500µm de profondeur (voir e.) à gauche, et tracés moyennés à droite. Noter la cohérence entre les signaux de respiration et le LFP : en anti-phase à 100µm et en phase à 500µm (Grosmaître *et al.*, 2007).

Ainsi le bulbe olfactif est le noyau précédant l'arrivée de l'information olfactive au cortex cérébral (Figure 1.27a) et l'olfaction diffère de la vision, l'audition, et du système somatosensoriel par l'absence de relais thalamique (Shepherd, 2005). Il a donc été proposé que le Bulbe olfactif effectue certaines des fonctions normalement imputées au thalamus, notamment la fonction de **gating**, contrôlant la quantité et la qualité de l'information sensorielle à relayer (Kay & Sherman, 2007). En plus du codage spatial en unité glomérulaire, l'information olfactive est transmise selon un pattern temporel précis. L'application d'une odeur entraîne une augmentation du taux de décharge des cellules mitrales associées au glomérule activé. Mais c'est la réorganisation temporelle au sein du rythme respiratoire, apportant avec lui une onde d'odeur, qui semble le mieux caractériser la réponse olfactive.

La respiration semble avoir un rôle particulier, au delà de la simple modulation de l'arrivée des informations olfactives (Buonviso *et al.*, 2006). En effet les neurones de l'épithélium olfactif répondent à la fois aux molécules odorantes et à l'action mécanique de l'air (Grosmaître *et al.*, 2007). Il en résulte que le LFP mesuré dans le BO est couplé à la respiration même en absence d'odeur. Selon la profondeur de l'enregistrement ce couplage peut être en phase ou en antiphase (Figure 1.27b-c). Ce rythme lent imposé par la respiration est parfois appelé *thêta* par analogie à sa fréquence (3-12 Hz), mais est fondamentalement différent du rythme *thêta* hippocampique.

Le bulbe olfactif est également le siège de fortes oscillations dans les gammes de fréquence *beta* (15-30 Hz) et *gamma* (40-100 Hz). Ces différents rythmes sont générés par l'action d'interneurones différents. Les interneurones *peri-glomérulaires* seraient importants pour le rythme *gamma*, alors que les interneurones de la couche granulaire seraient quant à eux prépondérants pour le rythme *thêta* (Fukunaga *et al.*, 2014). De nombreuses études suggèrent que les rythmes *beta* et *gamma* sont cruciaux pour le codage de l'information sensorielle (Martin & Ravel, 2014). Le rythme *thêta* olfactif est plus difficile à appréhender et l'interprétation des signaux est parfois rendue difficile par les artefacts dus aux mouvements générés par la respiration. Il n'empêche que les rythmes *gamma* et *beta* sont fortement modulés par le *thêta* olfactif (Figure 1.28a-b) : ils apparaissent en effet à certaines phases du *thêta* olfactif et donc à certaines phases du cycle respiratoire (Buonviso *et al.*, 2003; Mori *et al.*, 2013). Il n'existe pas à l'heure actuelle de preuve que la co-modulation de ces rythmes soit importante pour le codage sensoriel bien qu'il soit suggéré que les assemblées cellulaires du BO s'organisent au sein de ces rythmes (Cenier *et al.*, 2009).

Chez l'homme, la respiration semble plus généralement couplée aux mécanismes cérébraux impliqués dans la commande sensori-motrice, liée ou non à l'olfaction. En effet, le temps de réaction à un stimulus visuel varie selon la fréquence et la phase de respiration, et selon le type de contrôle, autonome ou volontaire, de la respiration (Li *et al.*, 2012).

Introduction

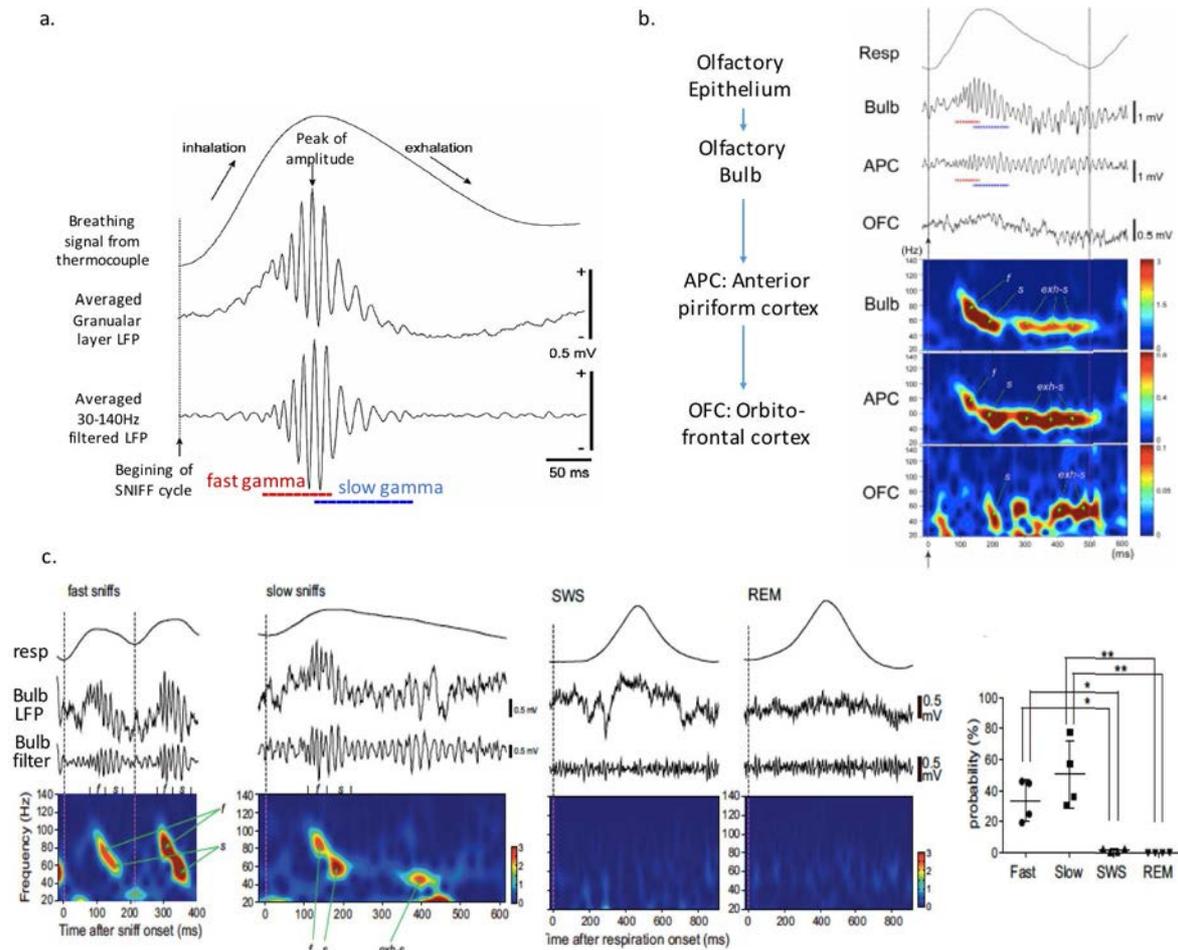


Figure 1.28 Rythme gamma dans le BO et états de vigilance

a-b Rythme gamma (30-140Hz) lors du sniff chez le rat (Mori *et al.*, 2013). a- signal LFP moyen dans le BO démarrant sur le début du cycle de respiration lors du sniff et LFP filtré dans la bande gamma. Le gamma est d'abord rapide (>60Hz), maximal au moment de la transition entre inspiration et expiration, puis lent (30-60Hz). b- LFP dans le BO, le cortex piriforme (APC) et préfrontal (OFC) au moment du sniff et spectre de puissance dans la bande gamma (20-140Hz). Noter la présence du rythme gamma lent et rapide dans le BO et le cortex piriforme, et la présence de la composante lente dans le cortex préfrontal. Un gamma lent est également présent dans les 3 structures au cours de l'expiration. c- comparaison du gamma dans les différents états de vigilance (Manabe & Mori, 2013). Respiration et LFP dans le BO au moment de l'éveil, durant un sniff rapide ou lent, et durant le sommeil NREM (SWS) ou REM. Noter l'absence de rythme gamma dans le sommeil, quantifié sur le panel de droite.

Respiration, bulbe olfactif et sommeil

Durant le sommeil, le noyau pré-Bötzinger a un rôle central dans le contrôle de la respiration jouant le rôle de pacemaker. En effet, l'ablation unilatérale du complexe pré-Bötzinger perturbe la respiration spécifiquement durant le sommeil, sans effet sur la respiration de l'éveil. Aussi, la dégénérescence neuronale de ce centre de la respiration serait à l'origine de certaines apnées du sommeil (Feldman & McKay, 2008). Les astrocytes sont également impliqués dans le contrôle adaptatif de la respiration puisque le blocage de la fusion vésiculaire astrocytaire dans le noyau Pré-Bötzinger diminue l'activité neuronale ainsi que la moyenne et la variabilité de la fréquence de respiration (Gourine *et al.*, 2010).

Comme cité précédemment, le système sympathique régule également la fréquence respiratoire. L'activation phasique de ce système durant le REM serait responsable de la grande variabilité mesurée dans la respiration (Figure 1.25d), chez l'homme comme chez l'animal (Soulaïrac *et al.*, 1965). A mesure que le sommeil s'approfondit le couplage cardio-respiratoire est d'ailleurs augmenté (Bartsch *et al.*, 2012).

A la fin des années 50, le chilien R.Hernandez-Peon remarque que n'importe quel stimulus sensoriel provoquant un éveil mesuré en EEG chez le chat, entraîne également une augmentation de l'activité électrique mesurée dans le BO (Lavin *et al.*, 1959; Hernandez-Peon *et al.*, 1960). Il en conclut qu'un signal top-down, ou centrifuge, doit réguler l'activité de cette structure (Ravel *et al.*, 1987). De manière intéressante, le BO est une cible majeure de nombreux neuro-modulateurs impliqués dans les états de vigilance et reçoit la majorité des fibres sortant du Locus Cœruleus impliqué dans l'éveil (Shibley *et al.*, 1985). Il reçoit d'importants inputs cholinergiques (Ravel *et al.*, 1990), noradrénergiques, dopaminergiques et sérotoninergiques dont l'activité est plus importante durant l'éveil, et expriment les récepteurs correspondant. Cette neuro-modulation modifie le codage de l'information olfactive, dans le BO mais aussi dans le cortex piriforme recevant des inputs similaires (Petzold *et al.*, 2009).

Les voies sensorielles auditives, visuelles et somato-sensorielles présentent un gating thalamique de l'information durant le sommeil. Un stimulus sensoriel entraîne un potentiel évoqué dans le cortex correspondant, mais ce potentiel est atténué ou modifié lors du sommeil à ondes lentes. Ce blocage de l'information serait dû à l'hyperpolarisation des neurones thalamiques durant le NREM que nous avons abordé. Sans relais thalamique, que se passe-t-il dans le système olfactif durant le sommeil ? L'analyse des potentiels évoqués dans le cortex piriforme montre une diminution de réponse à l'odeur durant l'anesthésie profonde par rapport à l'anesthésie légère. Au niveau du BO cependant, pas de modification entre les différents états (Murakami *et al.*, 2005). Le rythme gamma (30-140Hz) du BO est en revanche très différent entre l'éveil et le sommeil (Mori *et al.*, 2013). Ce rythme habituellement présent lorsque l'animal est éveillé et vigile, disparaît au moment du REM et du NREM (Figure 1.28c).

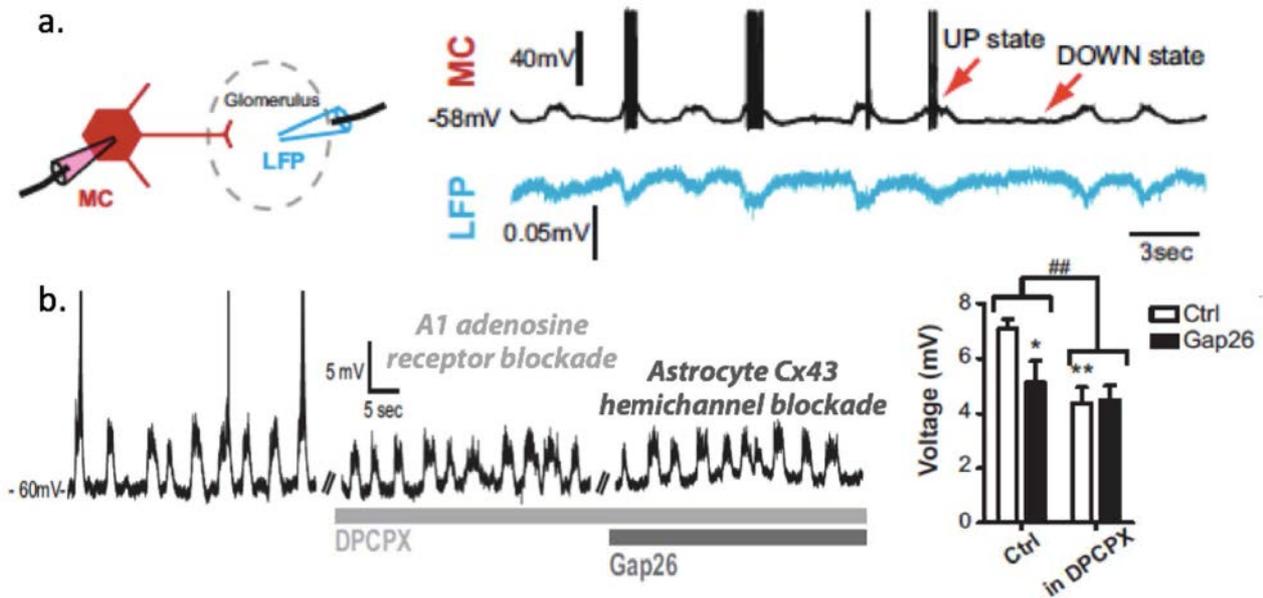


Figure 1.29 : oscillations lentes dans le BO (Roux et al., 2015)

a- Enregistrement en current clamp d'une cellule mitrale dans une tranche de BO et du LFP dans le glomérulaire correspondant à la cellule mitrale patchée. Le potentiel de membrane alterne entre des états UP dépolarisés durant lesquels le neurone émet des potentiels d'action, et des états DOWN, hyperpolarisés sans potentiels d'action. Cette alternance se fait à 0.1Hz environ et se traduit par une activation du LFP (vers le bas) au moment du UP. b- diminution des UP en présence de DPCPX (bloqueur du récepteur à l'adénosine A1), et en présence de GAP26 (bloqueur spécifique des hémicanaux astrocytaires), sans effet additif de la double application.

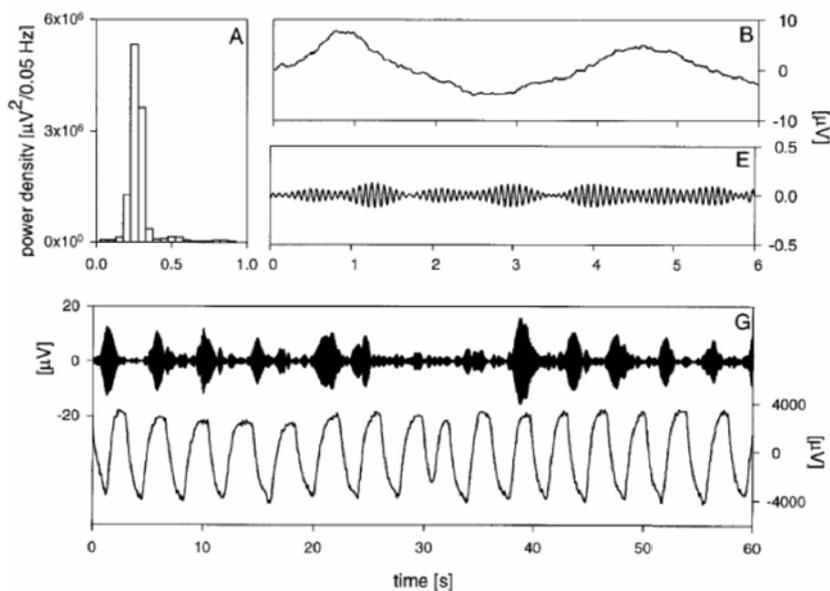


Figure 1.30 : modulation de l'EEG par la respiration chez l'homme (Achermann & Borbély, 1997).

Spectre de puissance de la respiration au cours du sommeil (A) montrant un pic à 0.2Hz. Signal EEG (B) ou filtré dans la bande des spindles (12-16Hz, E) moyenné sur le minimum du signal de respiration ou pendant 1min d'enregistrement (G). Les rythmes cérébraux enregistrés sont modulés par la respiration.

De façon surprenante, en tranche de bulbe olfactif *ex vivo*, le potentiel de membrane des neurones excitateurs du BO -les cellules mitrales - oscille spontanément entre des états dépolarisés UP accompagné de l'émission de potentiels d'action (Figure 1.29a-b), et des états hyperpolarisés DOWN (Roux *et al.*, 2015). Cette oscillation endogène observée en tranche n'est pas sans rappeler les expériences de Steriade sur le thalamus isolé (Steriade *et al.*, 1993). L'étude de Lisa Roux à laquelle j'ai eu la chance de participer est présentée en annexe.

L'alternance entre UP et DOWN s'exerce à une fréquence de 0.1Hz et est sensible au blocage des récepteurs à l'adénosine A1. Une régulation de l'activité du réseau neuronal se ferait donc par ce facteur hypnogène et l'accumulation de l'adénosine dans le réseau serait dépendante des astrocytes. Le BO est donc capable de générer un rythme lent endogène rappelant celui présent dans le thalamus, il reste cependant à comprendre l'importance de ce rythme *in vivo*, notamment dans les oscillations présentes dans le BO durant le sommeil.

Les rythmes lents (<1.5Hz) induits au niveau cortical lors de l'anesthésie sont couplés à la respiration (Fontanini *et al.*, 2003; Fontanini & Bower, 2005). Le rythme lent enregistré chez la souris dans l'hippocampe est également couplé avec la respiration, et ce couplage se fait via le BO car le remplacement de la respiration nasale par trachéotomie abolit ce couplage (Yanovsky *et al.*, 2014). Ces résultats sur la souris anesthésiée ne permettent pas de conclure quant au processus de couplage éventuellement impliqués dans l'entraînement des oscillations lentes du sommeil.

Il a cependant été observé chez l'homme, une « contamination » de l'enregistrement EEG par la respiration (Achermann & Borbély, 1997). Le couplage observé entre le rythme respiratoire si proche des ondes lentes, et la bande 12-16Hz caractéristique des spindles (Figure 1.30) interroge sur le rôle de la respiration dans le contrôle des oscillations du sommeil.

Sommeil, olfaction et dépression

Une première approche pour comprendre le rôle du bulbe olfactif dans les processus liés au sommeil est d'observer les lésions de cette structure. Cependant l'ablation bilatérale des BO chez le rongeur induit de profondes modifications de l'activité cérébrale notamment dans le circuit limbique et des concentrations neuroendocriniennes, notamment en dopamine et sérotonine ; et l'effet est donc bien trop global pour être directement relié au sommeil. En revanche, la bulbectomie chez le rongeur est un des meilleurs modèles de dépression, puisque ces altérations sont rétablies par un traitement *chronique* d'antidépresseurs (Song & Leonard, 2005).

Malgré tout, le sommeil est également perturbé chez les animaux bulbectomisés (Figure 1.31a), avec une diminution de la durée et de la fréquence des épisodes de REM (Araki *et al.*, 1980).

Introduction

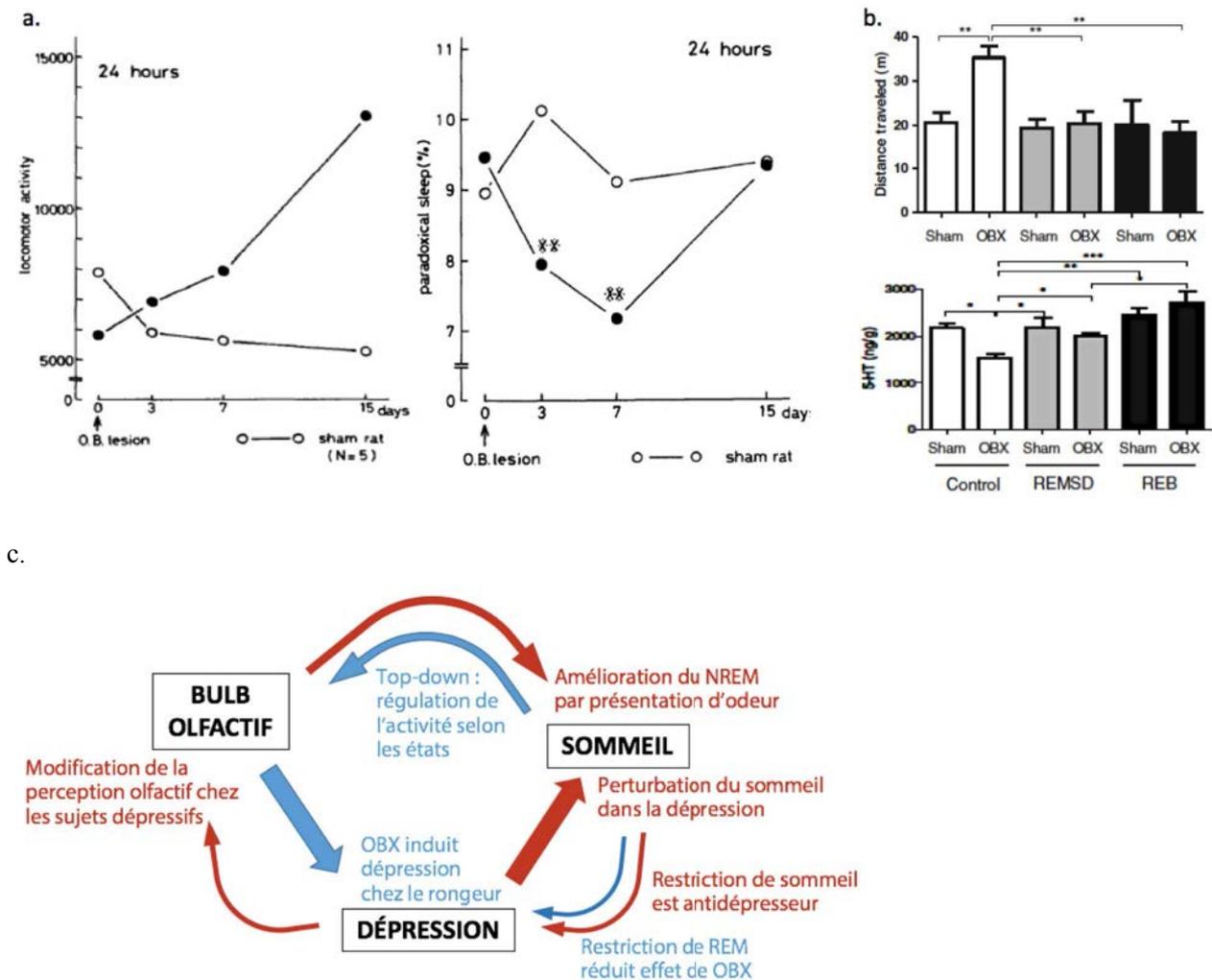


Figure 1.31 Le modèle de bulbectomie chez le rongeur- lien avec le sommeil

a- modification du comportement et du sommeil après bulbectomie chez le rat (Araki et al., 1980). Gauche : modification de l'activité locomotrice qui augmente au fil des jours après lésion du BO. Droite : diminution de la proportion de sommeil passé en REM durant la 1ère semaine suivant la lésion, et mis en place de mécanisme compensatoire restaurant cette proportion après 15 jours. b- Effet de la privation sélective de REM sur le phénotype de dépression chez rat (Maturana et al., 2014). c- résumé des interactions entre le BO, le sommeil et la dépression. La bulbectomie induit un phénotype dépressif chez la souris (Song & Leonard, 2005), et l'olfaction est perturbée chez les sujets dépressifs (Canbeyli, 2010). L'activité du BO est dépendant de l'état de vigilance (Mori *et al.*, 2013) et des stimuli olfactifs peuvent influencer la profondeur du sommeil (Goel *et al.*, 2005). Enfin, le sommeil est perturbé chez les sujets dépressifs et la restriction de sommeil a un effet antidépresseur (Steiger & Kimura, 2010) ; chez le rongeur la privation sélective de REM réduit les effets de la bulbectomie (Maturana *et al.*, 2014). Rouge : études chez l'homme, bleu : chez le rongeur.

Chez l'homme la dépression est associée à une modification de la perception olfactive (Canbeyli, 2010), mais un des symptômes les plus importants est l'allongement du temps de sommeil. Une restriction de sommeil a alors un effet antidépresseur (Steiger & Kimura, 2010), et cet effet est également observé chez le rongeur puisque une privation sélective de REM réduit le phénotype de dépression induit par la bulbectomie (Maturana *et al.*, 2014). La concentration en sérotonine est notamment restaurée (Figure 1.31b). Complétant ce tableau tripartite (Figure 1.31c), la présentation d'une odeur forte améliore le sommeil NREM chez l'homme (Goel *et al.*, 2005).

Ainsi le bulbe olfactif, chez le rongeur en particulier, aurait ainsi un rôle particulier dans la régulation de processus cérébraux essentiels au maintien d'un fonctionnement cognitif normal.

La respiration durant le sommeil est régulée grâce au complexe pré-Bötzinger et au système nerveux autonome, et présente un couplage avec d'autres rythmes physiologiques notamment le rythme cardiaque.

Le bulbe olfactif constitue une sorte de thalamus olfactif, relayant l'information vers le cortex au rythme de la respiration. Très sensible à l'état de vigilance par une régulation top-down, il est capable de générer des rythmes lents intrinsèques et pourrait s'ajouter aux oscillateurs cérébraux impliqués dans les rythmes du sommeil. Notamment, certains rythmes lents présents dans le néocortex et le système limbique durant le sommeil semblent être orchestrés par la respiration, et le bulbe olfactif pourrait avoir un rôle crucial dans ce phénomène.

De manière intéressante, la bulbectomie entraîne un dérèglement majeur de l'activité cérébrale chez le rongeur, soulignant l'importance de cette structure dans la régulation des mécanismes cérébraux.

Chapitre 1 - en bref

Le sommeil est caractérisé par une absence réversible de mouvement et une diminution de la réponse sensorielle ; il est présent dans tout le règne animal suggérant un rôle essentiel. Les expériences de privation de sommeil indiquent que le sommeil est contrôlé de manière homéostatique et qu'il a un rôle crucial dans la régulation de la température, du métabolisme, du système immunitaire, et des fonctions cognitives.

L'activité cérébrale est marquée par des patterns d'oscillations particuliers permettant de distinguer deux grandes phases de sommeil : le REM et le NREM. Des noyaux situés dans le tronc cérébral et l'hypothalamus sont à l'origine du maintien des différents états de vigilance et des transitions de l'un à l'autre. En effet des molécules hypnogènes comme l'adénosine s'accumulent au cours de l'éveil et viennent moduler l'activité de ces noyaux. Cette pression de sommeil influencerait la durée de NREM, mais d'autres mécanismes semblent être à l'origine de l'homéostasie du REM, la durée de cette phase étant intimement corrélée à la durée du NREM.

Les fonctions physiologiques sont également contrôlées durant le sommeil via le système sympathique, modulant notamment les fréquences respiratoire et cardiaque de manière différentielle au cours des différentes phases. La respiration est un rythme lent qui s'ajoute aux différents patterns caractéristiques du NREM, et le lien privilégié du bulbe olfactif avec le reste du cerveau chez le rongeur en fait un potentiel modulateur de l'activité cérébrale du sommeil.

Pour finir, le NREM est décomposé en sous-stades N1, N2 et N3 chez l'homme et la régulation de ceux-ci seraient également soumis à des processus homéostatiques. Cependant la compréhension de ces phénomènes se heurte à l'absence de consensus quant à la définition de sous-stades de NREM chez l'animal, et en particulier chez le modèle rongeur.

II- Introduction Partie 2.

Mémoire et Sommeil

II- Introduction Partie 2 : Mémoire et Sommeil

II-1 Généralité sur la mémoire

La mémoire est une faculté essentielle à tout organisme qui lui permet de s'adapter à son environnement en réponse à une expérience passée. Cette faculté consiste donc à encoder et stocker une information, qu'elle provienne des sens ou d'un état interne, afin de la réutiliser plus tard et d'adapter un comportement. Comprendre comment l'information est stockée dans le cerveau, à l'échelle des régions anatomiques, des réseaux neuronaux, de la cellule, de la synapse, et comment elle influence le comportement, est essentiel pour l'avancée de la médecine mais aussi pour répondre à une soif de connaissance insatiable sur comment fonctionne notre pensée et le pourquoi de nos agissements.

II-1-a Historique de l'étude de la mémoire

Au début du siècle dernier, Richard Semon, le père de la recherche sur les processus de la mémoire, propose la notion d'**engramme** pour définir la mémoire, correspondant à « une modification durable de la *substance excitable*, latente jusqu'alors, en réponse à un stimulus ». Ce terme est l'équivalent de la **trace mnésique**.

Semon introduit également le terme d'*ecphorie*, correspondant à « l'ensemble des influences conduisant au réveil de l'engramme, le sortant de son état latent, pour le conduire vers un état d'activité manifeste » : c'est le **rappel** mnésique ou la recollection, l'activation de la trace mnésique préalablement **encodée** durant l'apprentissage. Dans cette définition, il fait état d'un dynamisme, d'une transition d'un état à un autre, susceptible de modifier alors le comportement. Il se penche également sur cette notion d'**encodage**, en parlant d'*engraphy* : l'association de l'ensemble des stimuli qui modifie conjointement l'activité cérébrale et laisse une trace multiple appelée complexe-engramme (Schacter *et al.*, 1978).

Concernant le substrat de l'engramme, Simon se confrontait encore à l'idée rependue que la mémoire appartenait au psychique et non au physique. Bien qu'étant convaincu que le substrat consistait en des modifications physicochimiques dans le cerveau, il estimait que les connaissances scientifiques ne lui permettaient pas de spéculer quant aux phénomènes biologiques impliqués.

Il faudra attendre les travaux de Hebb puis les études anatomiques sur la mémoire pour offrir un cadre conceptuel sur les mécanismes sous-tendant l'engramme. Ce champ de recherche est aujourd'hui un des plus vaste et la complexité des processus mnésiques en fait un domaine des plus fascinants.

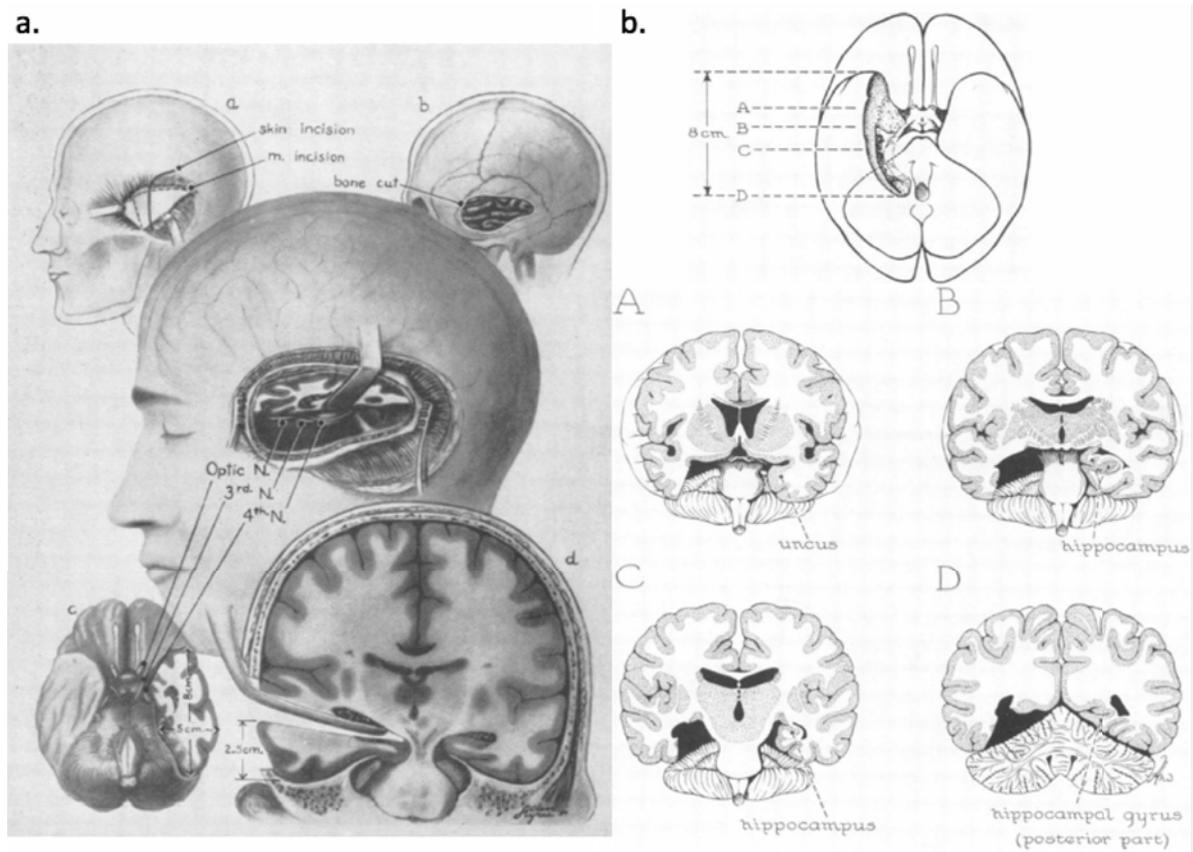


Figure 2.1 : chirurgie d'ablation du lobe temporal médian (Scoville & Milner, 1957)

a- Dessin représentant une lobectomie temporale unilatérale. L'ablation du cerveau se fait sur 8cm en antéro-postérieur. Cette patiente présentait temporairement une amnésie partielle concernant les quelques semaines précédant l'opération, mais l'ensemble de ses facultés de mémoire furent retrouvées quelques mois après l'opération.

b- différentes sections de cerveau représentant les principales régions touchées par la chirurgie : l'uncus, l'hippocampe et le gyrus. Le patient H.M. qui a subi la même lobectomie temporale présentée en (a) mais de manière bilatérale, ne recouvrit jamais ses capacités mnésiques. Chez ce dernier, la chirurgie a détruit les 2/3 antérieurs de l'hippocampe et du gyrus ainsi que l'uncus et l'amygdale.

A la recherche de l'engramme

Historique des lésions

Franz et Lashley furent les premiers à rechercher la localisation d'un centre de la mémoire dans le cerveau (Franz & Lashley, 1917; Bruce, 2001). Après de nombreuses expériences lésionnelles chez le rat, le chat et le singe, ainsi que l'observation des cas de lésions cérébrales chez l'homme, ils durent pourtant conclure qu'aucune région anatomique particulière du cerveau n'était responsable de la mémoire. En lésant une à une les régions corticales, ils observèrent que la région frontale du cortex était en revanche nécessaire au maintien d'un type de tâche préalablement apprise par le rat, mais la localisation de la lésion importait peu.

Ils en conclurent que l'apprentissage résultait de l'intervention de multiples structures cérébrales sans spécialisation particulière, et que la trace mnésique était diffuse. Il fallut attendre quelques décennies de plus pour que des précisions sur les régions cérébrales impliquées dans la mémoire soient apportées.

Le patient HM et l'importance de l'hippocampe

Dans les années 50, la description du cas particulier du patient Henri Molaison (HM) apporta quelques réponses. Atteint d'une épilepsie du lobe temporal extrêmement invalidante et résistante aux traitements de l'époque, HM subit une ablation bilatérale des lobes temporaux médians (Figure 2.1). Son épilepsie cessa, mais un symptôme tout aussi invalidant apparut : il était incapable de former un nouveau souvenir. Scoville et Milner répertorièrent alors l'importance de l'amnésie d'HM et des quelques patients ayant également subi une chirurgie sur la région temporale. Ils conclurent qu'un déficit de mémoire n'était présent que lorsque l'hippocampe et le gyrus hippocampique étaient atteints de manière bilatérale par la chirurgie (Scoville & Milner, 1957). Cette analyse sera précisée par (Squire & Zola-Morgan, 1991), observant que l'amygdale était également touchée dans les cas d'amnésie. Ainsi l'hippocampe et l'amygdale sont deux régions cruciales de la mémoire.

Concernant HM, deux ans après son intervention, ils observèrent que son intelligence restait intacte puisque son QI légèrement supérieur à la moyenne était inchangé. Mais ce patient continuait de penser être en mars 1953, quelques mois avant son intervention chirurgicale (août 1953), dont il n'avait d'ailleurs aucun souvenir. Ainsi l'**amnésie antérograde**, l'incapacité à former de nouveaux souvenirs, s'accompagnait-elle d'une **amnésie rétrograde** sur les 3 années précédant l'intervention. Il semblait donc que l'hippocampe soit impliqué dans la création de nouveaux souvenirs, mais aussi dans le maintien des souvenirs récents, les plus anciens apparaissant comme plus résistants, consolidés. Nous reviendrons sur le processus de **consolidation** mnésique par la suite.

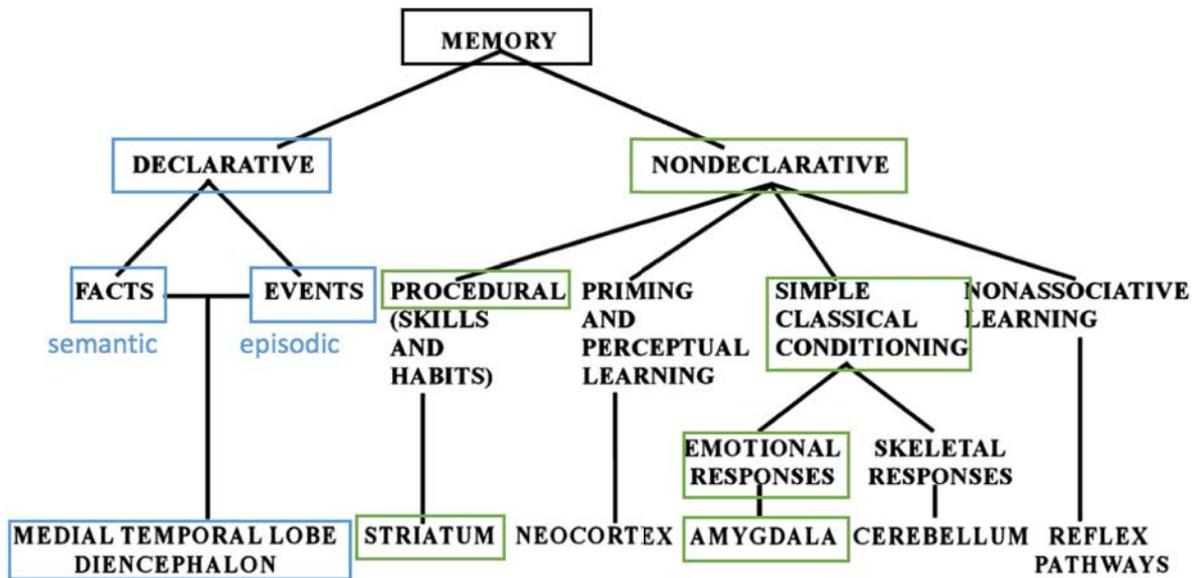


Figure 2.2 : les différents types de mémoire à long terme (Squire, 2004)

Types de mémoire chez les mammifères, distinguant une mémoire déclarative assez unitaire et une mémoire non-déclarative multiple. Les structures cérébrales associées sont également présentées.

La classification de la mémoire chez l'homme

Facultés et apprentissages préservés chez HM

Un constat important concernant le patient HM est qu'il pouvait s'investir dans une courte conversation ou dans une tâche avec beaucoup d'application et de motivation, mais dès lors qu'il en changeait, il était incapable de se souvenir de la nature de la tâche précédente, ni du fait qu'il s'y était impliqué. Ainsi une mémoire fonctionnelle à très court terme, la **mémoire de travail**, pouvait-elle se distinguer de la **mémoire de long terme**.

Enfin, l'amnésie d'HM concernait uniquement la mémoire dite explicite, le fait de se rappeler d'un événement (mémoire **épisodique**) ou d'une nouvelle connaissance (mémoire **sémantique**). Brenda Milner consigne notamment que certaines capacités d'apprentissage sont préservées chez HM, comme l'adaptation de la règle d'association dans le test des cartes de Wisconsin, ou encore l'amélioration d'un processus sensori-moteur pour résoudre un labyrinthe ou pour dessiner via un miroir (Milner *et al.*, 1968).

Mémoire déclarative et Non-déclarative

L'ensemble des cas d'amnésie étudié et le développement d'un modèle animal d'amnésie chez le singe, ont permis à Squire de proposer une dichotomie entre mémoire **déclarative**, touchée dans l'amnésie, et **non-déclarative** (Squire, 1982). La mémoire déclarative ou explicite ou encore consciente se rapporte à ce qui peut être verbalisé et inclut la mémoire épisodique et sémantique. La mémoire non déclarative ou implicite quant à elle concerne des apprentissages inconscients, dont on ne peut souvent expliciter les causes, comme lorsqu'on apprend à jouer au tennis ou à faire du vélo, où seule la répétition de l'expérience améliore notre habilité (mémoire **procédurale**). D'autres mémoires comme le priming ou les conditionnements simples font également partie de la mémoire inconsciente.

Ainsi un modèle des différents types de mémoire fut proposé par Squire dans les années 90 (Squire & Zola-Morgan, 1991).

Des mémoires et des structures cérébrales

La dichotomie entre mémoire déclarative et non déclarative fut enrichie et précisée, notamment en terme de structures cérébrales impliquées, et Squire proposa le diagramme figure 2.2 résumant l'avancée des recherches sur la mémoire (Squire, 2004). La mémoire implicite regroupe différents sous-type distincts, parmi eux le conditionnement simple dépendant de l'amygdale. La mémoire consciente quant à elle fait appel au lobe temporal médian, touché dans l'amnésie (Bechara *et al.*, 1995). Pour simplifier on parle alors de mémoire de type **hippocampe-dépendant** pour la mémoire déclarative et **hippocampe-indépendant** pour le reste.



Figure 2.3 : la mémoire épisodique chez les oiseaux

Photographie d'un jais, oiseau européen cachant sa nourriture.

Couverture de Current biology, Volume 23, Issue 17, September 09, 2013.

Classification de la mémoire chez l'animal

Mais comment étudier la mémoire de type déclarative chez le rongeur puisque celle-ci est définie par la verbalisation ? L'idée sous-jacente de la mémoire explicite est qu'elle repose sur un schéma mental, une représentation du monde à laquelle l'individu fait appel lors du rappel. Les efforts se sont alors concentrés sur le développement de tâches dans lesquelles l'animal doit utiliser une **représentation mentale** de l'expérience préalablement vécue mais aussi de l'objectif à accomplir.

La représentation du but chez l'animal

Afin de mieux cerner ce que pourrait être une représentation mentale chez l'animal, une définition d'un comportement dirigé vers un but est proposée par (Dickinson & Balleine, 1994). Ce comportement nécessite 2 choses :

- La connaissance de la contingence entre l'action et la conséquence souhaitée (l'objectif), connaissance qui peut être une croyance ou une attente basée sur l'expérience passée. Cette connaissance peut être évaluée en vérifiant que l'apprentissage dépend de la fréquence à laquelle l'action est associée à l'objectif.
- Le maintien de la conséquence de l'action comme l'objectif à atteindre. En effet si, après l'apprentissage, la conséquence de l'action est dévaluée et que l'animal persiste dans l'action, le comportement est en fait automatisé et ne sert plus l'objectif à atteindre.

La mémoire épisodique-like chez l'animal

Dickinson chercha également à définir ce que pourrait être la mémoire épisodique chez l'animal. Considérant qu'un souvenir consiste en l'association de trois éléments « quoi ? où ? quand ? », il étudie les jais, des oiseaux capables de cacher temporairement leur nourriture (Figure 2.3). Il constate que les oiseaux estiment le temps écoulé depuis la cache, puisqu'ils retournent vers les cachettes contenant les vers uniquement dans un laps de temps court, leur préférant ensuite les cacahuètes moins périssables. Ainsi ils retiennent le *quand* (le temps qui passe), le *quoi* (vers ou cacahuètes) et le *où* (les cachettes), les trois éléments définissant une mémoire épisodique (Clayton & Dickinson, 1998).

La mémoire dépendant de l'hippocampe

Malgré ces arguments, beaucoup ne sont pas encore convaincus de l'existence d'une mémoire déclarative chez l'animal. Mais un dernier critère peut être exploré : la mémoire déclarative dépendant de l'hippocampe. Ainsi il est possible chez l'animal de distinguer des mémoires dépendant de l'hippocampe et d'autres indépendantes.

Introduction

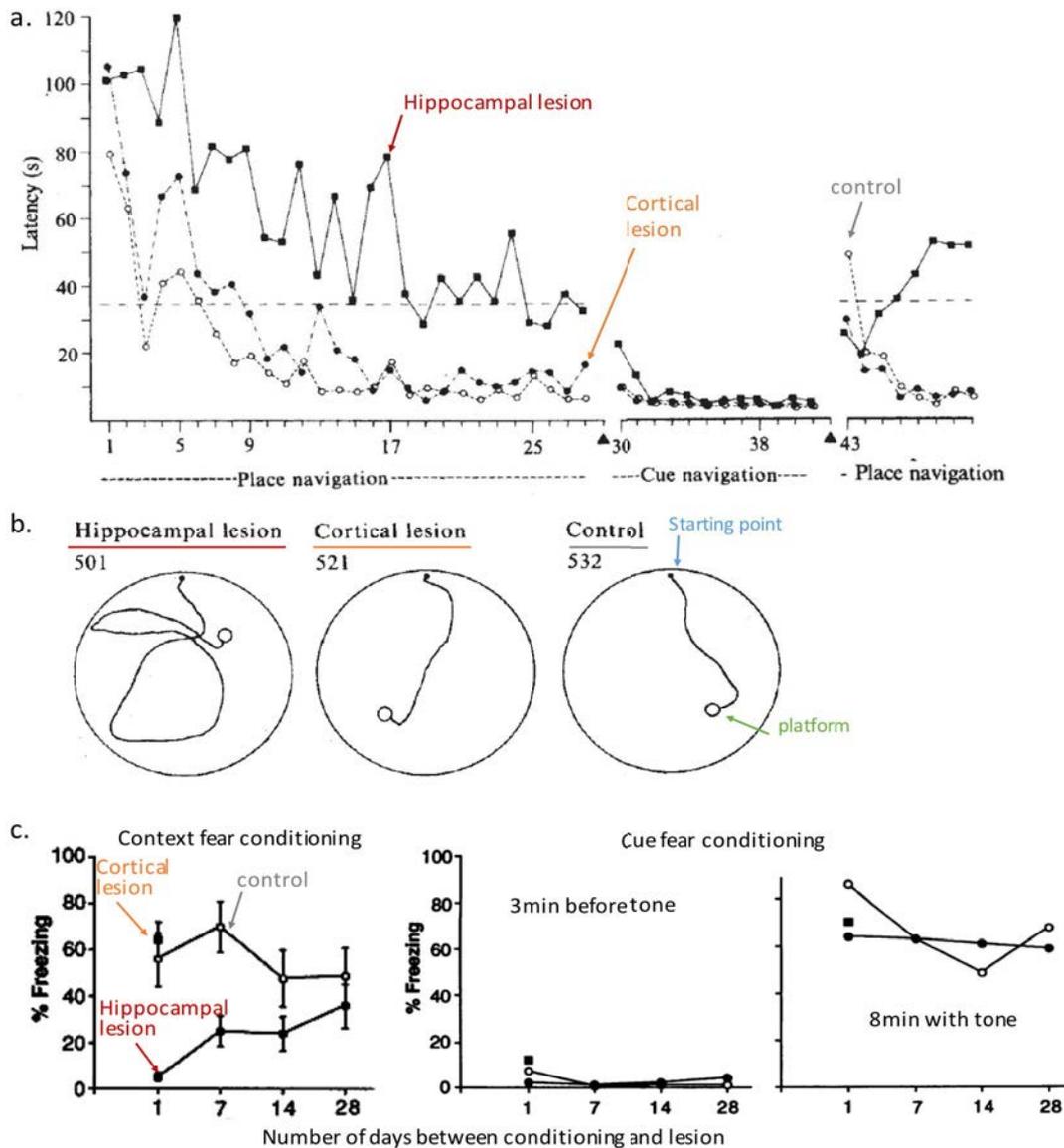


Figure 2.4 : mémoire spatiale et contextuelle dépendant de l'hippocampe

a-b les lésions de l'hippocampe altèrent les performances en piscine de Morris (Morris *et al.*, 1982).

a- Délais pour atteindre la plateforme pour les rats contrôle, et les rats lésés au niveau de l'hippocampe ou du cortex. Noter le retard d'apprentissage pour les rats avec lésion de l'hippocampe. b- exemples de trajectoire dans la piscine de Morris. Noter les trajectoires allant directement du point de départ à la plateforme chez les animaux contrôle et lésés au niveau cortical, et trajectoires aléatoires chez les animaux lésés au niveau de l'hippocampe.

c- L'hippocampe est nécessaire au conditionnement de peur contextuel uniquement (Kim & Fanselow, 1992). Le rat est placé dans une cage A et reçoit plusieurs chocs électriques toujours précédés d'un son. Après 1, 7, 14, ou 28 jours, le rat subit une lésion de l'hippocampe, ou une lésion du cortex (condition 1 jour uniquement). 7 jours après la chirurgie, il est testé 1) dans la version contexte : le niveau d'immobilité liée à la peur (freezing) est mesuré dans la même cage A, et 2) dans la version indicée ou il est placé dans une autre cage B, et le freezing est mesuré avant et pendant la présentation du son conditionné. Noter l'effet délétère des lésions hippocampiques réalisées lors des premiers jours après conditionnement.

Ainsi l'expérience princeps de Morris en 1982, montre que les rats ayant subis des lésions au niveau de l'hippocampe sont incapables d'apprendre une version spatiale de la piscine de Morris. Cette tâche consiste à retrouver à la nage une plateforme immergée et donc invisible, en utilisant des indices distaux. La version indicée de cette tâche, où un indice visuel est placé au niveau de la plateforme, est par contre très bien réalisée par les rats lésés (Figure 2.4a-b), indiquant que c'est bien la capacité à se représenter l'espace qui est altérée (Morris *et al.*, 1982).

Double dissociation chez l'homme et chez l'animal

La **double dissociation** entre des apprentissages complexes liés au contexte et dépendants de l'hippocampe versus des apprentissages de conditionnement simple indépendant de l'hippocampe, fut ensuite confirmée par plusieurs groupes.

Notamment les lésions de l'hippocampe altéraient la mémoire de peur liée au contexte, mais pas le conditionnement simple entre un son et un choc électrique chez l'animal (figure 2.4c) (Kim & Fanselow, 1992).

Confirmant les expériences chez l'animal, Bechara décrivit le cas de deux patients, l'un avec une lésion bilatérale au niveau de l'amygdale mais laissant l'hippocampe intact, l'autre avec une lésion bilatérale hippocampique sans lésion de l'amygdale (Bechara *et al.*, 1995). Il leur présenta de manière répétée un son neutre (CS) suivi d'un bruit assommant (US) et enregistra leur réponse électrodermale, celle-ci augmentant naturellement après le US. À la suite du conditionnement, le patient hippocampe réagissait au CS montrant qu'il avait bien appris ce conditionnement simple ; cependant il était incapable de se souvenir qu'il avait déjà entendu ces sons. À l'opposé, le patient amygdale avait une réponse électrodermale inchangée au CS, prouvant que le conditionnement n'avait pas eu lieu ; en revanche, il pouvait tout à fait se rappeler que le bruit assommant était toujours précédé du son neutre, confirmant la double dichotomie amygdale-conditionnement versus hippocampe-déclaratif.

La mémoire n'est pas unitaire. Elle se décompose en mémoire déclarative incluant les souvenirs (épisode) et la mémoire des faits (sémantique), qui est dépendante de l'hippocampe ; et en mémoire non-déclarative, indépendante de l'hippocampe, incluant la mémoire procédurale et les conditionnements simples.

Chez l'animal, la mémoire dépendant de l'hippocampe est associée à une mémoire de type déclaratif.

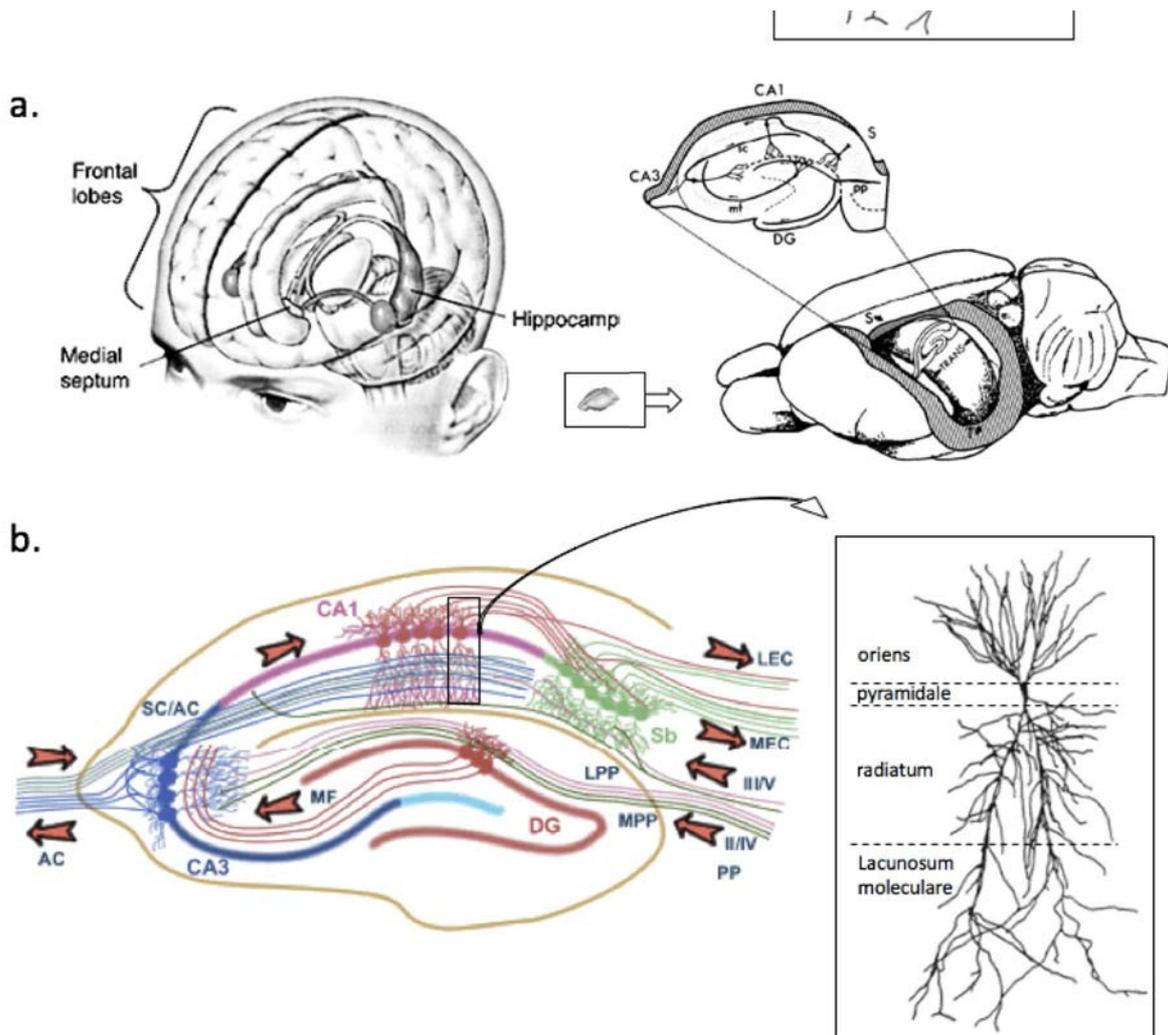


Figure 2.5 : anatomie et organisation de l'hippocampe

a- L'hippocampe chez l'homme et le rongeur (Amaral & Witter, 1989). L'hippocampe est une structure sous-corticale représentant un volume conséquent chez le rongeur.

b- Schéma d'une coupe transversale d'hippocampe de rongeur représentant les afférences et efférences. L'hippocampe reçoit des afférences du cortex entorhinal par la voie perforante latérale et médiale (L/M PP) au niveau de CA3 et du gyrus denté (DG). Les fibres moussues (MF) connectent également le DG aux dendrites basales des cellules pyramidales de CA3, projetant à leur tour sur les dendrites basales des cellules pyramidales de CA1 (couche lacunosum moleculare). CA3 projettent également sur l'hippocampe contralatéral via la commissure associative (AC), contactant CA1 par les collatérales de Schaffer (SC). La boucle se termine par la sortie de CA1 à nouveau sur le cortex entorhinal (L/MEC) directement ou indirectement par le subiculum (Sb).

II-1-b Le système limbique

L'hippocampe est donc crucial pour la formation de la mémoire de type déclaratif. Nous abordons ici les caractéristiques anatomiques de cette structure ainsi que celles du circuit limbique auquel il appartient. Le **système limbique** décrit par Papez au début du XXème siècle, regroupe un ensemble de structures impliquées dans la mémoire, la motivation, les émotions mais aussi l'olfaction. En effet, le bulbe olfactif fait partie de ce système, tout comme l'hippocampe, l'amygdale, le cortex limbique et l'hypothalamus (Powell & Hines, 1974).

Anatomie de l'Hippocampe

L'hippocampe est une sous-corticale composée du gyrus denté (DG), et des champs amoniques CA1, CA2 et CA3 (Figure 2.5a-b). Les cellules principales excitatrices sont des cellules pyramidales avec des dendrites apicales au niveau de la couche *oriens*, et basales au niveau de *radiatum* et *lacunosum moleculare*.

Traitement de l'information

La voie perforante provenant du cortex entorhinal fait synapse à la fois au niveau du DG et de CA3. Les cellules granulaires du DG projettent alors vers CA3, qui projettent vers CA1, formant un circuit trisynaptique. Le réseau récurrent dans CA3 est très intense de sorte que ce réseau est particulièrement excitable, une des raisons qui pourraient expliquer la fréquence des épilepsies temporales comparée à d'autres régions.

En sortie, CA1 projette sur le subiculum et à nouveau sur le cortex entorhinal, terminant ainsi la boucle. Les deux hémisphères sont de plus inter-connectés par la voie commissurale : les collatérales de Schaeffer contactent alors l'hippocampe contralatérale au niveau de CA1.

Introduction

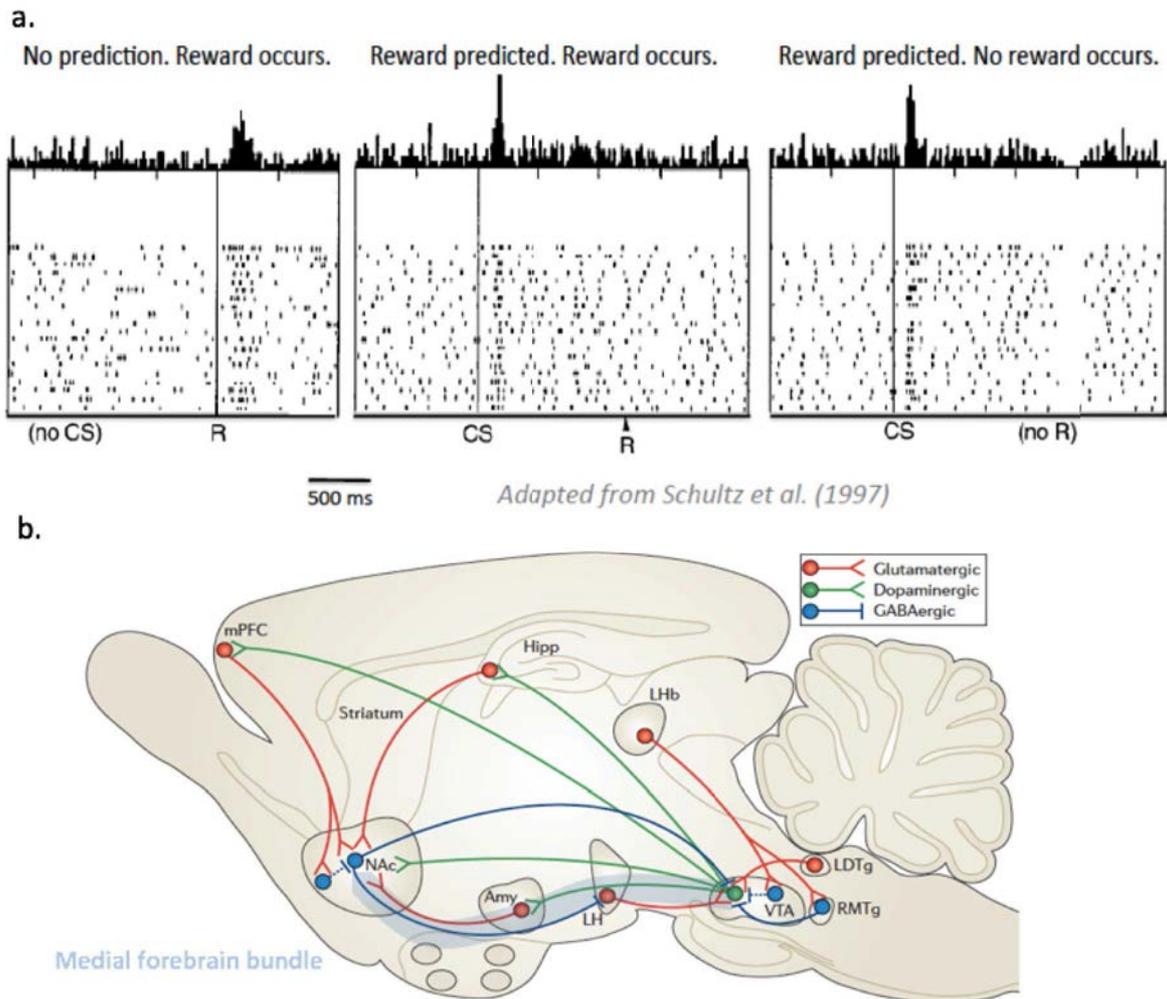


Figure 2.6 : dopamine et réseaux mésolimbique/mésocortical

a- Information de récompense codée par un neurone dopaminergique enregistré chez le singe (Schultz, 1997). Raster plot d'un neurone. Lorsque l'animal reçoit une goutte de jus d'orange appétitive (R) de manière imprévue le neurone augmente son activité (gauche). Après un apprentissage, le stimulus conditionné (CS) prédictif de la récompense à venir entraîne une augmentation de décharge, absente lors de l'arrivée de R (milieu). Si R n'est pas donné alors qu'elle est attendue, le neurone diminue son activité au moment même où R aurait dû arriver, suggérant une représentation interne du délai entre CS et récompense.

b- Circuits impliqués dans la récompense chez le rongeur (Russo & Nestler, 2013). Vision simplifiée des connexions dopaminergiques, GABAergiques et glutamatergiques afférentes et efférentes de l'aire tegmentale ventrale (VTA) et du noyau accumbens (NAc). Le faisceau médian prosencéphalique (MFB pour medial forebrain bundle) connecte réciproquement la VTA au NAc, directement et indirectement. Le NAc est composé de neurones GABA et reçoit de nombreux inputs glutamatergiques directs du cortex préfrontal médian (mPFC), de l'hippocampe (Hipp) et de l'amygdale (Amy). La VTA reçoit des inputs glutamatergiques du tegmentum dorsal latéral (LDTg), de l'habenula latérale (LHb) et de l'hypothalamus latéral (LH), ainsi que des inputs GABAergique du tegmentum rostromédian (RTMg).

Système de récompense : VTA et NAcc

Parmi les fonctions nécessaires à un apprentissage, la composante motivationnelle qui dépend à la fois du plaisir ressenti et de la volonté à le trouver, est essentielle. Le système dopaminergique est associé à la sensation de récompense et plaisir mais aussi à la volonté et à l'initiation de l'action (Schultz, 2013).

Les noyaux dopaminergiques

Les neurones dopaminergiques sont regroupés en deux noyaux principaux : la substance noire (SN) et l'aire tegmentale ventrale (VTA). Les fibres dopaminergiques de la SN projettent principalement vers le *neostriatum* (projections nigrostriatales). La VTA projette vers le circuit limbique incluant l'hippocampe, l'amygdale, le noyau accumbens et le tubercule olfactif (système mésolimbique) ; ainsi que vers le néocortex, en particulier le cortex entorhinal et préfrontal médian (système mésocortical) (Miller *et al.*, 1983).

Libération tonique et phasique de la dopamine

La dopamine est libérée en permanence de manière tonique via des conductances intrinsèques *pacemaker* (Kitai *et al.*, 1999). Comme une majorité de régions cérébrales expriment des récepteurs à la dopamine, ce neurotransmetteur module l'activité de nombreuses structures, notamment suivant le cycle veille-sommeil (I-1).

C'est en revanche la libération en bouffée, dite phasique, de la dopamine qui serait liée au codage de la récompense et de l'initiation à l'action (Schultz, 2013). Si un stimulus conditionné (CS) est associé de manière répétée à la récompense, les neurones vont alors décharger au moment du CS, anticipant la récompense (Figure 2.6a). Si celle-ci ne vient pas, la réponse dopaminergique sera diminuée, montrant que l'activité de ces neurones codent à la fois la valence positive associée à une récompense ou à l'attente de celle-ci, et la valence négative associée à la non réception de la récompense lorsqu'elle est attendue, révélant que l'animal possède une représentation interne du délais entre le CS et la récompense (Schultz, 1997).

La dualité de l'action de la dopamine, tonique ou phasique, soutenue par le même réseau de structures cérébrales a rendu difficile l'analyse de ses différents rôles.

Circuit mésolimbique et mésocortical

Les connexions réciproques entre le système dopaminergique VTA-noyau accumbens et le système limbique a un rôle prépondérant dans la valence et la motivation modulant l'apprentissage (Figure 2.6b).

Notamment la dopamine serait également impliquée dans une sorte d'étiquetage des populations neuronales impliquées durant l'apprentissage, qui servirait lors de la consolidation de la mémoire durant le sommeil (Benchenane *et al.*, 2010; McNamara *et al.*, 2014)

Introduction

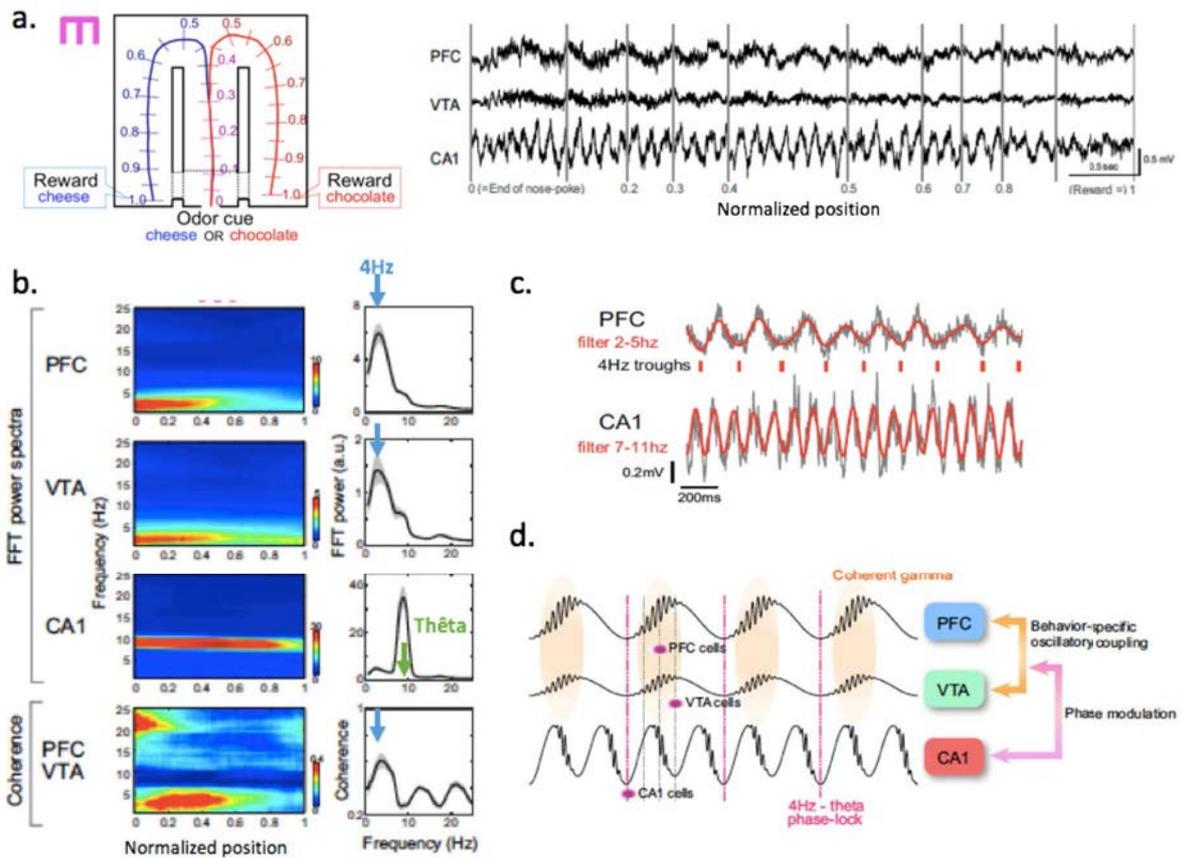


Figure 2.7 : cohérence et communication entre structure (Fujisawa & Buzsáki, 2011)

a- tâche de *matching-to-sample* avec odeurs, où le rat apprend à prédire une récompense à gauche ou à droite en fonction de l'indice donné au début du bras central, à savoir une odeur de chocolat annonce que c'est le bras droit qui est récompensé (avec du chocolat), une odeur de fromage annonce que c'est le bras gauche qui est récompensé (avec du fromage). L'enregistrement simultané d'ensemble de neurone dans le cortex préfrontal (PFC), l'hippocampe (CA1) et l'aire tegmentale ventrale (VTA) permet de corrélérer l'activité cérébrale aux déplacements de l'animal durant la tâche, par rapport à une *tâche contrôle* où seul le bras droit est ouvert. La position au sein du labyrinthe est normalisée entre 0 (départ dans le bras central) et 1 (le point de récompense). b- spectre de puissance en fonction de la position de l'animal (gauche) et spectre moyen (droite) pour les différentes structures. Noter la présence d'une bande à 4Hz pour le PFC et la VTA, et une cohérence entre ces deux structures jusqu'au point de décision. c- exemple de tracé montrant la relation de phase entre le 4Hz du PFC et le θ de l'hippocampe, et d- modèle de ce couplage. Le 4Hz favorise le gamma et la décharge des neurones du PFC et de VTA dans sa phase ascendante ; par un couplage de phase, le θ dans l'hippocampe et le 4Hz organisent conjointement les assemblées cellulaires dans les différentes structures.

Dialogue dans le système limbique

Les structures cérébrales composant le système limbique sont réciproquement connectées. Les oscillations cérébrales enregistrées en LFP dans ces différentes structures nous renseignent sur la façon dont la communication est organisée au sein de ce système et comment elle est modulée par l'apprentissage et les états de vigilance.

Cohérence des rythmes et synchronisation de l'activité neuronale entre structures

La façon dont différentes structures cérébrales communiquent entre elles reste mal comprise. Pourtant c'est l'interaction entre différents réseaux neuronaux qui permet de supporter la trace mnésique associant par exemple un contexte encodé dans l'hippocampe à une récompense encodée dans le système dopaminergique. A l'échelle du cerveau, ces rythmes permettent de créer des assemblées cellulaires transrégionales.

La cohérence entre deux structures autour d'un rythme commun permet l'ouverture d'une fenêtre temporelle à travers laquelle ces deux structures peuvent communiquer. Par exemple le rythme thêta provenant du septum influence l'hippocampe et le préfrontal, laissant à ces deux structures la possibilité de s'activer préférentiellement au « creux » de l'oscillation c'est à dire au moment où les deux structures reçoivent le maximum d'excitation commune. Ce coup de pouce thêta permet aux deux structures de s'activer ensemble.

L'équipe de Buzsáki a montré que la VTA et le cortex préfrontal devenait cohérent transitoirement à 4Hz lorsque l'animal doit retenir en mémoire une odeur afin de prendre la bonne direction pour se rendre vers une récompense (Fujisawa & Buzsáki, 2011). De plus, ce 4Hz correspond à 1 cycle sur 2 du rythme thêta de l'hippocampe (Figure 2.7), favorisant également le dialogue avec cette structure importante pour la mémoire spatiale et la navigation (voir II-3).

Le système limbique et le système de récompense sont étroitement liés. Des connexions réciproques directes entre ces deux systèmes ainsi que l'observation de moment de forte cohérence lors du comportement, suggère que leur collaboration est au cœur de l'encodage et du rappel de la trace mnésique.

Introduction

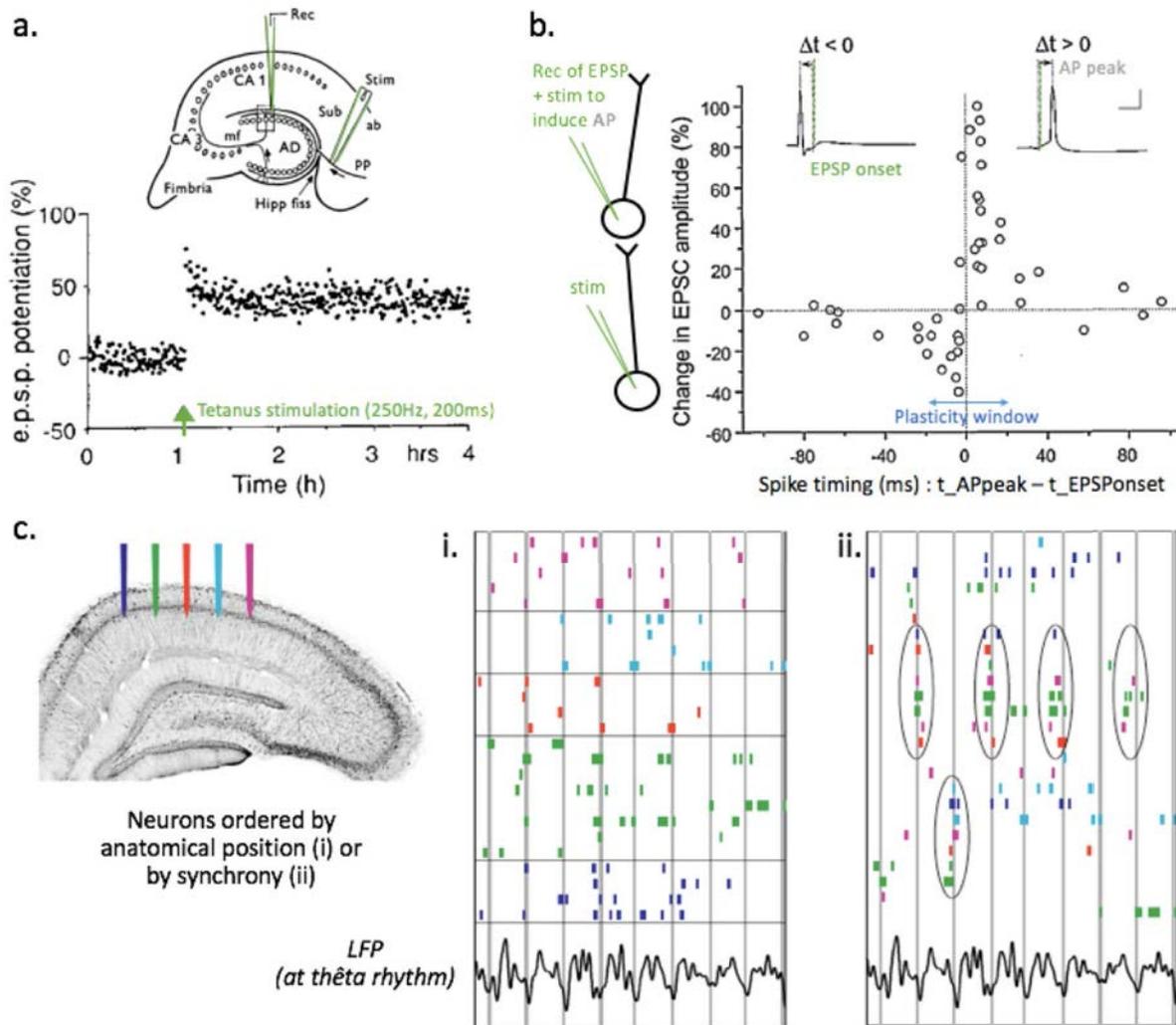


Figure 2.8 : plasticité synaptique et assemblée cellulaire

a- LTP dans l'hippocampe en tranche (Bliss & Collingridge, 1993). Enregistrement du potentiel post-synaptique (EPSP) au niveau du gyrus denté induit par une stimulation unique de la voie perforante (PP), avant et jusqu'à 3h après une stimulation tétaïque. La potentialisation perdure tout le temps de l'enregistrement.

b- fenêtre critique pour la potentialisation ou dépression synaptique (Bi & Poo, 1998). Deux neurones connectés de l'hippocampe en tranche sont patchés simultanément. Dans le neurone POST, un EPSP est induit en stimulant le neurone PRE, et un potentiel d'action (AP) est induit par un courant dépolarisant. La potentialisation ou dépression de la synapse dépend du délai entre l'EPSP et l'initiation du potentiel d'action. Cette plasticité est appelée STDP (spike timing dependent plasticity). Chaque point correspond au changement du courant postsynaptique enregistré 20-30min après la répétition de l'association EPSP-AP (60 pulses à 1Hz).

c. les assemblées cellulaires dans l'hippocampe (Harris *et al.*, 2003). L'enregistrement de cellules pyramidales le long de l'axe médio-latéral dans le champ CA1 de l'hippocampe ne montre pas d'organisation particulière de l'activité. Chaque ligne correspond au raster d'un neurone, la couleur correspond au point d'enregistrement. En revanche la réorganisation des neurones selon leur degré de synchronie montre qu'au sein d'un cycle thêta, certaines sous-populations vont décharger ensemble. Ce pattern va se répéter au cours du temps montrant que cette synchronie n'est pas due au hasard mais bien à une organisation en assemblée cellulaire (cercles).

II-1-c Substrat et manipulation de l'engramme

Nous avons jusque là abordé les structures cérébrales impliquées dans la mémoire et qui supportent l'engramme. Cependant il nous faut parler également du substrat de l'engramme, c'est à dire les modifications qui ont lieu au niveau des neurones et qui changent leur activité, de sorte qu'une empreinte soit laissée.

Le substrat de l'engramme

La plasticité synaptique

Vers 1950, Donald Hebb énonça la proposition suivante : lorsque l'axone d'un neurone A est assez prêt pour exciter un neurone B, et qu'il prend part à la décharge de ce dernier de manière répétée et persistante, alors des processus de croissance ou des changements métaboliques se mettent en place au niveau des neurones A et B, de sorte que, parmi les neurones faisant décharger B, l'efficacité de A est augmentée (Hebb, 1949). Ce principe de plasticité de la force de connexion entre deux neurones énoncé alors, a été démontré de manière expérimentale bien plus tard par Bliss et Lomo. Ces derniers ont montré que la stimulation répétée de la voie perforante de l'hippocampe entraînait une augmentation de la réponse à la dite stimulation (Bliss & Lomo, 1973). Cette potentialisation de la réponse perdure pendant plusieurs heures et fut donc nommée **LTP** (long term potentiation). En revanche, le délai entre le potentiel pré-synaptique du neurone A et le potentiel d'action du neurone B doit être inférieur à 20ms pour induire cette potentialisation, et si l'ordre est inversé, la synapse est affaiblie (Figure 2.8a-b).

Les gènes immédiats précoces

Les modifications de la transmission synaptique induites lors de la LTP sont dépendantes de la synthèse protéique et reposent sur l'activation de gènes immédiats précoces (**IEG Immediate Early Genes**). Les IEG comme le gène *c-fos*, encodent des facteurs de transcription ou encore des protéines impliquées dans la structure ou l'activité de la synapse, ou dans d'autres voies de transduction du signal (Guzowski *et al.*, 2005). Ainsi les IEG sont des marqueurs de l'activité synaptique et permettent donc d'identifier quels neurones ont été activés lors d'un apprentissage.

Les assemblées cellulaires

Un des autres postulats majeurs de Hebb, était que les neurones s'organisaient en **assemblées cellulaires** : des sous-ensembles de neurones sous-tendant la représentation de l'information dans le cerveau. Il précise qu'un neurone peut appartenir à plusieurs assemblées, et que plusieurs assemblées peuvent être activées de manière concomitantes induisant une perception complexes ou une pensée (Hebb, 1949).

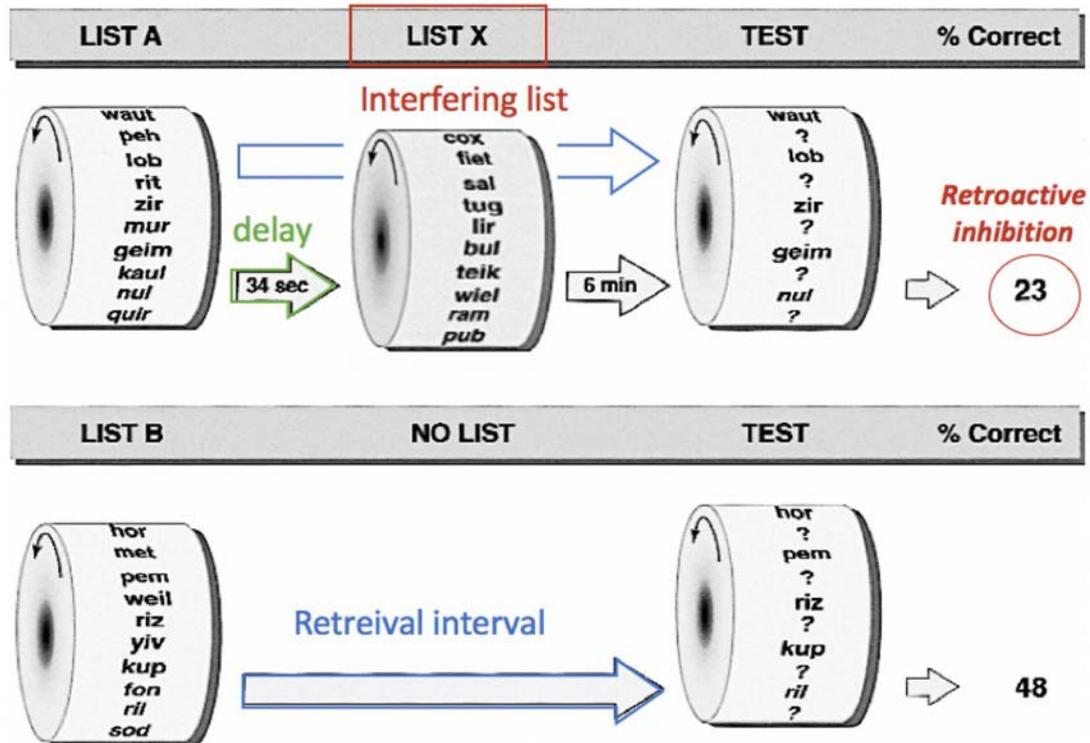


Figure 2.9 : interférence par inhibition rétroactive (Lechner *et al.*, 1999)

Tâche de mémoire déclarative, dans laquelle le sujet doit retenir 12 paires de syllabes. Après 8 présentations de la liste A (*training session* durant environ 1min), le sujet se voit présenter une seconde liste de syllabes (liste X), puis après un intervalle de 6min sa capacité à rappeler les paires de syllabes est testée. La rétention de la première liste est moins bonne que lorsqu'aucune liste interférente n'est présentée avant le test.

Cette hypothèse a depuis été largement confirmée, notamment par la démonstration que les neurones de l'hippocampe s'organisaient en assemblée, de manière transitoire (fenêtre de 10-30ms) et indépendante de la localisation anatomique des neurones (Figure 2.8c) (Harris *et al.*, 2003).

Nous reviendrons sur la notion d'assemblée cellulaire dans le contexte de la mémoire spatiale dans la partie II-3.

Rythmes et assemblées cellulaires

Ainsi la plasticité synaptique ne peut s'établir que lorsque le délai entre l'activation des neurones présynaptiques et postsynaptiques est de moins de 20ms. La formation d'assemblée cellulaire, grâce notamment aux oscillations cérébrales : une activation rythmique qui favorise la décharge neuronale à une phase précise, permettant ainsi d'augmenter les chances que deux neurones déchargent dans cette fenêtre (voir figure 2.7).

Consolidation mnésique

Ainsi la LTP permet de modifier la force des connexions dans un réseau et de créer des assemblées cellulaires supportant un nouvel apprentissage. Mais comment expliquer qu'un souvenir d'enfance ne s'efface pas où que faire du vélo ne s'oublie pas ?

Historique de la consolidation

Dès la fin du XIX^{ème} siècle, Müller et Pilzecker proposent qu'un apprentissage n'induit pas instantanément une mémoire immuable, mais que cette mémoire a besoin de temps pour se fixer, se consolider. La mémoire resterait donc labile, vulnérable aux perturbations, durant une certaine période après l'apprentissage (Lechner *et al.*, 1999).

Cette théorie est basée sur l'observation qu'au cours d'une tâche de mémoire où le sujet doit retenir des listes de syllabe, les performances de rappel sont diminuées lorsqu'un deuxième apprentissage est effectué juste après le premier (Figure 2.9). Ce second apprentissage avait donc interféré avec un processus de stabilisation de la mémoire au cours du temps (Lechner *et al.*, 1999).

Un demi-siècle plus tard, des travaux chez l'animal vinrent confirmer cette interprétation. Après une tâche d'évitement actif, dans laquelle un rat apprend à éviter un stimulus aversif en se déplaçant, des électrochocs transcrâniens furent appliqués à différents délais. Ces chocs induisaient une perte de mémoire 15min après la tâche, mais n'avaient plus aucun effet après 1h, suggérant que durant ce délais, la mémoire s'était consolidée, devenant résistante à un dérèglement ponctuel de l'activité neuronale (Duncan, 1949).

Ainsi la mémoire serait un processus dynamique, avec d'abord un encodage lors de l'apprentissage, puis une consolidation permettant la stabilisation à long terme du souvenir.

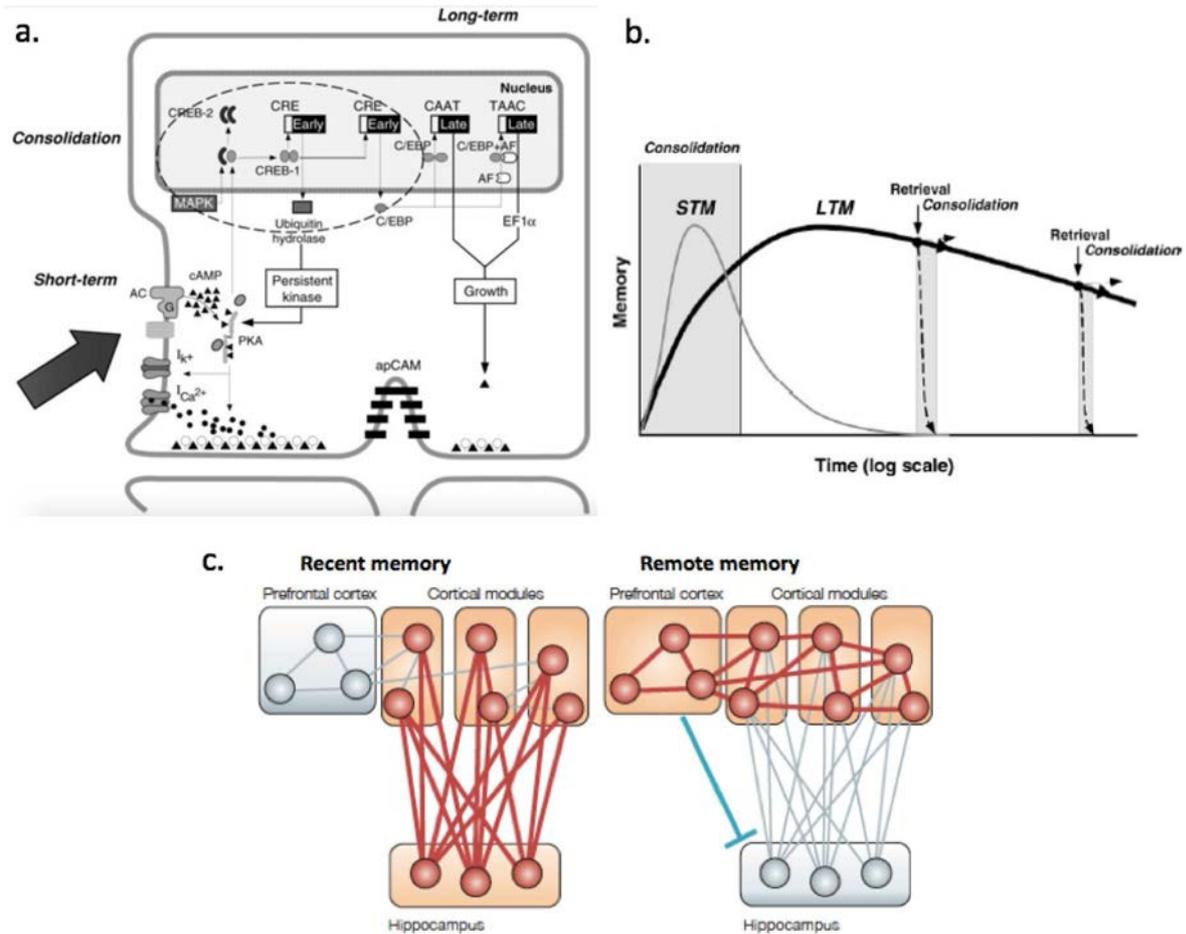


Figure 2.10 : consolidation synaptique et systémique

a-b la consolidation synaptique (Dudai, 2004). a- modèle standard et simplifié de la consolidation synaptique. L'information symbolisée par la flèche, entraîne, via une cascade de transduction du signal modifiant les protéines synaptiques, une modification de l'excitabilité neuronale et du relargage de neurotransmetteur. Ces mêmes voies de signalisation peuvent entraîner des changements à long terme via les IEG. b- modèle de consolidation-reconsolidation. Un souvenir ne serait pas consolidé qu'une seule fois, à chaque nouvel élément venant enrichir la représentation mentale voire à chaque rappel, une fenêtre permissive au changement synaptique serait ré-ouverte.

c- Modèle de la consolidation systémique (Frankland & Bontempi, 2005). Lors de l'encodage, la trace mnésique dépend de l'hippocampe et du cortex limbique et sensoriel, représentant des composantes particulières du souvenir. Lors de la consolidation, la trace mnésique devient indépendante de l'hippocampe, et le cortex préfrontal assure désormais l'intégration des différentes composantes sensorielles et émotionnelles du souvenir. Une inhibition directe ou indirecte permettrait notamment d'éviter la formation d'un nouveau souvenir redondant lors du rappel partiel de la première trace mnésique.

La consolidation synaptique

Une consolidation au niveau cellulaire permet la stabilisation pérenne des changements synaptiques, et favorise ainsi le maintien de la trace mnésique. C'est la **consolidation synaptique**.

La figure 2.10a présente quelques voies de signalisation à l'origine de la stabilisation de l'activité de la synapse (Dudai, 2004). Une fois consolidée, la force de la connexion est telle que la mémoire résiste à différents traitements pharmacologiques ciblant la synapse et aux apprentissages interférents (Frankland & Bontempi, 2005). Le rappel en revanche pourrait entraîner à nouveau de la plasticité et une nouvelle consolidation synaptique (Figure 2.10b).

La consolidation systémique

En plus de cette consolidation synaptique, une consolidation à l'échelle des structures anatomiques a lieu. En effet, une des particularités de l'amnésie du patient HM citées précédemment, est qu'elle était non seulement antérograde, empêchant la formation de nouveaux souvenirs, mais aussi rétrograde sur quelques années avant l'intervention. Ses souvenirs d'enfance étaient intacts mais plus les souvenirs étaient proches de l'opération, plus ils étaient affectés. Ainsi un processus de **consolidation systémique** des souvenirs avait lieu, les rendant progressivement indépendant de l'hippocampe (Scoville & Milner, 1957), et confirmant des observations plus anciennes.

Des modèles chez l'animal ont également permis de détailler ce processus. La figure 2.4c présentée plus haut, montre que les lésions de l'hippocampe ont un effet sur le conditionnement de peur contextuel uniquement lorsqu'elles ont lieu moins de 3 semaines après l'apprentissage (Kim & Fanselow, 1992).

L'hypothèse du Two-process model formulée par Marr en 1971, suggère que l'encodage rapide de la mémoire se fait grâce à un système très plastique : l'hippocampe ; puis la mémoire serait transférée à un autre système moins plastique qui permet sa stabilisation à long terme, mais qui apprend plus lentement (Marr, 1971).

L'ensemble des résultats obtenus depuis indiquent que l'hippocampe se désengage progressivement de la responsabilité de l'engramme, transférant la trace mnésique au niveau cortical (Figure 2.10c) (Frankland & Bontempi, 2005).

Introduction

i.

	labeled neurons	inducible system	receptor /ligand	effect	brain area	pre-labeling induction	HABITUATION		FEAR CONDITIONING		MEMORY RECALL		BEHAVIORAL OUTPUT	
							context	manipulation	context	manipulation	context	manipulation		
Han et al. 2009	CREB	injected Cre-lox	DTR/DT	apoptosis	lateral amygdala	3 days	no	B	labeling	B	control	60%	freezing	
											post-apoptosis	30% ↓	freezing	
Garner et al. 2012	c-fos	Dox	HM3Dq/CNO	depolarization	whole brain	>1 day	A	labeling	B	-	B	-	60%	freezing
											activation	20% ↓	freezing	
											A	-	0%	freezing
											activation	10% ⇔	freezing	
											B	-	10%	freezing
											activation	25% ↑	freezing	
											A	-	10%	freezing
											activation	10% ⇔	freezing	
Liu et al. 2012	c-fos	Dox	Chr2 / blue light	depolarization	Dentate Gyrus	48h	A	-	B	labeling	A	-	5%	freezing
											activation	35% ↑	freezing	
											B	-	5%	freezing
											activation	30% ↑	freezing	
Ramirez et al. 2013	c-fos	Dox	Chr2 / blue light	depolarization	CA1	48h	A	labeling	B	-	A	-	5%	freezing
											activation	5% ⇔	freezing	
											B	-	5%	freezing
					Dentate Gyrus	48h	A	labeling	B	-	B	-	70%	freezing
											activation	50% ↓	freezing	
											B	-	30%	freezing
activation	50% ↑	freezing												
Redondo et al. 2014	c-fos	Dox	Chr2 / blue light	depolarization	Dentate Gyrus	48h	A	-	B	labeling	A	-	-10	PA
					activation	-30 ↑	PA							
					Baso-lateral amygdala	48h	A	-	B	labeling	A	-	-10	PA
activation	-30 ↑	PA												
Cowansage et al. 2014	c-fos	Dox	ChEF / blue light	depolarization	Retro-Splenial cortex	48h	no	B	labeling	A	activation	★ 30% ↑	freezing	
							B	labeling	B	-	C	activation	20% ↑	freezing
							A	labeling	B	-	C	activation	5%	freezing
Tanaka et al. 2014	c-fos	Dox	ArchT / light	silencing	CA1	48h	no	B	labeling	B	-	50%	freezing	
inhibition	20% ↓	freezing												

↑ increased Recall of memory
↓ decreased Recall of memory
⇔ no change

ii.

	labeled neurons	inducible system	receptor /ligand	effect	brain area	pre-labeling induction	HABITUATION		APPETITIVE LEARNING		MEMORY RECALL		BEHAVIORAL OUTPUT	
							context	manipulation	context stimuli	manipulation	context	manipulation		
Redondo et al. 2014	c-fos	Dox	Chr2 / blue light	depolarization	Dentate Gyrus	48h	A	-	B female exposure	labeling	A	-	+5	PP
					activation	+25 ↑	PP							
					Baso-lateral amygdala	48h	A	-	B female exposure	labeling	A	-	+5	PP
					activation	+25 ↑	PP							
de Lavilleon et al. 2015	one place cell		place cell spiking activity triggered rewarding stimulation		CA1	pairing during 1h of sleep	A	-	home cage SLEEP	place cell spike detection paired to MFB stimulation	A	-	x5 ↑	PP toward related place field

Table 1 : expérience de marquage et manipulation de l'engramme

i-ii Expériences marquant par des méthodes pharmacologiques ou optogénétiques la population de neurones activée dans un apprentissage aversif (i) ou appétitif (ii). La réactivation de ces neurones est alors induite dans un autre contexte et la réponse comportementale est observée. Evitement passif (AP), préférence de place (PP).

Table réalisée avec l'aide de Gaetan de Lavilléon.

Manipulation de l'engramme

Il est donc possible d'identifier les populations de neurones impliquées dans un apprentissage grâce aux marqueurs comme les IEG, mais est-il possible de les manipuler ? En effet ces neurones s'activent au moment de la formation de la mémoire, mais sont-ils nécessaires au maintien de celle-ci ? et sont-ils suffisants pour rappeler le souvenir ? Ces deux critères doivent être remplis pour démontrer qu'une population neuronale sous-tend l'engramme de façon **causale** (Mayford, 2014).

Plusieurs études récentes ont commencé à répondre à ces questions, notamment le développement de l'**optogénétique** a offert les outils permettant la manipulation sélective des neurones impliqués dans l'apprentissage.

Ces expériences sont résumées dans la Table 1-i. Elles utilisent toutes une tâche de conditionnement de peur, soit en version indicée dans laquelle l'apprentissage est indépendant de l'hippocampe, soit en version contexte où l'apprentissage dépend de l'hippocampe et repose supposément sur une représentation mentale du lieu.

Suppression de l'engramme

Une première expérience de manipulation de la trace mnésique consista à détruire par apoptose les neurones de l'amygdale activés lors du conditionnement indicé (Han *et al.*, 2009). La réaction de peur de l'animal (freezing) était alors largement diminuée par rapport au contrôle. Cette expérience montre donc que ces neurones sont nécessaires au maintien de la mémoire, et donc que la trace mnésique repose sur ces neurones, au moins en partie. Mais sont-ils suffisants au rappel du souvenir ?

Activation non sélective de l'engramme

Les premières expériences de rappel artificiel d'un souvenir remontent aux années 1950, lorsque Penfield et Perot observèrent que certains patients épileptiques au niveau du lobe temporal revoyaient un moment vécu lors de leurs crises. La stimulation intracrânienne de certaines zones autour du foyer épileptique, ravivait également d'autres souvenirs chez ces patients (Penfield & Perot, 1963). Ainsi la stimulation électrique d'une zone particulière du cerveau déclenchait-elle un souvenir. L'épilepsie, tout comme la stimulation électrique, était donc capable de raviver l'engramme, mais sans forcément activer directement et suffisamment l'ensemble des assemblées neuronales impliquées. En effet, la réactivation du souvenir pourrait être favorisée par les connexions réciproques entre les structures et assemblées impliquées, de sorte que si une partie est activée, l'ensemble s'active alors (Gloor, 1990). C'est le principe de **pattern completion**.

Introduction

Marquage et activation de l'engramme

Utilisant une tâche de conditionnement de peur contextuel, plusieurs groupes ont pu marquer les neurones activés soit par l'association choc électrique – contexte (Garner *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2012), soit par le contexte uniquement (Garner *et al.*, 2012; Ramirez *et al.*, 2013), et mettre en évidence que leur activation par optogénétique ou pharmacogénétique dans un tout autre contexte, induisait du freezing (Table 1).

L'optogénétique offre l'avantage de pouvoir restreindre spatialement l'activation de la population neuronale marquée. Ainsi, ces dernières expériences permettent-elles de cartographier les structures pour lesquelles un rappel mnésique est observé lors de l'activation de cette population neuronale marquée. Un élément important est que la région CA1 de l'hippocampe contenant les cellules de lieu ne permet pas la réactivation de l'engramme. En reprenant les propos de Gloor, il est possible d'expliquer ce phénomène de disparité entre les structures, en considérant que la connexion entre les structures impliquées permet, ou non, le *pattern completion* (Gloor, 1990).

Lors d'un apprentissage, la trace mnésique est encodée dans le cerveau grâce à la plasticité synaptique, permettant de modifier la force des connexions dans le réseau neuronal de manière temporaire. La stabilisation de la mémoire est assurée par un processus de consolidation qui rend cette trace mnésique résistante à l'interférence induite par d'autres apprentissages et à un dérèglement ponctuel du réseau.

La compréhension des mécanismes impliqués dans l'encodage et la consolidation à l'échelle cellulaire, ainsi que le développement d'outil pharmacologiques et optogénétiques permettant un contrôle de l'activité neuronale, permettent aujourd'hui d'interroger la localisation de l'engramme et la dynamique de son expression.

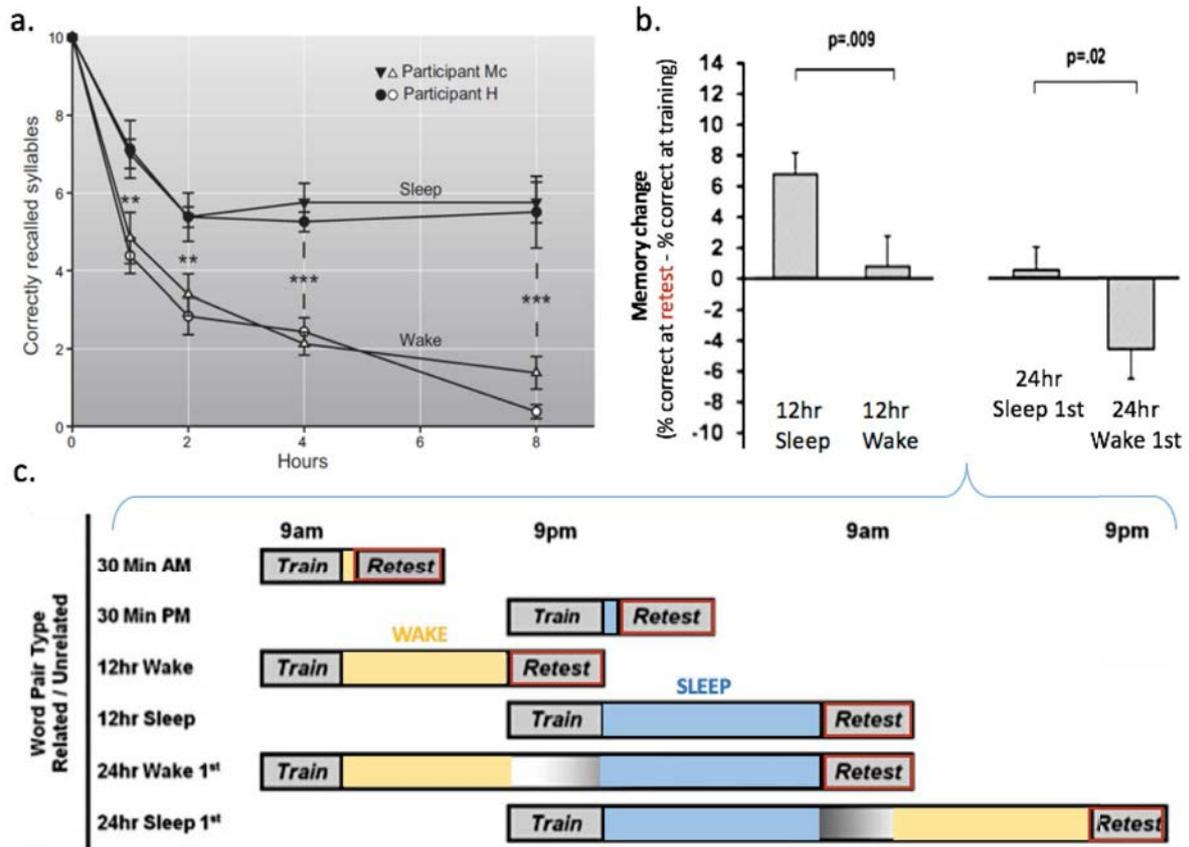


Figure 2.12 : le rôle du sommeil dans la consolidation mnésique

a- Influence du sommeil sur les performances dans une tâche de mémoire déclarative (Jenkins & Dallenbach, 1924; Rasch & Born, 2013). Performance de rappel en fonction de l'intervalle de temps entre l'apprentissage et le test (1h, 2h, 4h, et 8h) pour les 2 sujets inclus dans l'expérience (2mois au laboratoire), lorsque ceux-ci dorment où restent éveillés durant cet intervalle. Noter la nette amélioration pour la condition sommeil par rapport à la condition éveil pour tous les délais. Noter également que toutes les performances de rappel sont en-dessous de la performance à la fin du test où le sujet rappelle correctement l'ensemble des 10 syllabes à mémoriser.

b-c performance dans un test de mémoire déclarative où le sujet doit retenir des paires de mots (Payne *et al.*, 2012). L'intervalle entre l'apprentissage et le rappel est de 30min, 12h ou 24h, l'apprentissage ayant lieu le matin ou le soir (c) afin de contrôler un éventuel effet du rythme circadien. Les performances sont meilleures après une période de sommeil, qu'après une période d'éveil (condition 12h), et sont également meilleures lorsque le sommeil advient tout de suite après l'apprentissage (condition 24h). Les performances étaient égales pour la condition de test après 30min, que l'apprentissage soit réalisé en début ou fin de journée, excluant un effet de l'heure (Data non montrées).

II-2 Le rôle du sommeil dans la mémoire

Le sommeil est présent dans tout le règne animal et ses fonctions essentielles, bien qu'encore mal comprises aujourd'hui, concernent à la fois le métabolisme, l'immunité, ainsi que les fonctions cognitives. Le constat de l'importance du sommeil dans les processus mnésiques date de près d'un siècle, et il est intéressant ici de rappeler quels mécanismes sous-tendent ce phénomène.

II-2-a Historique du rôle mnésique du sommeil

Rôle bénéfique du sommeil pour l'apprentissage

Une stabilisation passive

Dès le début du XXème siècle, le lien entre sommeil et mémoire fut étudié en laboratoire. Dans une tâche similaire à celle présentée en Figure 2.12a dans laquelle le sujet doit retenir des listes de syllabes, les performances étaient meilleures si le sujet dormait durant l'intervalle de rappel comparé à s'il ne dormait pas (Jenkins & Dallenbach, 1924). Ainsi la stabilisation de la mémoire au cours du temps était-elle améliorée par le sommeil. Les auteurs conclurent alors que le sommeil constituait un bénéfice passif pour l'apprentissage puisqu'il évitait simplement les interférences perturbant la consolidation mnésique.

Un processus actif

Mais les études qui ont suivi ont montré que le sommeil ne bénéficiait pas à la mémoire uniquement de manière passive. Notamment, l'équipe de Stickgold a observé que la mémoire de liste de mots était améliorée si le sujet dormait juste après l'apprentissage, par rapport à si le sommeil advenait plus tard (Figure 2.12b). De plus cette amélioration ne concernait que les paires de mots dont le contenu sémantique était lié, indiquant que le maintien des performances par le sommeil ne s'applique pas passivement à tous les apprentissages (Payne *et al.*, 2012).

Le sommeil a un effet bénéfique sur l'apprentissage à la fois déclaratif et non déclaratif. Cet effet bénéfique du sommeil est visible même pour une courte sieste, mais il est maximal pour une nuit entière de sommeil. Concernant la mémoire émotionnelle, les effets sont visibles même après 4ans (Wagner *et al.*, 2006)

En revanche, lors d'une tâche mesurant le temps de réaction, l'amélioration des performances liée au sommeil est plus importante lorsque l'apprentissage est explicite, la règle étant énoncée, que implicite (Robertson *et al.*, 2004). Ces résultats suggèrent qu'un encodage explicite favorise la consolidation mnésique liée au sommeil.

Introduction

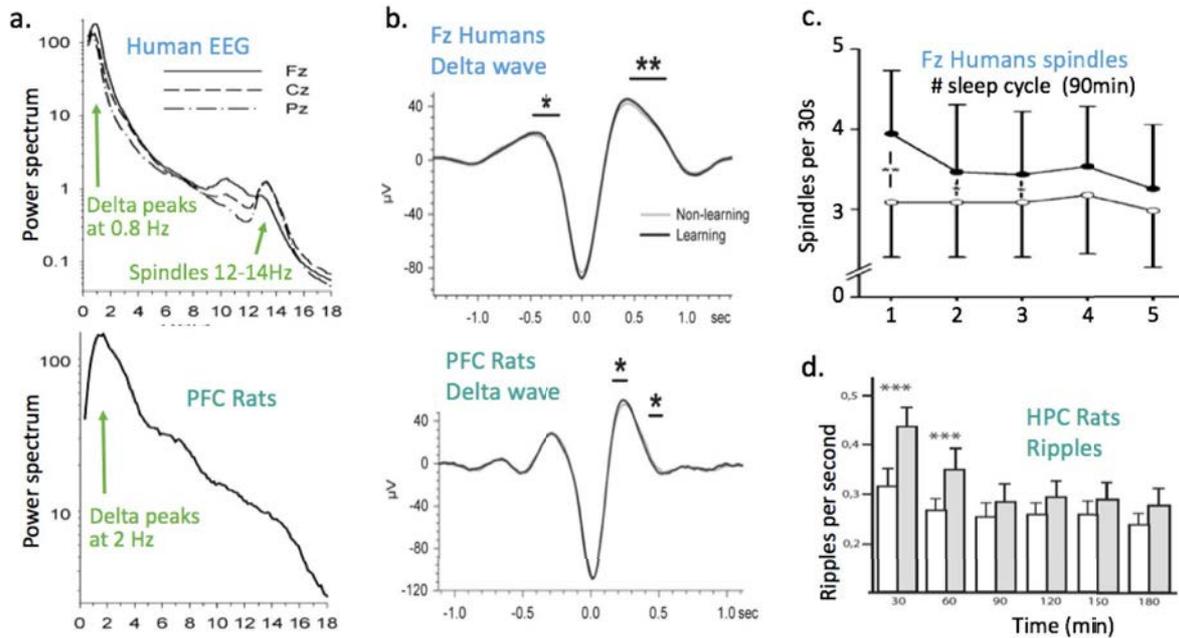


Figure 2.13 : l'effet de l'apprentissage sur les oscillations du sommeil

a-b (Mölle *et al.*, 2009). a- spectre de puissance enregistrées durant la 1^{ère} heure de sommeil chez l'homme et chez le rat. Noter la présence d'un pic correspondant aux ondes lentes sur les deux spectres moyens, mais pas de pic pour les spindles chez le rongeur. b- *haut* augmentation de l'amplitude des ondes delta après un apprentissage de type déclaratif où les sujets doivent retenir des paires de mots, comparé à une condition de non apprentissage où les sujets doivent compter le nombre de lettres incurvées dans ces mêmes mots. Noter la différence faible néanmoins significative. *bas* augmentation de l'amplitude des ondes delta chez le rongeur après une tâche d'association entre odeur et lieu, comparée à aucune apprentissage.

c- augmentation du nombre de spindles chez l'homme à la suite d'un apprentissage de paires de mot (ronds noirs) identique à la tâche présentée en b., par rapport à la condition contrôle (ronds blancs) (Gais *et al.*, 2002)

d- augmentation du nombre de ripples du sommeil chez le rat après un apprentissage de la même tâche d'association lieu-odeur (gris) comparé à aucune tâche (Eschenko *et al.*, 2008).

Les effets de la privation de sommeil

Les conséquences de la privation de sommeil sur la mémoire peuvent être étudiées avec 2 types de privation : privation totale de sommeil ou une privation de sommeil REM uniquement en réveillant l'individu à la fin de chaque cycle avant qu'il ne commence cette phase de sommeil. On étudie ainsi l'effet différentiel de ces privations dans des tâches impliquant différents types de mémoire, implicite ou explicite.

Dualité ou séquentialité de la consolidation

Certaines études montrent que la privation spécifique de REM impacte la mémoire de type implicite, et ne perturbe pas la mémoire déclarative. Inversement de courtes siestes, composée exclusivement de NREM, bénéficient à la mémoire déclarative spécifiquement. Ainsi selon l'hypothèse de la dualité de la consolidation, le NREM serait impliqué dans la consolidation de la mémoire de type déclaratif, alors que le REM servirait à la consolidation mnésique de type non-déclaratif (Rasch & Born, 2013).

La théorie de la consolidation mnésique en séquence propose en revanche que ce ne serait pas un stade ou un autre qui serait important mais l'enchaînement de NREM puis REM qui permettrait la consolidation de la mémoire (Rasch & Born, 2013).

Les études chez l'animal

Il est possible chez le rongeur de faire des privations sélectives de REM, en le plaçant sur une petite plateforme entourée d'eau : n'y tenant pas allongé, il peut s'endormir mais lorsque l'atonie musculaire caractéristique du REM apparaît, l'animal tombe dans l'eau et se réveille instantanément. De telles privations perturbent le conditionnement de peur indicé indépendant de l'hippocampe mais ne modifie pas le conditionnement de peur contextuel qui dépend de l'hippocampe (Silvestri, 2005), renforçant ainsi la dualité observée chez l'homme. Cependant d'autres études trouvent des résultats opposés, notamment la tâche de piscine de Morris dépendant de l'hippocampe serait affectée par la privation de REM, alors que cette même tâche en version indicée ne l'est pas (Smith & Rose, 1996). Les études de privations de sommeil sont difficiles à interpréter car le réveil forcé induit une composante de stress et fragmente également le NREM.

Modification du sommeil par l'apprentissage

Ainsi le sommeil aurait un rôle crucial dans la consolidation de la mémoire. Afin de comprendre les mécanismes impliqués dans ce processus, une première approche est d'observer le sommeil à la suite d'un apprentissage (Figure 2.13). Tout d'abord, des tâches de mémoire induisent une augmentation de la durée de REM dans les heures de sommeil qui suivent (Smith & Lapp, 1991).

Introduction

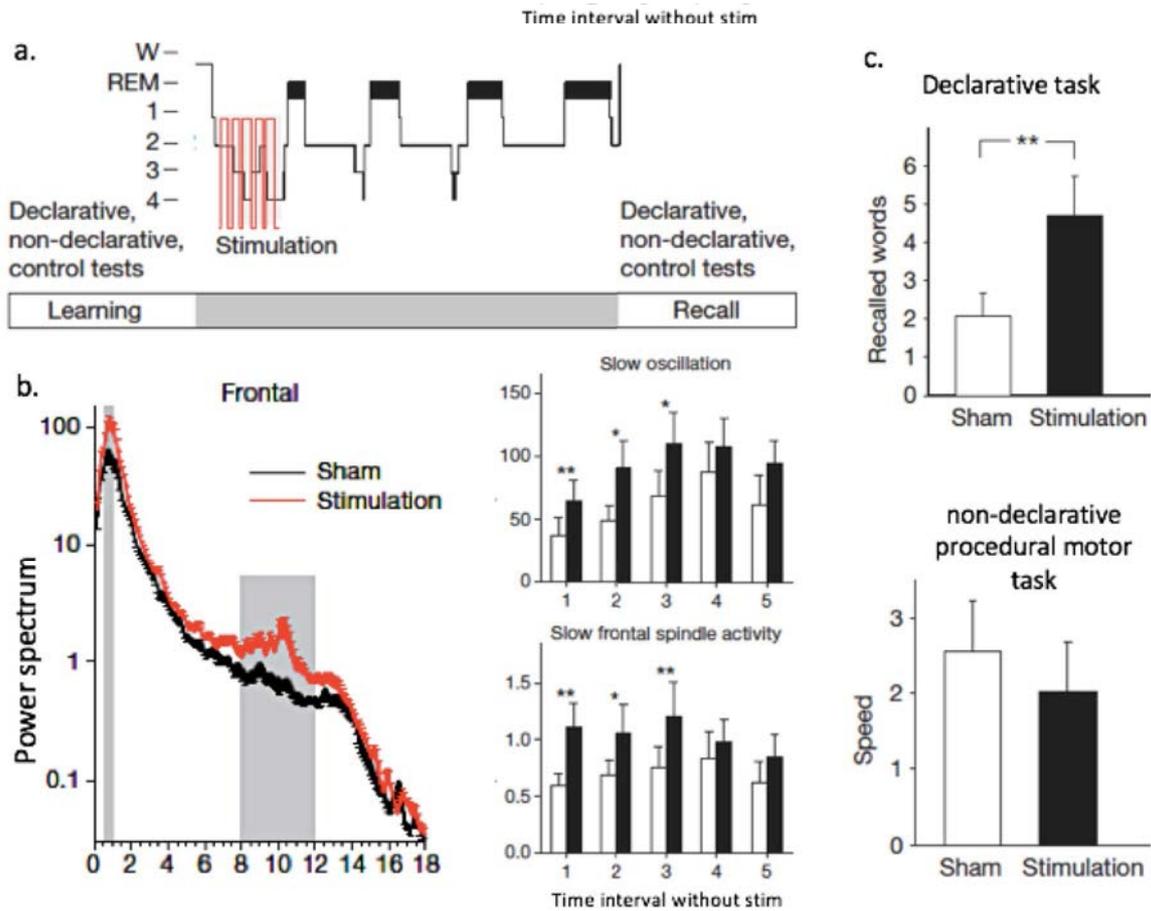


Figure 2.14 : amélioration de la mémoire par augmentation artificielle des ondes delta durant le sommeil (Marshall *et al.*, 2006)

a- déroulement de l'expérience. Hypnogramme des sujets (NREM 1 à 4) avec les stimulations électriques transcrâniennes survenant durant le premier cycle de sommeil. Les sujets apprennent une tâche déclarative (46 paires de mots) et une tâche motrice (séquence à taper sur clavier). b- augmentation de la puissance spectrale dans la bande des oscillations lentes et des spindles avec les stimulations. Noter que cette augmentation persiste durant les périodes entre les stimulations. c- performance au réveil dans les tâches de mémoire déclarative (haut) et motrice (bas). La performance est exprimée comme la différence entre la session de rappel et la session d'apprentissage.

Aussi, des apprentissages dépendant de l'hippocampe chez le rongeur entraînent une augmentation de l'amplitude des ondes delta (Mölle *et al.*, 2009), et de l'occurrence des spindles et des ripples (Eschenko *et al.*, 2008) durant le NREM suivant l'apprentissage. Les mêmes changements sur les ondes delta (Mölle *et al.*, 2009) et les spindles (Gais *et al.*, 2002) enregistrées en EEG au niveau frontal, ainsi que sur les ripples chez des patients épileptiques implantés (Axmacher *et al.*, 2008) ont également été observés chez l'homme. Il faut cependant noter que cette augmentation est également observée pour des tâches de mémoire implicite, remettant éventuellement en cause l'hypothèse de la dualité de la consolidation mnésique mais surtout plaidant pour des mécanismes locaux de consolidation mnésique (Nishida & Walker, 2007).

L'augmentation des spindles est de plus corrélée aux performances subséquentes : plus l'augmentation est importante, meilleures sont les performances (Clemens *et al.*, 2005).

Des modifications des rythmes du sommeil sont donc corrélés à la consolidation de la mémoire et les mécanismes semblent conservés entre l'homme et l'animal. Mais ces modifications ont-elles un rôle fonctionnel dans la consolidation ?

Causalité entre les rythmes et la consolidation mnésique

Afin de répondre à cette question, l'équipe de Born a montré qu'augmenter artificiellement l'amplitude des deltas par des stimulations intracrâniennes durant 1h suivant une tâche de mémoire de type déclaratif suffit à améliorer les performances (Marshall *et al.*, 2006). Cette augmentation artificielle des ondes lentes est accompagnée d'une augmentation du nombre de spindles, suggérant que ces rythmes sont étroitement liés et que l'amélioration de la mémoire serait due à l'ensemble de ces mécanismes (Figure 2.14).

Le sommeil est donc important pour la consolidation de la mémoire. L'apprentissage de type déclaratif entraîne une augmentation des rythmes spécifiques du NREM. Notamment l'augmentation des ondes delta et des spindles est corrélée positivement avec les performances de rappel. De plus, l'augmentation artificielle des ondes delta suffit à améliorer les performances suggérant que la consolidation mnésique est un processus actif en lien avec les rythmes du sommeil.

Introduction

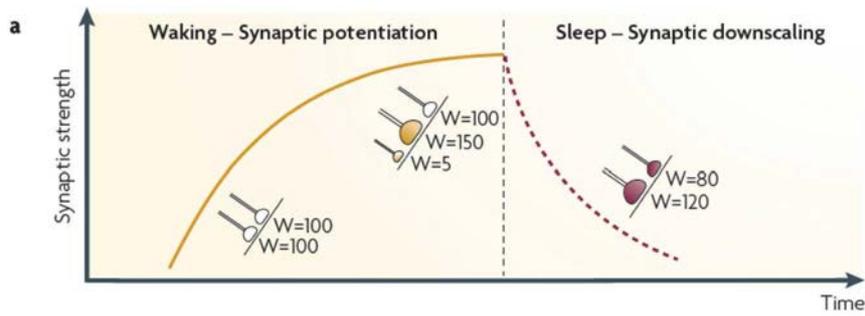


Figure 2.15 : homéostasie synaptique (Diekelmann & Born, 2010)

L'activité neuronale de l'éveil serait associée à une potentialisation des synapses, aboutissant ainsi à des poids synaptiques élevés particulièrement au niveau des neurones recrutés durant l'éveil. Le sommeil servirait alors à diminuer l'ensemble des poids synaptiques pour économiser de l'énergie, tout en conservant le rapport entre les poids induits par l'apprentissage de l'éveil.

II-2-b Homéostasie synaptique durant le sommeil

La consolidation mnésique est donc corrélée aux rythmes delta et aux spindles qui ont un rôle fonctionnel dans cette consolidation. Comment expliquer l'effet bénéfique de ces rythmes sur la trace mnésique ? en quoi consiste les ondes delta et quelles conséquences ce rythme a sur le traitement de l'information par le cerveau durant le sommeil ?

Selon l'hypothèse de l'homéostasie synaptique développée par Guilo Tononi et Chiara Cirelli (Tononi & Cirelli, 2006), le sommeil serait important pour diminuer le poids des synapses pendant le sommeil. En effet, la mémoire est supposée se former dans le cerveau par la modification de l'efficacité ou du poids des synapses qui permettent aux neurones de communiquer entre eux.

Lors de l'apprentissage, le poids des synapses importantes ou impliquées dans cet apprentissage est augmenté alors que celui des autres synapses reste inchangé voire diminué (dépression synaptique). Or, la communication synaptique consomme une grande partie de l'énergie nécessaire au fonctionnement du cerveau ; l'apprentissage et la mémorisation pendant l'éveil s'accompagnent donc d'une forte augmentation de la consommation énergétique.

Le sommeil, en diminuant le poids des synapses permettrait, par conséquent, de réaliser de fortes économies d'énergie. Cette théorie très élégante permet ainsi de relier à la fois mémoire et apprentissage, ainsi que l'effet bénéfique du sommeil dans la récupération physique.

Introduction

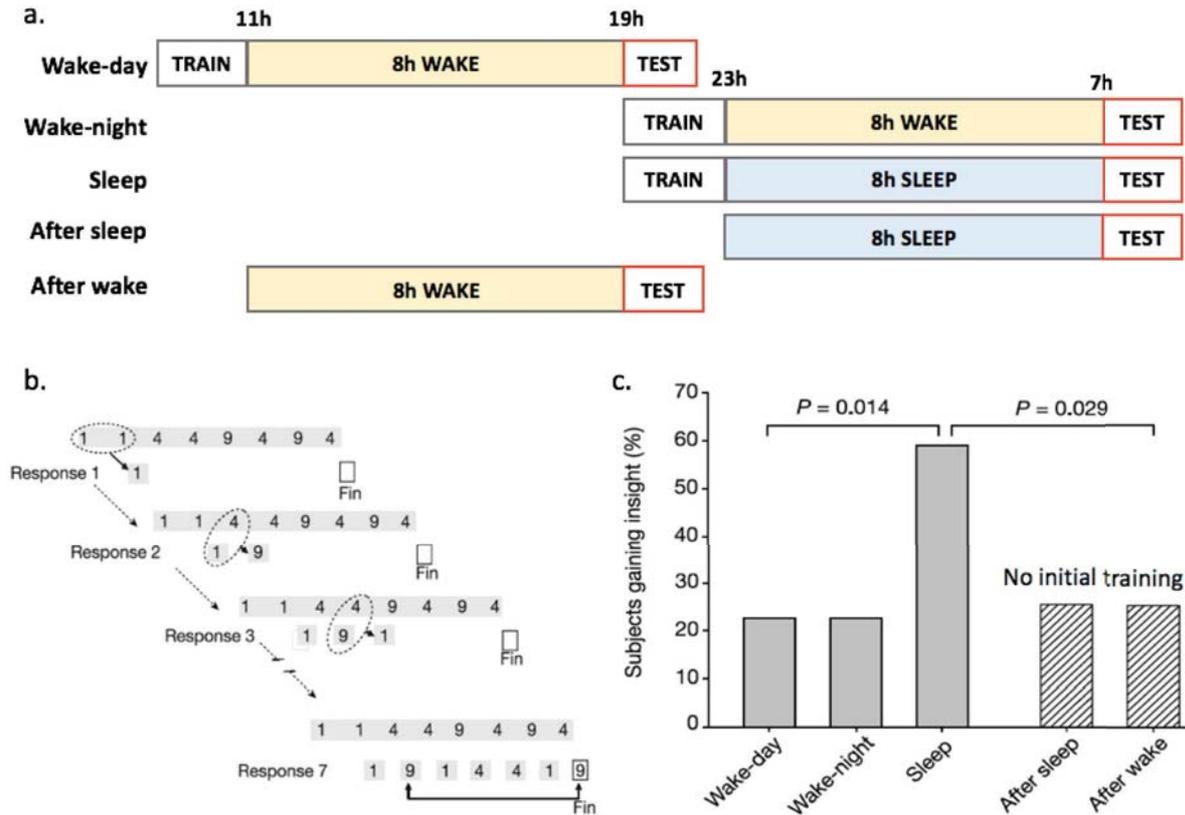


Figure 2.18 : restructuration de la mémoire par le sommeil (Wagner *et al.*, 2004)

a- paradigme expérimental pour les 5 groupes de sujets testés dans la tâche de réduction de nombre (NRT) présentée en b.

b- Exemple d'un essai dans la NRT. Chaque séquence est composée de 8 chiffres pouvant être 1, 4 ou 9. Le sujet doit alors donner un chiffre comme solution finale (Fin). Le résultat pour 2 chiffres identiques est ce même chiffre (réponse 1), alors que pour 2 chiffres différents la réponse est le 3^{ème} chiffre (réponse 2 et 3). La comparaison doit se faire entre les 2 premiers chiffres de la séquence initiale (réponse 1), puis entre le chiffre suivant et le chiffre fin trouvé (réponse 2 et 3). Seul le tout dernier chiffre de la séquence finale doit être validé par le sujet pour passer à la session suivante. Les séquences étaient réalisées de telle sorte que les 3 derniers chiffres de la séquence finales sont en miroir des 3 précédents de sorte que le sujet connaissant cette règle cachée n'a besoin que des 2 premiers chiffres finaux pour donner le dernier chiffre (flèche).

c- Trois fois plus de sujets trouvaient la règle cachée dans la condition de sommeil par rapport aux conditions d'éveil. Ce gain de connaissance n'est pas simplement du au fait de tester la mémoire le matin mais est bien spécifique à une consolidation/restructuration de la mémoire puisque les sujets n'ayant pas appris la tâche la veille sont comme les autres contrôles.

II-2-c Apprentissage durant le sommeil

Le sommeil a un rôle dans la consolidation de la mémoire mais de nouveaux apprentissages pourraient-ils se mettre en place dans le cerveau endormi ? Le fait que le sommeil favorise parfois l'émergence d'idée nouvelle (insights) et que l'on se souvient de ses rêves, soutiennent l'idée que l'activité cérébrale reste plastique durant le sommeil, et nous allons ici rapporter les différentes expériences discutant de cette possibilité.

Le sommeil et l'insight

L'histoire de l'art et l'histoire des sciences sont remplies d'anecdotes rapportant des *insights*, l'émergence d'idée nouvelle et créative, au sortir du sommeil (Mazzarello, 2000). Le sommeil serait-il capable alors de modifier la mémoire ?

Quand la nuit porte conseil

Le sommeil a non seulement un rôle bénéfique sur la mémoire en terme quantitatif, en assurant de meilleures performances, mais également en terme qualitatif dans certaines conditions. En effet, le sommeil peut notamment modifier la mémoire de sorte qu'une règle cachée, inconsciente à l'individu, peut être comprise au réveil (Figure 2.18). Ces résultats suggèrent que la restructuration de la trace mnésique durant le sommeil, facilite l'extraction de connaissance explicite à partir d'apprentissages implicites (Wagner *et al.*, 2004).

Création d'une nouvelle mémoire pendant le sommeil

La possibilité de la restructuration de la mémoire suggère une certaine plasticité maintenue durant le sommeil. Serait-il alors possible de créer de nouveaux souvenirs ?

Apprentissages durant l'anesthésie

Une expérience de conditionnement de peur (son-choc électrique) chez le rat anesthésié, ne permet pas la mémorisation; mais si une injection d'adrénaline est associée au conditionnement, l'animal manifeste bien la peur en réponse au son conditionné, 10 jours après son réveil de l'anesthésie (Weinberger *et al.*, 1984). Cette expérience suggère que les taux faibles d'adrénaline durant l'anesthésie et le sommeil NREM, ne sont pas permissifs à l'apprentissage.

Cependant quelques expériences ont depuis montré qu'il était possible de créer de nouveaux apprentissages durant le sommeil, notamment chez l'homme.

Conditionnement durant le REM

Un protocole de conditionnement chez le rat, utilisant des stimulations intracrâniennes comme stimulus conditionné (CS) et inconditionné (US), ce dernier stimulus induisant une réponse des neurones de l'hippocampe, ne permet l'apprentissage que lorsqu'il est effectué dans l'éveil ou le

Introduction

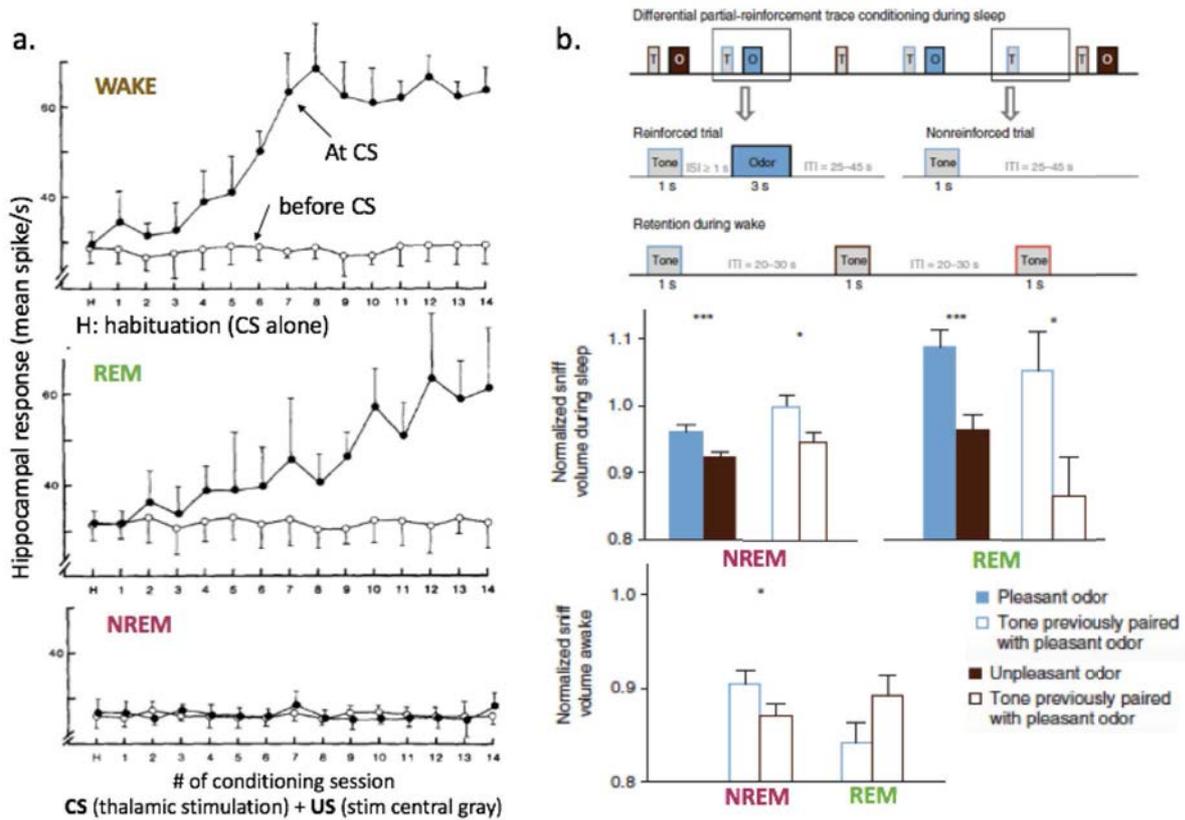


Figure 2.19 : apprentissage et plasticité synaptique durant le sommeil

a- conditionnement pavlovien par stimulation intracrânienne, comparaison entre éveil REM et NREM (Hennevin *et al.*, 1995). La stimulation de la matière grise centrale (US) induit une réponse neuronale dans l'hippocampe, les neurones augmentant leurs taux de décharge. Après chaque session de conditionnement associant l'US à une stimulation thalamique (CS), la réponse de l'hippocampe avant et pendant le CS est mesurée. Aucune modification de l'activité de l'hippocampe n'est mesurée lorsque le conditionnement est réalisé durant le NREM.

b- apprentissage durant le sommeil chez l'homme (Arzi *et al.*, 2012). La présentation d'une odeur plaisante (bleu plein) induit une augmentation naturelle du sniff durant le sommeil REM et NREM, alors qu'une odeur déplaisante (noir plein) diminue cette réaction. L'association répétée entre un son et une des odeurs durant le REM ou le NREM entraîne un conditionnement, les sujets augmentant alors leur sniff en réponse au son associé à l'odeur plaisante (cadre bleu), la diminuant à l'autre son (cadre noir). La rétention du conditionnement est cependant significativement maintenue uniquement lorsque celui-ci a lieu durant le NREM.

REM, mais pas le NREM (Figure 2.19a). Ces résultats suggèrent que le REM autorise une plasticité synaptique, absente durant le NREM (Hennevin *et al.*, 1995).

Apprentissages durant le NREM chez l'homme

Malgré ces premières analyses, une expérience récente a montré que l'association d'un son à une odeur durant le NREM, induisait bien une réponse conditionnée maintenue au réveil (Figure 2.19b), montrant que l'apprentissage durant le NREM est également possible (Arzi *et al.*, 2012).

L'ensemble de ces études suggèrent que des apprentissages peuvent avoir lieu durant le sommeil, mais sous certaines conditions. Notamment, la mémoire induite ici est surtout de type implicite car il s'agit de conditionnement simple, voire de réponse réflexe (voir classification Figure 2.2). La possibilité de créer une nouvelle mémoire complexe durant le sommeil restait encore en suspens. Je décrirais dans ma thèse l'expérience qui a permis de montrer pour la première fois qu'il serait possible de créer une nouvelle mémoire de type explicite durant le sommeil.

Plasticité durant le sommeil

La démonstration que certains apprentissages peuvent avoir lieu durant le sommeil suggère que le cerveau reste permissif à la formation de nouvelle mémoire durant le sommeil. La LTP est-elle donc possible durant le sommeil et sous quelles conditions ?

LTP ou LTD, expérience in vitro

La stimulation de tranches de néocortex induisant un état proche du sommeil à ondes lentes, entraîne soit de la LTD (dépression à long terme) si la stimulation est effectuée par bouffée proche des oscillations lentes (Czarnecki *et al.*, 2007), soit de la LTP si les stimulations sont à la fréquence des spindles (Rosanova & Ulrich, 2005). Ce dernier résultat appuie le rôle actif des spindles dans la consolidation mnésique durant le sommeil et suggère que spindles et ondes lentes auraient un rôle très différent dans ce phénomène.

LTP ou LTD durant le sommeil

L'étude des marqueurs moléculaires de la LTP et LTD à l'échelle du cerveau total ou de certaines régions du cerveau durant le sommeil suggère que le sommeil à ondes lentes diminue la LTP et augmente la LTD (Vyazovskiy *et al.*, 2008).

Mais ces résultats globaux n'empêchent pas la mise en place de potentialisation à des échelles plus locales. Notamment, certains apprentissages entraînent une augmentation des IEGs impliqués dans la LTP durant le sommeil qui suit, dans les régions corticales impliquées dans l'apprentissage. Cependant, cet effet tiendrait particulièrement à la phase de REM (Ribeiro *et al.*, 2007).

Certains apprentissages sont possibles durant le sommeil. Bien que les neuro-modulateurs présents durant le NREM semblent être plus favorables à la LTD, des phénomènes locaux peuvent induire de la LTP durant le sommeil qui suit un apprentissage dans les zones cérébrales en lien avec la tâche.

Ainsi l'orchestration des rythmes du sommeil – ripples, delta et spindles - pourrait permettre la consolidation de la mémoire de deux manières différentes : par les oscillations lentes qui permettent une homéostasie synaptique, diminuant de manière globale la force des connexions dans les réseaux neuronaux ; et par les spindles notamment qui favoriserait la LTP des traces mnésiques à consolider.

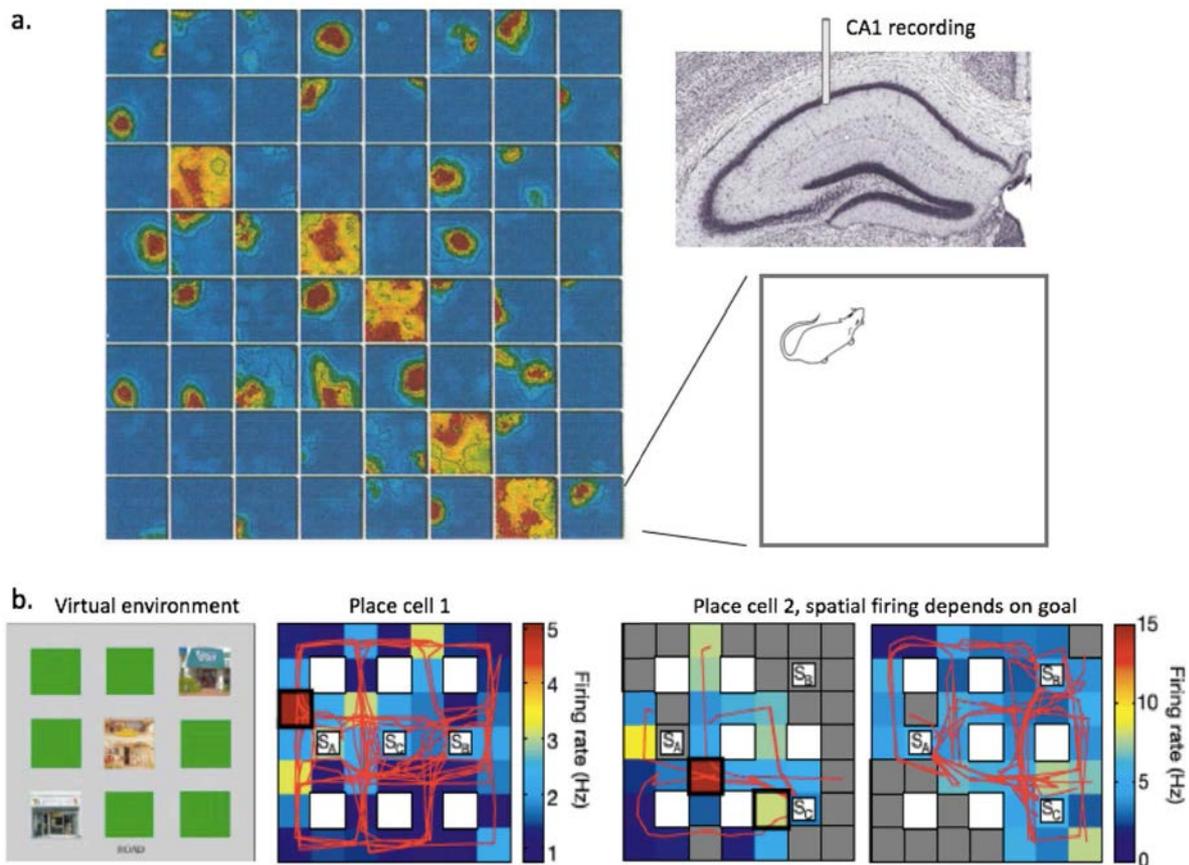


Figure 2.20 : les cellules de lieu, chez l'animal et chez l'homme

a- Carte de décharge des neurones dans la région CA1 de l'hippocampe, normalisée par les déplacements du rat (Wilson & McNaughton, 1993). 64 cellules sont présentées ici, certaines s'activant très peu, d'autres partout (potentiellement des interneurones) et enfin des cellules de lieu dont les potentiels d'action sont majoritairement restreints à un endroit de l'environnement.

b- Enregistrement de cellules de lieu chez l'homme en réalité virtuelle (Ekstrom *et al.*, 2003). Le sujet se déplace en réalité virtuelle à l'intérieur de cette carte, comme s'il marchait réellement dans les rues (gris) d'une ville quadrillée. Sur le panel de gauche, chaque pâté de maison est représenté en vert ou par la boutique installée à cet endroit. 2 cellules de lieu présentent un pattern de décharge en lien avec l'espace, la seconde étant sensible à l'objectif donné au sujet.

II-3 Cas particulier de la mémoire spatiale

L'étude de la mémoire spatiale chez l'animal a permis une grande compréhension des phénomènes impliqués dans l'apprentissage et la consolidation mnésique. Comme cité précédemment, l'hippocampe est impliqué dans la mémoire déclarative chez l'homme, et chez l'animal les tâches nécessitant une représentation de l'espace comme la piscine de Morris ou le conditionnement de peur contextuel (Figure 2.4) sont également dépendantes de l'hippocampe. La mémoire spatiale offre donc un modèle de choix pour étudier les représentations mentales chez l'animal, d'autant plus que l'hippocampe contient des cellules très spéciales, les cellules de lieu, qui s'activent en fonction de la position de l'animal, et se réactivent durant son sommeil, points que nous développerons dans cette partie.

II-3-a Hippocampe et navigation spatiale

Les cellules de lieu

Chez l'animal

A la fin des années 70, O'Keefe et Nadel firent une découverte des plus remarquables, valant d'ailleurs à O'Keefe le prix Nobel de médecine en 2014. En enregistrant l'activité électrique au niveau du champ CA1 de l'hippocampe chez le rat, ils découvrent que ces cellules s'activent en fonction de la position de l'animal dans l'environnement qu'il explore (O'Keefe & Nadel, 1978). Le champ récepteur spatial de ces cellules est alors appelé champs de lieu (Figure 2.20a). Ainsi l'activité d'une population neuronale peut-elle être reliée directement à un comportement complexe chez le mammifère, une découverte sans précédent.

Ces auteurs distinguent également deux stratégies de navigation : une première stratégie qui dépend de ce qu'ils appellent la carte mentale de l'espace, ou **cognitive map** pour laquelle l'hippocampe doit être intacte ; et une deuxième stratégie basée sur l'orientation ou le guidage indépendante de l'hippocampe. Ces stratégies sont respectivement nommées **allocentrique** et **égocentrique**.

La position de l'animal peut être prédite en regardant uniquement l'activité des cellules de lieu montrant une corrélation étroite entre ces neurones et la mémoire spatiale (Wilson & McNaughton, 1993; Zhang *et al.*, 1998).

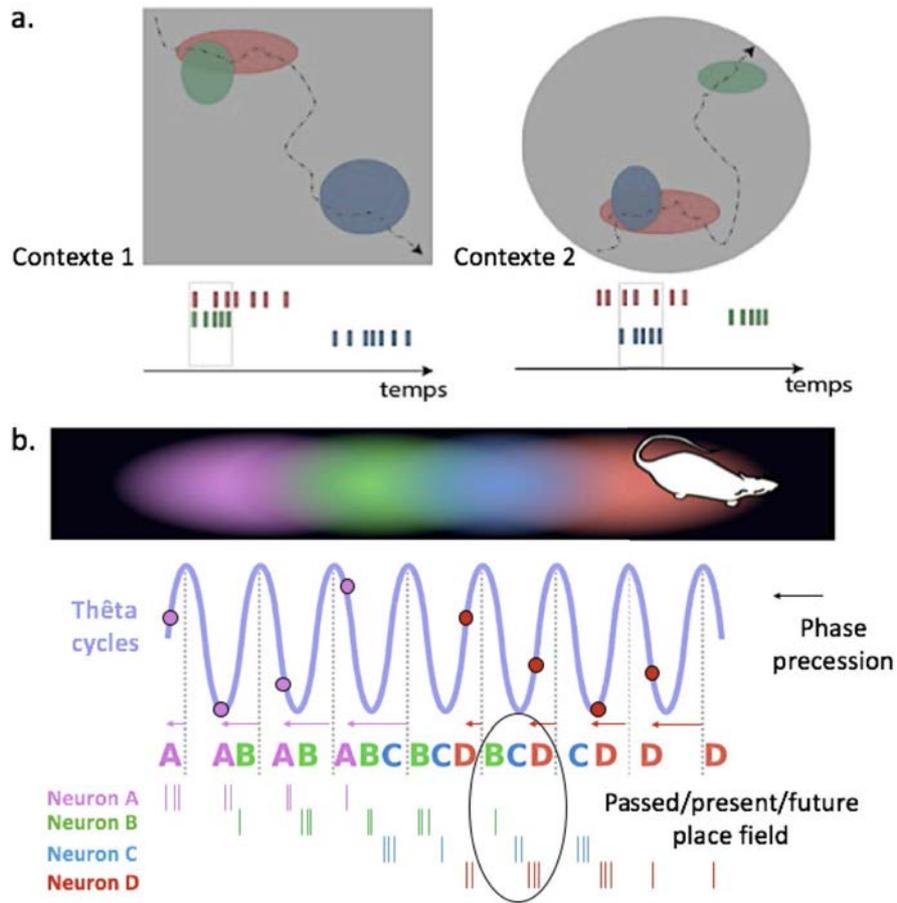


Figure 2.21: le codage de l'information spatiale

a- schéma de remapping des cellules de lieu. 3 cellules de lieu sont représentées ici, chaque champ de lieu ayant une couleur différente. Les cellules déchargeant ensemble dans l'environnement carré, ne déchargent plus ensemble dans l'environnement rond. Ainsi de nouvelles assemblées cellulaires (rectangle) peuvent se former dans chaque nouveau contexte, permettant par combinatoire le codage d'une infinité d'environnement.

b- le phénomène de précession de phase. Lorsque l'animal entre dans le champ de lieu de la cellule A, les spikes auront tendance à advenir à la fin du cycle thêta, et à mesure que l'animal traverse le champ de lieu, la phase à laquelle surviennent les spikes est avancé (flèches). Ainsi, lorsque l'animal traverse un couloir, les séquences des cellules de lieu sont représentées au sein même d'un cycle thêta (cercle).

Chez l'homme

L'Hippocampe est également impliqué dans la mémoire spatiale de type allocentrique chez l'homme (Maguire, 1998). La représentation mentale de l'espace semble d'ailleurs aussi reposer sur des cellules de lieu (Figure 2.20b), puisque celle-ci peuvent être enregistrées dans l'hippocampe de patients implantés (Ekstrom *et al.*, 2003). Bien que l'activité des cellules de lieu enregistrées soit plus sensible à des modifications par la règle ou l'objectif de la tâche, et que la corrélation à l'espace soit moins belle, potentiellement à cause d'un contexte de réalité virtuelle, cette preuve de concept est toutefois satisfaisante.

L'information spatiale

Cet extraordinaire corrélat neuronal pose question : comment peut-on représenter une infinité de lieu avec un nombre de neurones fini ? Comment est organisé l'activité de ces cellules de lieu ?

Codage en population

Les cellules de lieu codent l'environnement en assemblées cellulaires, plusieurs cellules pouvant en effet avoir le même champ de lieu (Figure 2.20a). De plus, comme prévu par Hebb, deux cellules de lieu peuvent décharger ensemble dans un environnement, mais séparément dans un autre (Leutgeb *et al.*, 2005). C'est le **remapping** (Figure 2.21a). Ainsi, avec un nombre restreint de cellules de lieu, il est possible de coder virtuellement une infinité de lieu par cette combinatoire.

Précession de phase

L'activité des cellules de lieu n'est pas liée uniquement à l'espace, elle dépend également du temps et en particulier d'un rythme présent dans l'hippocampe : le rythme thêta (voir I-3c). Lorsqu'un animal effectue une trajectoire, les cellules de lieu s'activent en séquence, et cette séquence est représentée au sein d'un cycle thêta grâce à un phénomène de précession de phase. En effet lorsque l'animal entre dans un champ de lieu, la cellule correspondante décharge en avance par rapport au pic du cycle thêta, alors que quand l'animal sort du champ de lieu, la décharge est retardée (Figure 2.21b). Il en résulte que le pattern de décharge au sein d'un cycle thêta représente le passé, le présent et le futur de la trajectoire que parcourt l'animal (O'Keefe & Recce, 1993; Skaggs *et al.*, 1996).

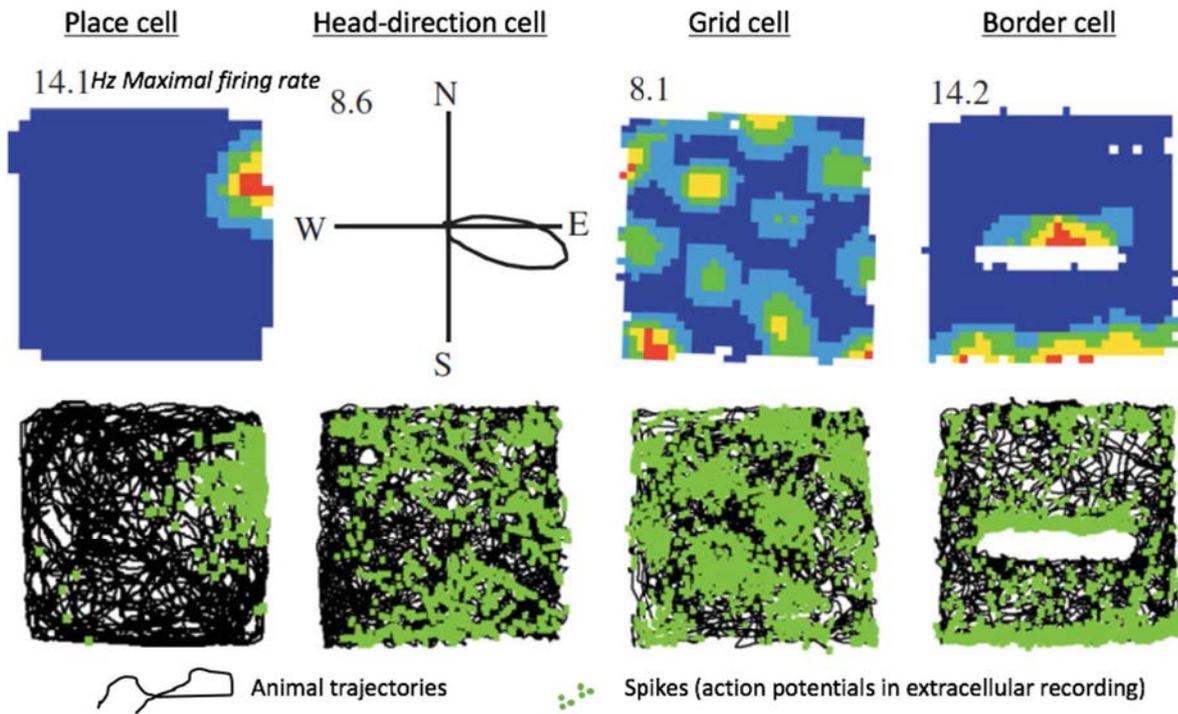


Figure 2.22 : les cellules de l'espace (Hartley *et al.*, 2014)

Comparaison des champs récepteur des différentes cellules en lien avec la position de l'animal dans son environnement. L'enregistrement de ces neurones (spikes en vert) lors de l'exploration de l'environnement par l'animal (trajectoire en noir) permet de construire les cartes de décharge normalisée par la position pour les cellules de lieu, de grille et de bord. La cellule de direction de la tête spikes lorsque la tête de l'animal pointe dans une certaine direction, dans cet exemple vers l'Est.

Autres cellules de l'espace

Mais l'activité en lien avec l'espace ne concerne pas uniquement les cellules de lieu de l'hippocampe. Notamment des cellules de lieu peuvent également être enregistrées en dehors de l'hippocampe chez le rongeur. Aussi, il existe des **cellules de grille**, cellules dont l'activité a un pattern régulier, comme quadrillant l'environnement ; des **cellules de direction de la tête** dont l'activité dépend de la direction absolue vers laquelle l'animal est tourné ; et enfin des cellules de bord (Hartley *et al.*, 2014). Le pattern d'activité de ces cellules est résumé figure 2.22.

La compréhension de la mise en place et de l'importance respective de ces différentes cellules liées à l'espace est encore à ses débuts. Notamment, comprendre si l'activité des cellules de lieu résulte de l'activité de ces autres cellules ou si ces représentations sont co-construites est en cours d'investigation (Hartley *et al.*, 2014; Bittner *et al.*, 2015).

La mémoire spatiale de type allocentrique dépend de l'activité de l'hippocampe à la fois chez l'homme et l'animal. Elle repose sur une représentation mentale de l'espace, la *cognitive map*. Un des plus beaux corrélats entre l'activité neuronale et le comportement concerne d'ailleurs cette représentation mentale, puisque des cellules de lieu, neurones qui s'activent en fonction de la position de l'animal, peuvent être enregistrées dans l'hippocampe.

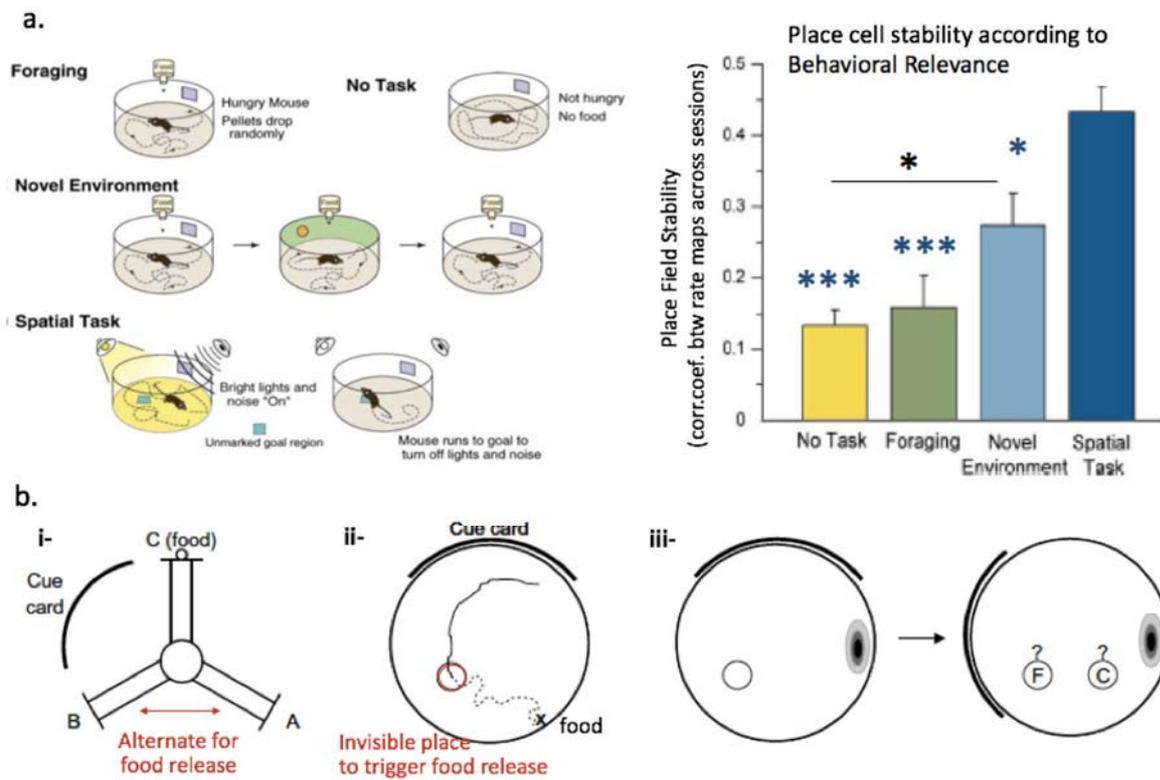


Figure 2.23 : lien entre stabilité des champs de lieu et comportement.

a- stabilité des champs de lieu chez la souris en fonction de l'importance du contexte pour la résolution de la tâche (Kentros *et al.*, 2004). La stabilité est calculée entre 2 sessions dans le même environnement, soit en condition de *no task*, soit en *foraging* où l'animal a faim et retrouve de la nourriture éparpillée sur le sol, soit en *Novel environment* où l'animal a exploré un nouveau contexte entre 2 sessions, ou soit en *spatial task* où l'animal se rend dans un endroit non indiqué de l'environnement pour éteindre lumière et bruit aversifs.

b- expérience dont le design force l'instabilité des champs de lieu (Poucet *et al.*, 2003). i- tâche d'alternance continue en labyrinthe en Y. Une carte placée d'un côté de l'environnement est le seul indice d'orientation pour l'animal. ii- tâche de préférence e place dans laquelle l'animal doit se rendre dans un endroit non indiqué de l'environnement pour recevoir une récompense tombant n'importe où. De la même façon le contexte spatial est indiqué par une carte unique. iii- Rotation de l'indice spatial dans la tâche de préférence de place. Le champ de lieu d'un neurone est représenté en ovale gris/noir pour indiquer l'orientation de la carte mentale de l'animal. Si le champ de lieu de la cellule est conservé et que l'animal se dirige vers F (ancien lieu récompensé) alors son comportement est en accord avec sa carte mentale, par contre s'il se dirige en C, c'est qu'il s'oriente par rapport à l'indice spatial en dépit de l'activité des cellules de lieu.

II-3-b le rôle causal des cellules de lieu

Le corrélat extraordinaire des cellules de lieu avec la position de l'animal suggère que ces neurones sont impliqués dans la mémoire spatiale. Afin de montrer un lien de causalité il faut cependant montrer que cette activité est à la fois nécessaire et suffisante au succès de navigation.

Modification de l'activité des cellules de lieu par le comportement

Stabilité des champs de lieu

Lors d'une première exploration, les cellules de lieu enregistrées ne sont pas encore très stables mais à mesure que l'animal se familiarise avec l'environnement, les champs de lieu se stabilisent (Hill, 1978). Les champs de lieu seront alors stables, même après des mois sans explorer cet environnement (Thompson & Best, 1990). Il y a donc une correspondance entre la mémorisation de l'environnement et la stabilité des champs de lieu.

Une première approche pour tester ce lien, a été de comparer la stabilité des champs de lieu en fonction de la tâche. En effet si l'animal doit se souvenir de l'organisation de l'espace afin de retrouver une récompense par exemple, on s'attend à ce que la trace mnésique soit renforcée. Dans ce sens, la stabilité des champs de lieu dépend de l'attention que l'animal porte à son environnement (Figure 2.23a) (Kentros *et al.*, 2004).

Les erreurs de navigation

Si les cellules de lieu forment la représentation mentale de l'environnement alors une erreur faite par l'animal dans une tâche spatiale doit se refléter dans l'activité des cellules de lieu (Poucet *et al.*, 2003). Cette corrélation est en effet présente puisque, dans une tâche dépendant de l'hippocampe dans laquelle l'animal doit alterner entre deux bras A-B pour obtenir une récompense en C, lorsque les champs de lieu ne sont plus cohérents avec l'indice (Figure 2.23b-i), l'animal fait systématiquement des erreurs (Lenck-Santini *et al.*, 2001). Ces erreurs sont en accord avec la *représentation mentale* du rat puisque toutes les cellules de lieu tournent ensemble (par exemple les cellules de lieu codant dans le bras A vont toutes décharger en B, idem pour B en C et C en A), et les cellules de direction de la tête reflètent également cette représentation erronée (Lenck-Santini *et al.*, 2001).

Modification du comportement après modification des cellules de lieu

La compréhension du lien causal entre cellule de lieu et navigation a été enrichie par des manipulations sélectives de l'activité de l'hippocampe par des méthodes pharmacologiques et génétiques. Notamment la perturbation de la LTP, nécessaire à la stabilisation des champs de lieu

Introduction

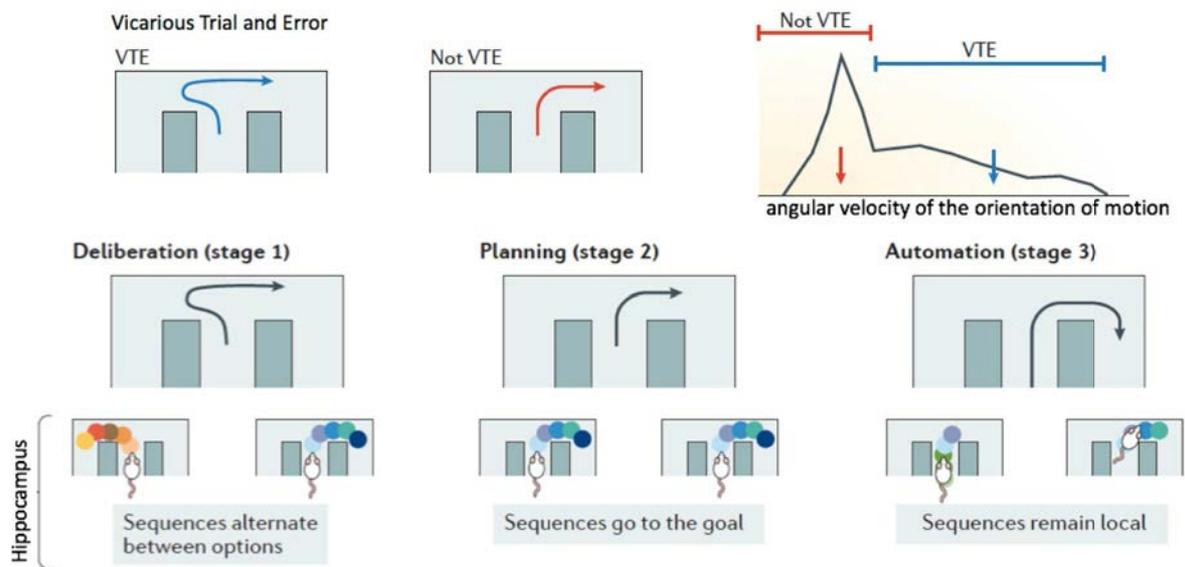


Figure 2.24 : le corrélat neuronal du voyage mental dans le temps chez l'animal (Redish, 2016)
Le VTE (vicarious trial et error) est proposé comme une imagination prospective afin de planifier un futur comportement. Le VTE se caractérise par une pause de l'animal et une réorientation (gauche), ainsi qu'à des preplay dans l'hippocampe.

(Kentros *et al.*, 1998), entraîne une altération des performances spatiales (Shapiro, 2001; Dupret *et al.*, 2010).

Conflit entre carte spatiale et carte mentale

L'équipe de Poucet a mis au point une tâche afin de tester directement le lien causal entre navigation et carte mentale hippocampique (Figure 2.23b-ii,iii). En tournant un indice visuel permettant à l'animal de se repérer dans l'environnement où il doit se rendre à un endroit non-indiqué pour obtenir une récompense, un conflit se crée parfois entre la carte mentale et le contexte. Lorsque les champs de lieu des cellules enregistrées ne suivent pas la rotation de l'indice, il est possible d'interroger si l'animal attend la récompense dans le lieu en référence à l'indice ou à la carte mentale. L'observation du second résultat renforce le lien fonctionnel entre l'activité des cellules de lieu et comportement de navigation spatiale (Lenck-Santini *et al.*, 2001).

Induction d'un remapping total

Mais dans une tâche spatiale dépendant de l'hippocampe, l'induction d'un remapping total en changeant un indice proximal de l'environnement, ne perturbe pas les performances de l'animal se référant encore aux indices distaux (Jeffery *et al.*, 2003). Ainsi la navigation peut-elle être indépendante des cellules de lieu, celles-ci codant un contexte spatial plutôt qu'un endroit absolu.

Le mind-travelling

Une question persiste malgré tout, l'animal peut-il se projeter dans le futur et parcourir la carte mentale comme nous le ferions en imaginant le trajet le plus court pour aller d'un point A à un point B. Une étude récente a étudié ce phénomène en observant l'activité des cellules de lieu lors de comportement d'hésitation ou de conflit quant à la trajectoire à choisir, appelées *vicarious trial and error* (Johnson & Redish, 2007). L'enregistrement de séquence de cellules de lieu correspondant aux trajectoires envisagées au point de décision, est un des meilleurs arguments en faveur de l'utilisation de la carte cognitive comme représentation mentale de l'espace (Figure 2.24).

Bien qu'il soit difficile d'établir une réelle causalité entre l'activité des cellules de lieu et le comportement spatial de l'animal, l'activité de ces cellules est le plus souvent corrélée au comportement de navigation. De plus la présence de comportements d'hésitation dans le choix de trajectoire associés à l'activation des cellules de lieu, soutient l'idée d'une carte mentale que l'animal utilise pour se représenter l'espace et diriger son comportement.

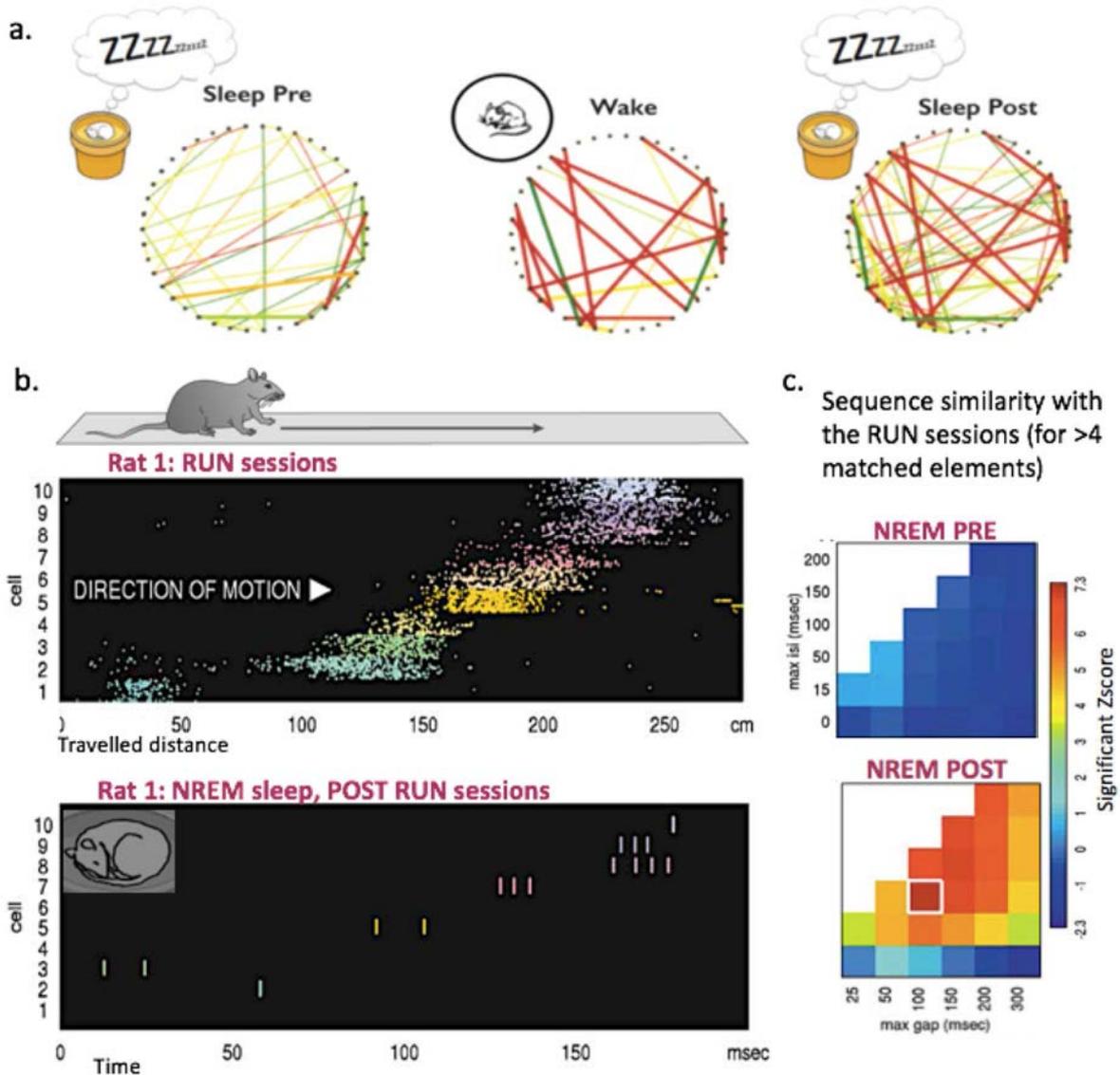


Figure 2.25 : réactivation neuronales dans l'hippocampe

a- réactivation de paire de neurone dans le sommeil suivant un apprentissage spatial (Wilson & McNaughton, 1994). Chaque ligne correspond à une corrélation significative entre l'activité d'une paire de neurones, les 42 neurones étant représentés par des points. La couleur correspond à la force de la corrélation et les traits épais montrent les corrélations apparues durant l'éveil et conservées durant le sommeil post.

b-c réactivation de séquences (Lee & Wilson, 2002). b- *haut* Raster de 10 neurones enregistrés lorsque le rat parcourt un track linéaire, une couleur correspondant à un neurone clusterisé par méthode de *spike sorting*. Pour chaque raster, chaque ligne correspondant à une trajectoire. Les neurones sont ordonnés en fonction de la place de leurs champs de lieu sur le track linéaire. *bas* Raster de ces mêmes 10 neurones durant 200ms de NREM post session.

c- les séquences similaires à celles de l'éveil sont présentes dans le NREM après la tâche de navigation (POST) et non avant (PRE). Une séquence dans le sommeil est définie comme l'enchaînement de potentiel d'action pour au moins 5 neurones déchargeant dans cet ordre durant l'éveil.

II-3-c Les cellules de lieu durant le sommeil

Ainsi les cellules de lieu semblent être le substrat de l'engramme en ce qui concerne la mémoire spatiale. Or nous avons vu que le sommeil est bénéfique pour la mémoire, une question se pose alors : comment se comportent les cellules de lieu durant le sommeil ?

Réactivation des assemblées cellulaires

Le two-stage model de la mémoire

En 1989, Gyuri Buzsáki observe que durant certains comportements chez le rat, comme l'immobilité ou la prise de nourriture/eau, mais aussi durant le NREM, les neurones de CA1 sont massivement activés. La synchronie entre l'activité de ces neurones devient alors très forte, et coïncide avec les sharp-waves (voir I-3c) de l'hippocampe, moment particulier où une potentialisation de la synapse CA3-CA1 semble possible (Buzsáki, 1989).

Il propose alors le **two-stage model** pour expliquer la formation de la trace mnésique : dans un premier temps la trace mnésique est encodée durant le rythme thêta de l'éveil, puis celle-ci est consolidée *off-line* durant l'immobilité ou le sommeil lors des sharp-wave (Buzsáki, 1989).

La réactivation des séquences

Appuyant cette hypothèse, les cellules de lieu s'activant ensemble durant la navigation, se réactivent ensemble durant le sommeil (figure 2.25a) (Wilson & McNaughton, 1994), au moment des sharp-wave ripples (Kudrimoti *et al.*, 1999).

De plus, les cellules de lieu s'activant en séquences lorsque l'animal effectue une trajectoire, se réactivent durant le sommeil, en conservant ces séquences (Figure 2.25b). Ces réactivations séquentielles, dont la probabilité d'occurrence est très faible, sont présentes durant le sommeil suivant l'exploration prolongée d'un environnement, et non durant le sommeil avant, suggérant qu'il s'agirait bien de la trace mnésique nouvellement formée (Lee & Wilson, 2002).

Réactivations neuronales en dehors de CA1

Des réactivations sont également observées dans certains cortex et dans le gyrus denté, en amont de CA1 (Shen *et al.*, 1998).

Aussi, les neurones du noyau accumbens qui s'activent lors de la prise de récompense dans une tâche spatiale, montrent des réactivations lors des ripples du sommeil. La séquence de cellule de lieu précède leur activation, suggérant que l'hippocampe entraîne les réactivations du système de récompense (Lansink *et al.*, 2009).

Enfin, lors de mon master j'ai pu montrer que les cellules de direction de la tête ne présentent pas de réactivation en lien avec l'apprentissage ou la navigation passée (article en annexe) ; en revanche ces

Introduction

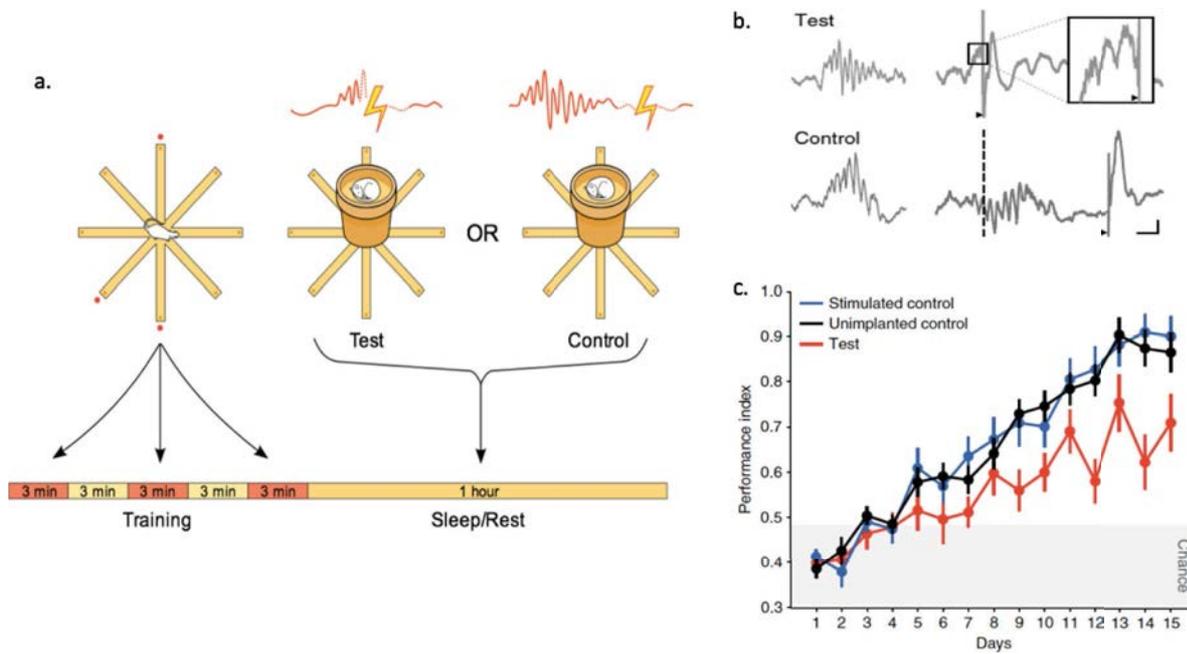


Figure 2.26 : Nécessité des ripples dans la consolidation mnésique durant le sommeil (Girardeau *et al.*, 2009).

a- design expérimental. Les animaux sont placés dans un labyrinthe à 8 bras dont 3 sont récompensés, pour 3 sessions journalières de 3 min maximum (la durée étant réduite si l'animal collecte rapidement les 3 récompenses). Après ces 3 sessions, l'animal est enregistré durant 1h de sommeil et les ripples sont détectées. Un premier groupe test reçoit à chaque détection, une stimulation de la voie commissurale ventrale de l'hippocampe, entraînant une suppression de la ripple. Un groupe contrôle reçoit le même nombre de stimulation avec un délai imposé entre la détection et la stimulation de sorte que celle-ci épargne la ripple.

b- LFP enregistré dans l'hippocampe au moment d'une ripple chez un animal test et chez un animal contrôle, avec et sans stimulation.

c- performance des rats pour collecter les récompenses au cours des jours d'apprentissage. Noter le retard du groupe test. Ce retard est similaire à ce qui est observé chez des rats ayant subi une lésion de l'hippocampe.

neurones continuent de s'activer de manière cohérente, suggérant une organisation interne et autonome de ce système, dont les inputs extérieurs viendraient simplement moduler l'activité lors de la navigation (Peyrache *et al.*, 2015).

Causalité des réactivations neuronales

Durant le sommeil coïncident deux phénomènes : la consolidation de la mémoire dépendant de l'hippocampe durant le sommeil d'une part, et la réactivation des cellules de lieu considérée comme la trace mnésique spatiale durant les ripples du NREM d'autre part. Afin de comprendre si les réactivations sont nécessaires à la consolidation mnésique, l'équipe de Michael Zugaro, dont mon directeur de thèse Karim Benchenane faisait alors partie, a supprimé sélectivement l'activité de l'hippocampe au moment des ripples, empêchant ainsi les réactivations neuronales d'avoir lieu. Les performances dans la tâche de navigation spatiale étaient grandement altérées (Figure 2.26), démontrant que l'activité de l'hippocampe au moment des ripples est cruciale pour consolider la mémoire (Girardeau *et al.*, 2009; Ego-Stengel & Wilson, 2010).

Cependant cette manipulation induisait une diminution de la décharge globale des cellules de lieu durant le sommeil, puisque les ripples sont le siège d'une forte activité des neurones de CA1. Comment être sûr que l'effet soit spécifiquement dû aux neurones impliqués dans la tâche ? De plus les ripples sont synchrones avec d'autres rythmes corticaux et la suppression de l'activité hippocampique à cet instant pourrait induire des perturbations de la mémoire par d'autres mécanismes que la suppression des réactivations.

Réactivations neuronales chez l'homme

Chez l'homme, l'observation en IRM fonctionnel d'activation dans les régions préalablement impliquées dans l'apprentissage suggère que des réactivations seraient également présentes. Ces résultats montrent une telle activation durant le NREM pour une tâche de navigation spatiale (Peigneux *et al.*, 2004) et durant le REM pour une tâche de *serial reaction time* (Maquet *et al.*, 2000).

De manière intéressante, la présentation durant le sommeil d'une odeur préalablement diffusée lors d'un apprentissage de localisation spatiale (sur un écran), améliore les performances au réveil, suggérant que l'odeur a favorisé la ré-activation de la trace mnésique durant le sommeil et amélioré sa consolidation (Rasch *et al.*, 2007).

Le sommeil, un prisme pour l'étude de la mémoire

La représentation mentale de l'espace semble ainsi reposer sur les cellules de lieu de l'hippocampe, et leurs réactivations durant le sommeil montrent que l'organisation interne des neurones sous-tendant cette trace mnésique est conservée.

Chez l'homme, la représentation du monde que l'on acquiert nous permet de nous projeter dans cette représentation et il nous est alors possible de raconter un souvenir alors même que nous sommes dans un tout autre contexte. Qu'en est-il pour l'animal ? Comment savoir s'il a bien une représentation du monde indépendante de réaction réflexe ou de conditionnement simple ?

L'étude de l'activité *off-line* des neurones, lorsque l'animal est coupé de l'extérieur, nous donne la possibilité de tester cette représentation interne (Buzsáki *et al.*, 2014). En effet l'activité des cellules de lieu ne reflète plus l'endroit où se trouve l'animal mais potentiellement l'endroit auquel il « pense », navigant dans cette carte mentale.

La trace mnésique encodée durant l'éveil lors de la navigation spatiale est réactivée durant le sommeil suivant, conservant les séquences liées aux trajectoires de l'animal. Ces réactivations neuronales ont lieu durant les ripples, des oscillations à hautes fréquences enregistrées dans le champ CA1 de l'hippocampe et associées à une certaine plasticité synaptique. La suppression de l'activité dans l'hippocampe au moment de ces rythmes entraîne une diminution des performances suggérant qu'ils sont nécessaires à la consolidation de la mémoire, mais sont-ils suffisants ?

Chapitre 2, en bref

La mémoire est un processus dynamique qui se ferait en plusieurs étapes. Durant un apprentissage, les informations perçues, à la fois sensorielles et internes, sont encodées dans les réseaux de neurones. Ce processus repose sur la plasticité synaptique modifiant la force des connexions entre les neurones de ce réseau. Les structures cérébrales impliquées dans la mémoire sont nombreuses, et leur implication dépend du type de mémoire. En particulier l'hippocampe est impliqué dans la mémoire de type déclarative ou consciente.

Une fois encodée, la trace mnésique devra être consolidée pour permettre le rappel des informations apprises. Cette consolidation a lieu à la fois à l'échelle synaptique, et à l'échelle systémique, puisqu'un transfert de la trace mnésique s'opère de l'hippocampe vers le cortex.

Le sommeil serait impliqué dans ces processus de consolidation puisque de nombreuses études montrent un rôle bénéfique du sommeil sur la mémoire.

Ces résultats sont renforcés par l'étude de la mémoire spatiale chez le rongeur, qui a dévoilé l'un des plus beaux corrélats de l'histoire des neurosciences : les cellules de lieu. Ces neurones de l'hippocampe s'activent en fonction de la position de l'animal, suggérant que leur activité supporte la trace mnésique spatiale. De manière intéressante, l'activité de ces cellules de lieu est rejouée durant le sommeil et ces réactivations seraient alors impliquées dans la consolidation de la mémoire.

III- Résultats Partie 1.

Création d'une préférence de place durant le sommeil : implication pour la compréhension de la mémoire spatiale

III- Résultats Partie 1 : Création d'une préférence de place durant le sommeil, implication pour la compréhension de la mémoire spatiale

Problématique

La théorie des réactivations neuronales repose sur le fait que l'activité des neurones impliqués dans l'apprentissage est rejouée durant le sommeil qui suit, et cette réactivation participerait à la consolidation mnésique. Dans le cadre de la mémoire spatiale, les assemblées de cellules de lieu en lien avec la navigation durant l'éveil, sont réactivées durant le sommeil au moment des ripples et la suppression de l'activité de l'hippocampe au moment des ripples détériore la mémoire (Girardeau *et al.*, 2009). Cette dernière expérience montre que l'activité de l'hippocampe au moment des ripples est importante pour la mémoire, mais n'adresse pas directement le rôle des réactivations neuronales elles-mêmes. Ainsi il reste à déterminer si ce sont bien les réactivations des cellules de lieu qui sont importantes pour la consolidation de la mémoire, autrement dit, l'activité des cellules de lieu supporte-t-elle encore l'information spatiale durant le sommeil ?

Cette question peut d'ailleurs être posée également pour l'éveil. En effet le corrélat entre l'activité des cellules de lieu et la position de l'animal est un des plus forts décrits en neurosciences et la manipulation de l'activité des cellules de lieu peut provoquer une modification comportementale et réciproquement, suggérant une relation causale. Cependant aucune étude réalisée jusqu'alors n'a pu démontrer directement le rôle causal des cellules de lieu dans la représentation mentale de l'espace et l'utilisation de la carte mentale.

Enfin, un certain nombre d'études a montré que certains apprentissages étaient possibles durant le sommeil, mais à ce jour, aucune manipulation durant le sommeil n'a pu créer une trace mnésique reposant sur des associations stimulus-stimulus, utilisées par l'animal dans un comportement dirigé vers un but.

Dans ce chapitre nous adressons l'ensemble de ces questions, en associant les réactivations spontanées des cellules de lieu durant le sommeil à une valence émotionnelle positive afin de créer une nouvelle trace mnésique correspondant à une préférence de place, que l'animal pourra utiliser au réveil dans un comportement dirigé vers un but.

Pour ce faire, nous avons déclenché automatiquement des stimulations du faisceau médian prosencéphalique (MFB), induisant une sensation de récompense chez la souris, à partir de l'activité d'une cellule de lieu.

Nous avons donc développé une interface cerveau-machine permettant de faire cette association. Utilisée durant l'éveil, cette association induit un apprentissage similaire à celui d'une préférence de

Résultats

place, dans lequel l'animal doit se rendre dans le champ de lieu d'une cellule pyramidale pour recevoir une stimulation. L'utilisation de cette interface lorsque l'animal navigue librement permet à l'animal de développer une préférence pour le champ de lieu de la cellule choisie, dans lequel il passe alors plus de temps.

L'utilisation de cette interface durant le sommeil, associant la stimulation MFB aux réactivations spontanées des cellules de lieu, permettrait-elle d'induire un comportement similaire de préférence de place ?

Cette expérience adresse ainsi trois questions :

Le sommeil pourrait-il permettre la création d'une mémoire de type explicite ?

Durant le sommeil, les cellules de lieu portent-elles toujours la même information spatiale que durant la navigation ?

Les cellules de lieu ont-elles un rôle fonctionnel dans la navigation spatiale ?

Explicit memory creation during sleep demonstrates a causal role of place cells in navigation

Gaetan de Lavilléon¹⁻³, Marie Masako Lacroix¹⁻³,
Laure Rondi-Reig^{2,4} & Karim Benchenane^{1,2,4}

Hippocampal place cells assemblies are believed to support the cognitive map, and their reactivations during sleep are thought to be involved in spatial memory consolidation. By triggering intracranial rewarding stimulations by place cell spikes during sleep, we induced an explicit memory trace, leading to a goal-directed behavior toward the place field. This demonstrates that place cells' activity during sleep still conveys relevant spatial information and that this activity is functionally significant for navigation.

The hippocampus constitutes the neuronal substrate of the cognitive map¹, as demonstrated by the firing of its principal cells in specific locations of the environment¹. During sleep, hippocampal neurons replay previous wake experiences during so-called sharp wave ripples (SPW-Rs)^{2,3}, an oscillatory pattern supporting memory consolidation⁴⁻⁶. However, while the animal is awake, it is impossible to dissociate its actual position from the associated neuronal firing, and the proposed function of place cells in navigation is based entirely on this correlation^{7,8}. We hypothesized that the transient decorrelation of place cell activity from current location during sleep could provide a way to directly test the function of place cells in navigation.

In this study, we used the spontaneous activity of a given place cell during sleep to trigger automatically rewarding stimulations of the medial forebrain bundle (MFB) to create an artificial place-reward association. This version of a closed-loop-based learning procedure⁹⁻¹²

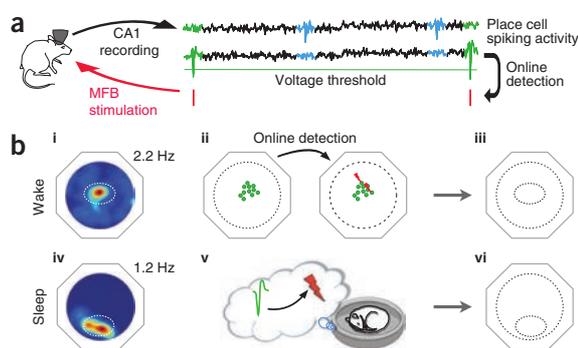
(Fig. 1 and Supplementary Fig. 1) is similar to the classical place preference task, thought to rely on a form of hippocampus-dependent explicit memory¹³.

Mice were implanted with polytrodes in the CA1 pyramidal layer and stimulation electrodes in the MFB (Online Methods), known to induce reward in mice^{14,15}. Optimal rewarding intensity was determined in a classical nose-poke procedure (Online Methods). At the intensities used, stimulations neither awakened the animals (Supplementary Fig. 2) nor altered basic hippocampal electrophysiological properties, such as place cell characteristics, theta oscillations or SPW-Rs (Supplementary Figs. 3 and 4).

As mice freely explored open field environments, spiking activity was analyzed online to determine whether a single and clearly identifiable putative pyramidal neuron displayed a place field (PF, Online Methods and Supplementary Fig. 1). Once selected, this place cell was used to trigger MFB rewarding stimulations (2-ms delay) during either the wake-pairing or the sleep-pairing protocol (Online Methods and Supplementary Figs. 1 and 5). Exploration was quantified by successive trials in PRE and POST sessions to identify exploratory bias toward the related PF.

The pairing protocol was performed during wakefulness on a first set of five animals (Fig. 2a and Supplementary Fig. 1a). During the PRE session, spatial behavior was what was expected from a random and homogeneous exploration: the percentage of time mice spent in the PF corresponded to the percentage of the environment occupied by this PF (Fig. 2b and Supplementary Fig. 6). During the wake-pairing session, mice stayed preferentially in the PF of the selected neuron to self-stimulate, as revealed by the high correlation between place cell firing map and occupancy map (Fig. 2e and Supplementary Fig. 7). During the POST period, time spent within the PF increased 4- to 5-fold compared to PRE, emphasizing the persistence of the memory of the place-reward association (Fig. 2a,b, $n = 5$, $P = 0.043$).

Figure 1 Pairing place cell to rewarding stimulation during wakefulness or sleep to create a place preference. (a) Method of online spike detection based on voltage threshold. Schematic waveforms from two units (blue and green) superimposed on signals recorded from hippocampal CA1 pyramidal layer (black). Spikes with high amplitude, crossing the threshold, trigger MFB stimulation. (b) Protocol for the creation of a place preference by pairing spikes to rewarding stimulations during wakefulness or sleep. (i, iv) PFs of selected pyramidal cells. (ii) During the pairing protocol performed during wakefulness, spikes of the detected place cell (green circles indicate mouse position when place cell fired) automatically trigger rewarding stimulations (red lightning bolts). (v) During sleep pairing, reactivation-related spiking activity of the selected place cell triggers rewarding stimulations. (iii, vi) Place preference is assessed by probe tests.



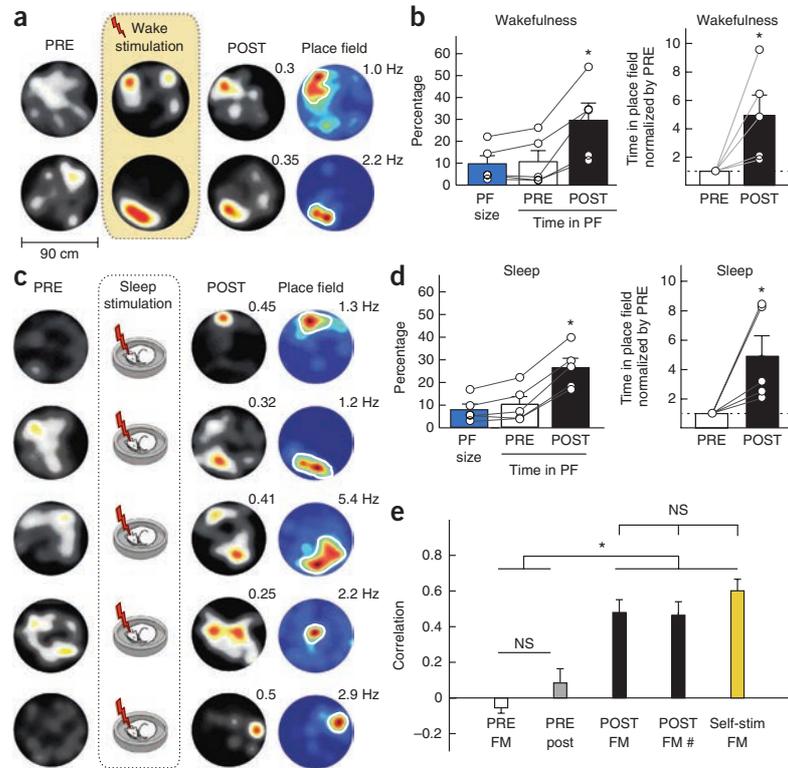
¹Team Memory, Oscillations and Brain States (MOBS), Brain Plasticity Unit, CNRS UMR 8249, Ecole Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles de la Ville de Paris, Paris, France. ²Neuroscience Paris Seine, Cerebellum, Navigation and Memory Team, CNRS UMR 8246; INSERM, UMR-S 1130; Sorbonne Universités, University Pierre and Marie Curie, Paris, France. ³These authors contributed equally to this work. ⁴These authors jointly directed this work. Correspondence should be addressed to K.B. (karim.benchenane@espci.fr).

Received 29 July 2013; accepted 9 February 2015; published online 9 March 2015; doi:10.1038/nn.3970

BRIEF COMMUNICATIONS

Figure 2 Place preference induced after pairing place cell spikes with rewarding stimulation.

(a,c) Occupancy maps before (PRE), during (a, wake stimulation) and after (POST) the session where one place cell's spikes triggered MFB stimulations, either during wakefulness (a, representative examples) or sleep (c, $n = 5$). Color ranges from black (minimum occupancy rate) to red; peak occupancy rates are indicated above POST occupancy maps, with same scaling applied as for PRE. Corresponding firing maps (FM) of detected place cells before PRE session are represented on the right. Color ranges from blue (minimum firing rate) to red; peak firing rates indicated above. (b,d) Left, PF size expressed as a percentage of the total reachable area (blue) and percentage of time spent within the PF in PRE and POST sessions. Right, data normalized by PRE sessions after wake-pairing (b, PRE/POST, Wilcoxon matched pairs test, $n = 5$, $Z = 2.02$, $*P = 0.043$) or sleep-pairing protocol (d, PRE/POST, $n = 5$, $Z = 2.02$, $*P = 0.043$). (e) Correlation between occupancy maps or correlation between detected place cell's FM and occupancy map, either during PRE and POST sleep-pairing session or during wake-pairing (self-stim) sessions (Friedman test, chi-squared: $\chi^2 = 16.60$, $n = 5$, d.f. = 4, $*P = 0.0023$). Correlation with FM is increased during POST ($n = 5$, Wilcoxon matched pairs test: correlation PRE-FM versus POST-FM, $Z = 2.02$, $*P = 0.043$; correlation PRE-POST versus POST-FM, $Z = 2.02$, $*P = 0.043$). Same results were observed for partial correlation ($\#$), which quantifies the correlation between POST and FM when the influence of PRE is removed ($n = 5$, correlation PRE-FM versus POST-FM given PRE, $Z = 2.02$, $*P = 0.043$; correlation POST-FM versus POST-FM given PRE, $Z = 0.73$, $P = 0.46$). ($n = 5$, PRE-FM versus self-stimulation-FM, $Z = 2.02$, $*P = 0.043$; POST-FM versus self-stimulation-FM, $Z = 1.75$, $P = 0.07$). Note the absence of correlation in PRE sessions, excluding a bias of behavior induced by arena properties. NS, not significant (PRE-FM versus PRE-POST, $Z = 0.94$, $P = 0.34$; POST-FM or POST-FM# versus self-stim-FM, $Z = 1.75$, $P = 0.07$). Error bars indicate s.e.m.



The place preference created directly using place cell activity was similar to classical place preference, induced by manual stimulations restricted to a given location (Supplementary Fig. 8b,c).

A second set of five animals then underwent the pairing protocol during sleep (Fig. 2c and Supplementary Fig. 1b). Analysis of the POST exploration upon awakening revealed a strong place preference for the associated PFs: the time the animals spent in these locations increased by 4- to 5-fold (Fig. 2c,d, $n = 5$, $P = 0.043$). Other behavioral measures yielded similar results (Supplementary Fig. 9).

During the 1-h sleep-pairing sessions, most of the MFB stimulations occurred during slow-wave sleep (SWS; 567 ± 80) rather than rapid eye movement sleep (REM; 11 ± 7 stimulations). Within SWS periods, $37.4 \pm 8.9\%$ occurred during SPW-Rs, which represented only $1.43 \pm 0.2\%$ of total sleep. This is consistent with the large increase in firing rate during SPW-Rs and with the hypothesis that SPW-Rs are essential for memory consolidation during sleep^{5,6}. Since very few REM episodes were observed during these short sleep sessions, however, further studies would be needed to test whether this effect depends on a particular sleep stage.

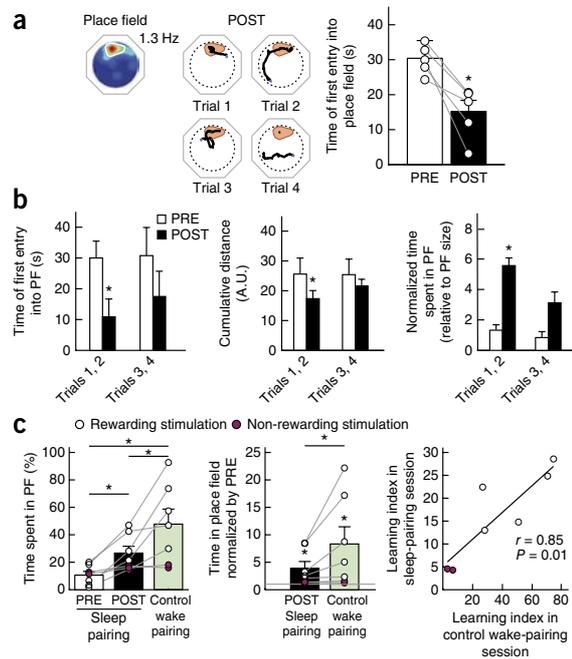
Observation of animals' trajectories during POST trials of the sleep-pairing protocol suggested that mice headed directly toward the PF (Fig. 3a). Accordingly, the time of first entry into the PF was significantly decreased in POST compared to PRE sessions. (Fig. 3a, $n = 5$, $P = 0.043$). All behavioral measures tended to show an increased exploration of the selected PFs during the first two trials after the sleep learning procedure when compared to the third and fourth trials,

consistent with an extinction classically observed during unrewarded probe tests (Fig. 3b, Online Methods). Notably, the same pairing protocol during sleep with non-rewarding MFB stimulations (those that did not lead to self-stimulating behavior) did not induce any subsequent place preference upon awakening (Fig. 3c). Moreover, we found a significant correlation between the learning induced by the sleep-pairing protocol (an increase of time spent within the PF) and the rewarding effect of MFB stimulation ($n = 7$, $r = 0.85$, $P = 0.01$, Fig. 3c), assessed by self-stimulation in a subsequent control wake-pairing session (Online Methods). Finally, there was no modification of the number of place cell-triggered MFB stimulations over time during the sleep-pairing session (Supplementary Fig. 2e), excluding an operant conditioning of the driving neuron, a phenomenon observed in other cellular conditioning studies^{9,10,12}.

Taken together, these observations fulfill criteria proposed by Dickinson and Balleine to define a goal-directed strategy based on explicit knowledge of action-outcome association¹⁶. This suggests that the pairing protocol used here during sleep induced the creation of an artificial explicit memory that could be used by mice in a goal-directed way and thus goes beyond previous observations showing that certain forms of conditioning relying on a reflex response to a conditioned stimulus can take place in the sleeping or anesthetized brain¹⁷⁻¹⁹. Moreover, the fact that pairing spikes of a given place cell with rewarding stimulation during sleep, when its activity was decorrelated from the actual animal position, leads to a place preference toward the related place field demonstrates that place cell activity

BRIEF COMMUNICATIONS

Figure 3 Pairing MFB stimulations to place cell activity during sleep leads to a goal directed behavior upon awakening. **(a)** Left, firing map of the detected place cell and trial-by-trial trajectories for the POST session of the first example shown in **Figure 2c**. Right, quantification of the delay to reach the PF for the first time, showing a significant decrease in POST compared to PRE sessions (Wilcoxon matched pairs test, $n = 5$, $Z = 2.02$, $*P = 0.043$). **(b)** Analysis comparing the first (1 and 2) and last (3 and 4) trials of the PRE and POST sessions of the sleep-pairing protocol, on time of first entry into PF ($n = 5$, trials 1 and 2: $Z = 2.02$, $*P = 0.043$; trials 3 and 4: $Z = 0.94$, $P = 0.34$), cumulative distance (A.U., arbitrary units) to the PF ($n = 5$, trials 1 and 2: $Z = 2.02$, $*P = 0.043$; trials 3 and 4: $Z = 1.48$, $P = 0.14$) and percentage of time spent in PF ($n = 5$, trials 1 and 2: $Z = 2.02$, $*P = 0.043$; trials 3 and 4: $Z = 1.75$, $P = 0.07$). **(c)** Left and middle, time spent in PF in PRE (white bar) and POST (black) sessions of the sleep-pairing protocol and during self-stimulation session of the control wake protocol (green) for all mice ($n = 7$), including mice without self-stimulating behavior (purple dots; exclusion criterion 3). Friedman test, $\chi^2 = 12.28$, $n = 7$, d.f. = 2, $P = 0.021$; Wilcoxon matched pairs test, $n = 7$, PRE-POST sleep-pairing: $Z = 2.36$, $*P = 0.017$; PRE-POST wake-pairing: $Z = 2.36$, $*P = 0.017$; POST-control wake-pairing: $Z = 2.19$, $*P = 0.028$. Right, correlation between the increase in time spent in PF during control wake self-stimulation protocol and upon awakening after sleep pairing. Spearman correlation, $n = 7$, $r = 0.85$, $t_5 = 3.72$, $*P = 0.01$. Learning index refers to difference in percentage of time in PF, between PRE sessions and POST or during control wake self-stimulation. Error bars indicate s.e.m.



itself functions in spatial memory and navigation. Finally, our results support the theory of spatial reactivation during sleep^{3,4,20} by showing that place cells encode the same spatial information during sleep and wakefulness.

METHODS

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

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

ACKNOWLEDGMENTS

We thank F.P. Battaglia, M.B. Zugaro, P. Faure, L. Roux, S. Bagur and S.I. Wiener for discussions, and A. Peyrache for discussion and critical readings of an earlier version of the manuscript. Some experiments were done with software developed by G. Cournelle and A. Baelde, engineering students from the ESPCI-ParisTech. This work was supported by the Fondation pour la Recherche Médicale DEQ20120323730, France, by the National Agency for Research ANR-REG-071220-01-01, France, by the CNRS: Programmes Interdisciplinaires de Recherche (Neuro-IC), ATIP-Avenir (2014) and by the city of Paris (Grant Emergence 2014). This work also received support under the program Investissements d'Avenir launched by the French Government and implemented by the ANR, with the references: ANR-10-LABX-54 MEMO LIFE and ANR-11-IDEX-0001-02 PSL* Research University. G.d.L. and M.M.L. were funded by the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, France.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

K.B. designed the experiment. G.d.L. and M.M.L. did the experiments. K.B., G.d.L. and M.M.L. analyzed the data. K.B., G.d.L., M.M.L. and L.R.-R. wrote the manuscript.

COMPETING FINANCIAL INTERESTS

The authors declare no competing financial interests.

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

- O'Keefe, J. & Nadel, L. *The Hippocampus as a Cognitive Map* 1-570 (Oxford University Press, 1978).
- Lee, A.K. & Wilson, M.A. *Neuron* **36**, 1183-1194 (2002).
- Wilson, M.A. & McNaughton, B.L. *Science* **265**, 676-679 (1994).
- Buzsáki, G. *Neuroscience* **31**, 551-570 (1989).
- Girardeau, G., Benchenane, K., Wiener, S.I., Buzsáki, G. & Zugaro, M.B. *Nat. Neurosci.* **12**, 1222-1223 (2009).
- Ego-Stengel, V. & Wilson, M.A. *Hippocampus* **20**, 1-10 (2010).
- Lenck-Santini, P.-P., Muller, R.U., Save, E. & Poucet, B. *J. Neurosci.* **22**, 9035-9047 (2002).
- Jeffery, K.J., Gilbert, A., Burton, S. & Strudwick, A. *Hippocampus* **13**, 175-189 (2003).
- Delgado, J.M.R., Johnston, V.S., Wallace, J.D. & Bradley, R.J. *Brain Res.* **22**, 347-362 (1970).
- Shinkman, P.G., Bruce, C.J. & Pfingst, B.E. *Science* **184**, 1194-1196 (1974).
- Jackson, A., Mavoori, J. & Fetz, E.E. *Nature* **444**, 56-60 (2006).
- Fetz, E.E. *Science* **163**, 955-958 (1969).
- Eichenbaum, H. *Behav. Brain Res.* **103**, 123-133 (1999).
- Carlezon, W.A. & Chartoff, E.H. *Nat. Protoc.* **2**, 2987-2995 (2007).
- Kobayashi, T., Nishijo, H., Fukuda, M., Bures, J. & Ono, T. *J. Neurophysiol.* **78**, 597-613 (1997).
- Dickinson, A. & Balleine, B.W. *Anim. Learn. Behav.* **22**, 1-18 (1994).
- Hennevin, E. & Hars, B. *Psychobiology (Austin, Tex.)* **20**, 166-176 (1992).
- Weinberger, N.M., Gold, P.E. & Sternberg, D.B. *Science* **223**, 605-607 (1984).
- Arzi, A. et al. *Nat. Neurosci.* **15**, 1460-1465 (2012).
- Pavlidis, C. & Winson, J. *J. Neurosci.* **9**, 2907-2918 (1989).

ONLINE METHODS

Subjects and surgical protocols. A total of 40 C57Bl6 male mice (*Mus musculus*), 3–6 months old, were implanted with movable polytrodes (six or eight twisted nichrome wires) above the CA1 pyramidal layer of right hippocampus (AP +2.2, ML +2.0, DV –1.0). Stimulation electrodes (60- μ m-diameter stainless steel) were implanted at the left medial forebrain bundle (MFB) (AP +1.4, ML +1.2, DV +4.8). During recovery from surgery (minimum 3 d) and during all experiments, mice received food and water *ad libitum*. The recording electrodes were progressively lowered until they reached the CA1 pyramidal layer, where ripples were recorded. Meanwhile, the mice were habituated to explore three different open fields. All mice were free of any manipulation before being included in this study. Mice were housed in an animal facility (08:00–20:00 light), one per cage after surgery. Data collection and analysis were not performed blind to the condition of the experiments, and no randomization was used. All behavioral experiments were performed in accordance with the official European guidelines for the care and use of laboratory animals (86/609/EEC) and in accordance with the Policies of the French Committee of Ethics (Decrees n° 87–848 and n° 2001–464). Animal housing facility of the laboratory where experiments were made is fully accredited by the French Direction of Veterinary Services (B-75-05-24, 18 May 2010). Animal surgeries and experimentations were authorized by the French Direction of Veterinary Services for K.B. (14-43) and L.R.-R. (75-752).

Electrophysiological procedures. *Recordings.* Signals from all electrodes were fed into a unity-gain headstage preamplifier (HS-16; Neuralynx, Bozeman, MT) and then amplified 2,000 times (tether cable to programmable amplifiers Lynx8, Neuralynx, Bozeman, MT). Signals for single-unit recordings were bandpass-filtered between 600 and 9,000 Hz. Data were digitized and stored on hard disk by a Power 1401 (CED, Cambridge, UK) acquisition system controlled by Spike2 software (CED, Cambridge, UK). Single-unit data were sampled at 20 kHz and 1.6-ms samples were time-stamped and stored for all channels of the polytrode whenever any of the channels exceeded a preset threshold. Local field potentials were sampled and stored at 1,250 Hz. During exploration or sleep recording sessions, mice were tracked by video at 30 Hz and position of the animals was reconstructed by a Matlab-based program (MathWorks, Natick, MA).

MFB stimulations. Intracranial rewarding stimulation consisted of a stimulation train lasting 100 ms and composed of 14 1-ms negative square-wave pulses (140 Hz)²¹. Optimal voltage for intracranial MFB was determined with a nose-poke task (see below). Note that these MFB stimulations did not reset theta oscillations, an effect that has been observed in some studies with stimulations located in the hypothalamic area^{22,23}.

Nose-poke task. In the nose-poke task, the rodent self-administered electrical brain stimulations in an operant chamber (50 \times 30 \times 20 cm) with one panel composed of two 1.5-cm-diameter holes, in a daily session for 3 d. Each nose-poke into the left hole was detected by a photodetector and automatically triggered MFB stimulations. Mice were screened for decreasing voltage of stimulations from 8 V to 0 V in 200-s sessions. Percentage of time spent on self-stimulation was modulated by voltage intensity in accordance with previous report²¹. For subsequent experiments of place-reward association, we then used for each mouse the lowest stimulation intensity necessary to reach at least 80% of its time nose-poking while having no effect on sleep. Four mice did not show any self-stimulating behavior in this task and were thus excluded from the study (exclusion criterion 1).

Place preference tasks. *Common paradigm.* Mice were habituated to freely explore during daily 30-min sessions three distinct open fields (120 cm diameter), whose shape was either circular, square or star-shaped and surrounded by different cues. Exploration area was restricted by the length of the recording cable and all occupancy maps thus correspond only to the circular reachable area. This procedure did not affect quality of recording and was chosen to improve homogeneity of exploration as compared to that in a classical open field surrounded by walls (Supplementary Fig. 10).

Our place preference task started with a PRE session consisting of eight successive 1-min exploration trials. Then, during a pairing session, either place cell activity (sleep-pairing or wake-pairing protocols) or animal entry into a defined location (classical place preference) triggered MFB rewarding stimulations. This session was directly followed by a POST probe test, consisting of successive 1-min

exploration trials (Supplementary Fig. 1). As we were aiming to quantify a putative place preference, quantifications of PRE and POST sessions were done using the first four trials during which the mouse was actively exploring; trials during which mice stayed in the starting zone (within a 10-cm diameter) were not considered for the analysis. Regarding this criterion, in the sleep-pairing protocol 0.28 ± 0.18 PRE trials and 1.71 ± 0.28 POST trials per mouse were removed from analysis. In the wake-pairing protocol, 0.2 ± 0.2 PRE trials and 0.6 ± 0.4 POST trials were removed.

During PRE and POST sessions, a different starting point among four locations was assigned to each trial to force mice to use external visual cues for navigation (an allocentric strategy, known to depend on hippocampal integrity²⁴). For each experiment, the four starting points were set symmetrically at the edge of the exploring area (Supplementary Fig. 1d). None of the starting points was located inside the PF, and the first trial started at the opposite side of the arena from the PF. The three remaining locations were then sequentially visited. Between trials, mice were removed from the environment and carried to the next starting point (~5-s intertrial interval).

All experiments were performed during daytime (12:00–15:00) unless specified in order to favor sleep in the sleep-pairing experiment. The behavioral task, however, was not sensitive to circadian rhythm (Supplementary Fig. 8c–f).

Wake-pairing protocol (using place cell activity). During the wake-pairing protocol, place cell spikes were paired with MFB stimulation at the rewarding intensity during a free exploration session, lasting 15 min after the first stimulation. The experiment was performed when spikes of a putative pyramidal cell could be efficiently and unambiguously detected online and when the corresponding PF was unique and salient (see Online Methods, “Online spike detection”). Five animals performed this wake-pairing protocol.

Sleep-pairing protocol (using place cell activity). The experiment was performed when spikes of a putative pyramidal cell reached the online spike detection criteria, and 24 of the implanted mice were therefore excluded from the study before even experiencing the sleep-pairing protocol (criterion 2). During the sleep-pairing protocol, spikes of the selected place cell were paired with MFB stimulation during 1 h of sleep. Mice slept in their home cages, which were placed outside the exploring arena and surrounded by opaque paper. An experimenter stopped the online pairing when the animal spontaneously woke up (movements seen on real-time video and decrease of the delta band in the online spectrogram). Offline analysis confirmed that the stimulation train did not modify sleep spectrograms (Supplementary Fig. 2) nor the occurrence of SPW-Rs (Supplementary Fig. 4c). Mice experienced no place preference task before the sleep-pairing protocol.

Control wake-pairing protocol (using place cell activity). The nose-poke task used to quantify the rewarding effect of MFB stimulations was done several days before the sleep-pairing protocol. It was thus important to confirm that the MFB stimulation was still rewarding at the time of the experiment. Just after the sleep-pairing protocol, efficiency of rewarding stimulations was always evaluated during a control wake-pairing protocol. These control sessions were preceded by a period of free exploration of the environment (30 min) to induce full extinction of the putative memory trace. Two mice performed the protocol with unrewarding stimulation and were therefore excluded from the main analysis (exclusion criterion 3). All other variables for these two animals were identical otherwise (Supplementary Fig. 2).

Classical place preference task (manual stimulations in an area defined by experimenter). Seven animals experienced a classical place-reward association during free exploration of the arena during light phase (12:00–15:00) and five of them experienced an ulterior session (with a different rewarded location) during dark phase (00:00–03:00). Mouse position was tracked in real time with a video camera and rewarding stimulations were delivered when mice reached a pre-established area, covering around 5% of the total surface of exploration (Supplementary Fig. 8c,d).

Exclusion criteria for behavioral experiments. As previously mentioned, 4 implanted mice were excluded because MFB stimulations did not induce self-stimulating behavior in the nose-poke task (criterion 1), 24 because they did not fulfill the criteria for online spike sorting or PF properties (criterion 2), and 2 because they did not show any self-stimulating behavior in the control wake-pairing session following the sleep-pairing protocol (criterion 3; see “Quantification of place preference at the single-mouse level”).

Offline spike sorting. Extracted waveforms were sorted via a semiautomatic cluster cutting procedure using KlustaKwik²⁵ and Klusters²⁶ (<http://neurosuite.sourceforge.net/>). Recordings were visualized and processed using NeuroScope and NDManager (<http://neurosuite.sourceforge.net/>). Isolation distance was computed with parameters proposed by Schmitzer and colleagues²⁷. Since this measure depends on the number of channels, isolation measures were computed with only four of the recording channels and compared with recommended values (given for tetrode recordings). All neurons displayed isolation distance above 25 for the wake-pairing protocol and 42 for the sleep-pairing protocol, values considered as good isolation by Schmitzer and colleagues (mean isolation distance: 86 ± 23 , $n = 10$)²⁷.

Online spike detection triggering MFB stimulations. Since the seminal work by Fetzer and colleagues^{28–31}, closed-loop systems between neural activity and either reward or electrical stimulation have been used to induce learning or to study plasticity. Yet there is still no consensus regarding the most accurate method for online spike sorting. Spikes were detected online by a simple voltage threshold applied on one specific channel of a polytrode (signal filtered above 600 Hz, referenced to a local channel without spiking activity) by a custom program in Spike2 software. This threshold was manually adjusted to detect only the highest action potentials, and the use of hexa/octrodes instead of tetrodes enhanced the probability of being in this situation. Waveforms of the detected spikes, averaged online in Spike2, allowed us to distinguish narrow spikes (usually interneuron) from large ones coming from a putative pyramidal cell. The presence of complex spikes further supported an origin from a putative pyramidal cell, and a comparison of the waveforms of all channels observed online supported detection of only one neuron (later confirmed by offline clustering). The experimenter then checked, with help of a homemade Matlab program displaying a firing rate map (FM) in real time, whether the detected putative pyramidal neuron displayed a place field. When a place cell had been detected with a given threshold, this latter was then used to automatically trigger MFB stimulation through a brain-computer interface with a delay less than 2 ms. A refractory period of 1 s from train onset was added to prevent the induced electrical artifact from being detected when crossing the threshold, leading to further stimulation not related to real spiking activity.

The quality of the online spike sorting was confirmed by comparison with offline spike sorting in terms of sensitivity and specificity (Supplementary Fig. 5). On average, the online spike sorting system allowed the detection of $52.9 \pm 9.5\%$ of the spikes of a single pyramidal neuron as assessed by an offline spike sorting procedure, consistent with the proportion of complex spikes that do not reach the voltage threshold³². During a sleep session, all spikes detected online were followed by the stimulation. Yet in spite of the electrical artifact due to stimulations, spikes were still detected by offline spike sorting, showing that $43.2 \pm 10.9\%$ of spikes were followed by stimulations during the sleep-pairing protocol. Overall, this shows that the detection method is highly specific, with very few false-positive detections—our main objective—but with lower sensitivity, which was not a crucial factor for our experiment.

Electrophysiological and behavioral analysis. Analyses were performed with custom-made Matlab programs, based on generic code that can be downloaded at <http://www.battaglia.nl/computing/> and <http://fmatoolbox.sourceforge.net/>.

Occupancy maps. For each exploration session, spatial density of raw trajectories in the circular reachable area was computed, normalized and smoothed. Occupancy rates thus correspond to the ratio of session time spent at a particular bin (sum of all values distributed over bins equals 1). For PRE and POST sessions composed of four trials, the same results were obtained when averaging the four maps of the successive trials, as well as when computing the map of the concatenated trajectories from those trials.

Place field analysis. A place field (PF) was defined as an area with more than nine adjacent pixels displaying a firing rate above the mean firing rate of the neuron³³. The limits of the PF were then estimated by using the smoothed rate map corresponding to the area with a firing rate above 50% of the peak firing rate within the PF. To control for border effect due to our definition of the PF, behavioral analyses were also done in an increased area, referred to as “large place field,” done with the Matlab function “imdilata” (Supplementary Fig. 9a), as classically done in Morris water maze experiments³⁴.

Stability of the PF and efficiency of wake stimulations was determined by correlation analyses obtained by the bin-by-bin correlation coefficient between two different FMs or between FM and occupancy map. Partial correlation analyses were done with the function “partialcorr” in Matlab (Fig. 2e and Supplementary Fig. 7).

Behavior. Several measures were used to quantify exploration: time to enter the PF for the first time, cumulative distance defined as the instantaneous distance between the mouse position and PF center of mass, percentage of time spent within PF, and smoothed occupancy map obtained from raw trajectories. To quantify the learning effect of the pairing procedures, different normalizations were used to account for the different size of PFs: normalization by values in the PRE session or normalization by the PF size (Supplementary Fig. 9b). All comparisons between PRE and POST gave similar results when looking at ratios (POST/PRE) or differences (POST – PRE). Periods showing grooming behaviors were excluded from the analyses.

Quantification of place preference at the single-mouse level. For this quantification, we first computed the theoretical time spent in the PFs excepted by chance; that is, 10% of total exploration time spent in a PF representing 10% of the total reachable area (24 s out of 240 s corresponding to 4 trials lasting 60 s each). This was then compared to the observed proportion of time spent inside and outside the PF in the PRE session with a chi-squared test. This showed that exploration in PRE session was similar to that expected by chance. A similar chi-squared test comparison was done between PRE and POST session and between PRE and self-stimulating session in the control wake experiment. This latter analysis was used to exclude mice that did not show self-stimulating behavior in the control wake session (criterion 3).

We also computed a theoretical distribution of time spent in the PFs by using all trajectories of the PRE sessions (before any learning) taken from experiments in all protocols. As we analyzed only the first four trials in this study, one combination of four trials among the available PRE trials was assessed for each experiment. We computed the percentage of time spent in the five different PFs of the sleep protocol, for all obtained combinations except when the starting point was located within the selected PF ($n = 5,914$ values). This percentage was then normalized by the respective size of each PF and used to create the distribution corresponding to random exploration (Supplementary Fig. 6c).

Sleep scoring. To determine sleep periods, a 30-Hz camera placed 30 cm above the cage videotaped the mouse. Frame-by-frame image difference allowed determining sensitively the movements of the animal; the immobility threshold was set above respiratory movements. Sleep stages were determined by automatic *k*-means clustering of the theta/delta ratio extracted from the power spectrograms of hippocampal LFP signal during the episodes where the animal was immobile. REM sleep corresponded to high theta/delta ratio periods, SWS to low ratio periods.

Sharp-wave ripple detection. Offline ripple detection was performed by band-pass filtering (100–250 Hz), squaring and normalizing the field potential recorded in CA1 pyramidal layer. Ripples were defined as events peaking above 5 s.d. The beginning and end of a SPW-R were defined with a threshold of 3 s.d.

Peri-event histograms (PETHs) were calculated for the rate of spikes (in hertz) with reference to the deepest trough of all detected SPW-Rs. To compare the results between PETH centered to spike-triggered stimulation and PETH centered to SPW-Rs, a 5-ms jitter was added in the latter condition to account for the synchronization effect induced by the alignment of all ripples to the same phase, corresponding to the deepest trough (Supplementary Fig. 4g–i).

To detect the percentage of stimulation occurring during ripples, the same analysis was done on the 70 ms before the stimulation (after removing the stimulation artifact). The signal was filtered between 100 and 250 Hz, squared and normalized, and we used the threshold identified by 3 s.d. obtained on stimulation-free periods. Presence of ripples was confirmed when the root mean square remained above the threshold for at least the last 30 ms before the stimulations. Note that this method is likely to underestimate the number of stimulation occurring during ripples if the spikes triggering the stimulation occur at the very beginning of the ripples.

Statistical analysis. Statistical analyses were done by using Matlab (Statistical Toolbox) and Statistica. Because the data did not have a normal distribution, we used non-parametric tests.

Statistical analyses were done with Wilcoxon matched pairs tests on raw and normalized data (by PRE session values or relatively to the PF size). For comparison between different independent groups, we used the Mann-Whitney test. When multiple comparisons were present, *post hoc* group comparisons were always preceded by global analysis: Kruskal-Wallis test for unpaired protocols and Friedman test for paired protocols. In all graphics, error bars correspond to mean \pm s.e.m. and asterisks to *P* value (**P* < 0.05, ***P* < 0.01).

Statistical power is defined as the probability of rejecting the null hypothesis when it is in fact false and should be rejected. We computed the power analysis with a Wilcoxon match paired test, comparing five values taken from a control distribution to five values taken from two different cases of test distributions. In the first situation, the control situation corresponds to five values randomly chosen according to the probability density function displayed in **Supplementary Figure 6** (corresponding to performance related to five real trajectories obtained by the bootstrap procedure described in “Quantification of place preference at the single-mouse level”). Each time, those chosen values were compared to the real performance of the five mice after the sleep-pairing protocol. This was done 1,000 times and only 52 comparisons were not significant, leading to a statistical power of 0.948. In the second situation, the control situation was identical, but the test situation corresponded to a random sampling among a distribution with same mean and variance as the real performance values of the five mice after the sleep-pairing procedure. In that case, the statistical power was 0.798. Note that the same range of statistical power was obtained if we used a control distribution with the mean and variance of the real performance of our five mice during the PRE session (that is, before the sleep-pairing protocols). In this case, the statistical power obtained for the two situations were, respectively, 1 and 0.84. All the statistical powers of our analyses are in the range or above the 0.8 threshold classically used to define powerful statistics. Altogether, this shows that the statistical power of our analyses is strong enough to support the conclusion of our study.

For the evaluation of behavioral extinction of learning, we showed that all behavioral measures used (time spent within PF, cumulative distance, time to first entry) showed a statistical difference between PRE and POST session when considering the first two trials, but not for the last two trials. This observation suggests an extinction of the artificial association created earlier. Nevertheless, it is important to note that this is not a statistical proof. Indeed, the appropriate way to address this question is by testing interaction in a two-way ANOVA, and

it has been shown that other analyses can lead to erroneous interpretations³⁵. However, our data did not satisfy criteria for parametric tests and there is no consensus concerning a non-parametric test for interaction in a two-way experimental design. Although the effect was observed for all behavioral measures tested, we decided to limit our results interpretation as being consistent with classical extinction.

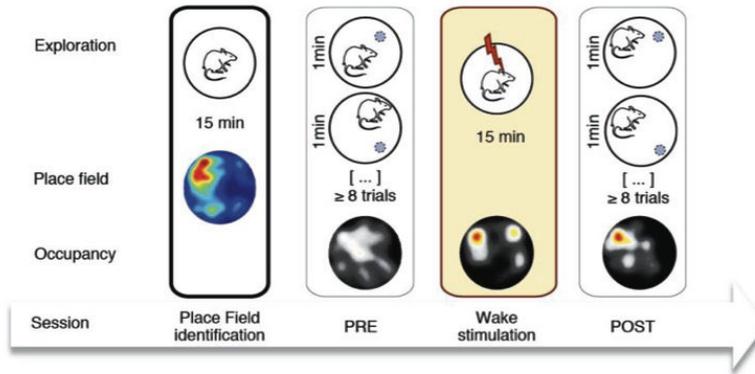
Histology. After completion of the experiments, mice were deeply anesthetized with ketamine/xylazine solution (10% /1%). With the electrodes left *in situ*, the animals were perfused transcardially with saline (~50 ml), followed by ~50 ml of PFA (4 g/100 mL). Brains were extracted and placed in PFA for postfixation for 24 h, transferred to PBS for at least 48 h, and then cut into 50- μ m-thick sections using a freezing microtome and mounted and stained with Cresyl violet. We then visually confirmed that recoding electrodes were implanted in the pyramidal layer of CA1 field and that stimulation electrodes reached the MFB.

A **Supplementary Methods Checklist** is available.

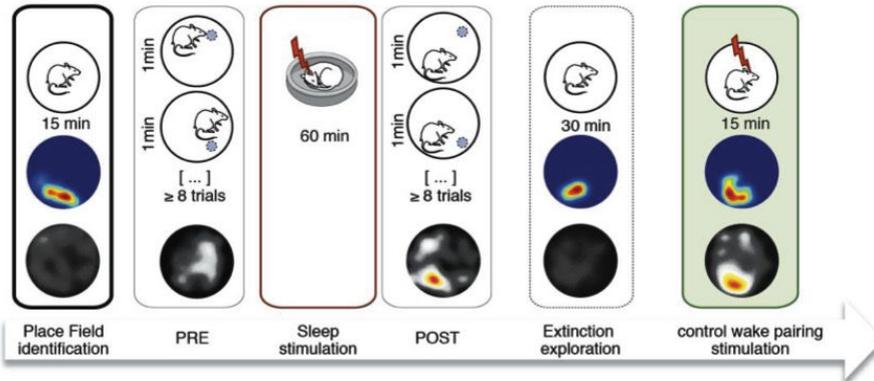
21. Carlezon, W.A. & Chartoff, E.H. *Nat. Protoc.* **2**, 2987–2995 (2007).
22. McNaughton, N. & Sedgwick, E.M. *Neuroscience* **3**, 629–632 (1978).
23. Paxinos, G. & Bindra, D. *Physiol. Behav.* **5**, 227–231 (1970).
24. O’Keefe, J. & Nadel, L. *The Hippocampus as a Cognitive Map* 1–570 (Oxford University Press, 1978).
25. Harris, K.D., Henze, D.A., Csicsvari, J., Hirase, H. & Buzsáki, G. *J. Neurophysiol.* **84**, 401–414 (2000).
26. Hazan, L., Zugaro, M.B. & Buzsáki, G. *J. Neurosci. Methods* **155**, 207–216 (2006).
27. Schmitzer-Torbert, N., Jackson, J., Henze, D., Harris, K. & Redish, A.D. *Neuroscience* **131**, 1–11 (2005).
28. Delgado, J.M.R., Johnston, V.S., Wallace, J.D. & Bradley, R.J. *Brain Res.* **22**, 347–362 (1970).
29. Shinkman, P.G., Bruce, C.J. & Pfingst, B.E. *Science* **184**, 1194–1196 (1974).
30. Fetz, E.E. & Finocchio, D.V. *Science* **174**, 431–435 (1971).
31. Jackson, A., Mavoori, J. & Fetz, E.E. *Nature* **444**, 56–60 (2006).
32. Harris, K.D., Hirase, H., Leinekugel, X., Henze, D.A. & Buzsáki, G. *Neuron* **32**, 141–149 (2001).
33. Muller, R.U., Kubie, J.L. & Ranck, J.B.J. *J. Neurosci.* **7**, 1935–1950 (1987).
34. Maei, H.R., Zaslavsky, K., Teixeira, C.M. & Frankland, P.W. *Front. Integr. Neurosci.* **3**, 4 (2009).
35. Nieuwenhuis, S., Forstmann, B.U. & Wagenmakers, E. *Nat. Neurosci.* **14**, 1105–1107 (2011).

III- Création d'une préférence de place durant le sommeil

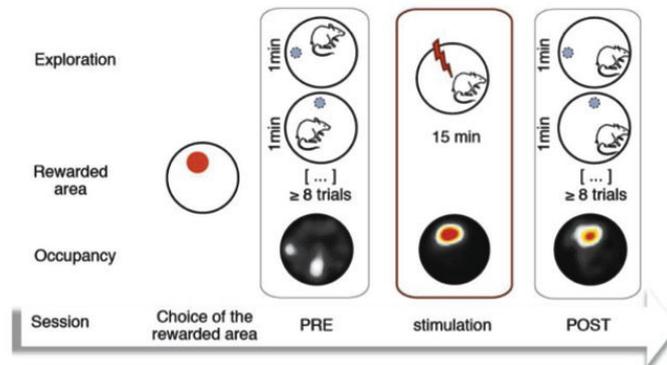
a Wake pairing protocol
(Place cell - stimulation pairing)



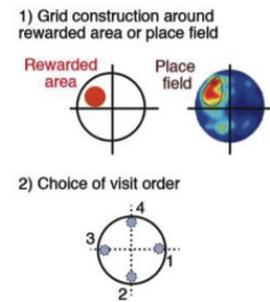
b Sleep pairing protocol, followed by control wake pairing
(Place cell - stimulation pairing)



c Classical Place preference
(stimulation paired with a place determined by experimenter)



d Choice of the 4 starting points

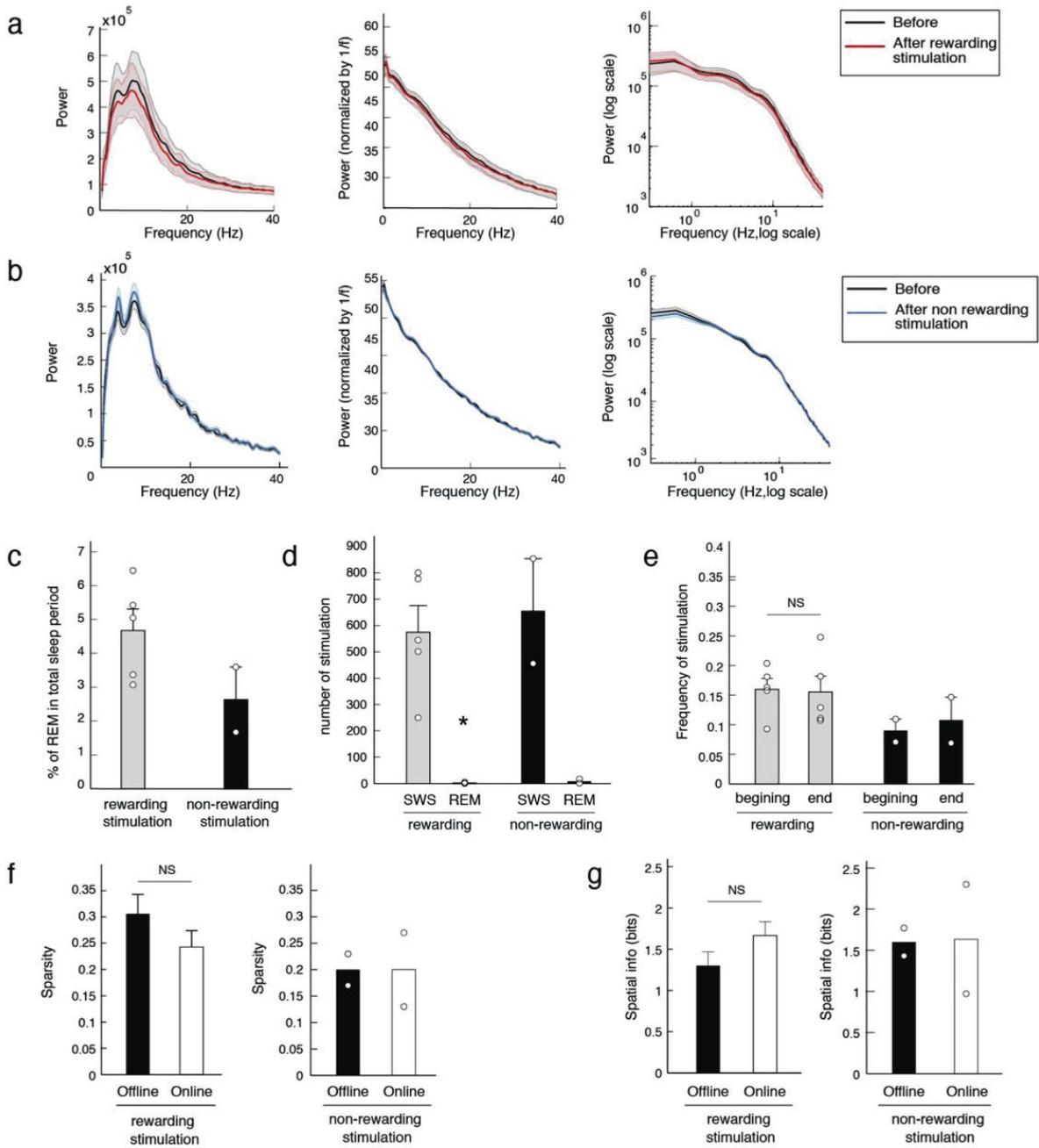


Supplementary Figure 1

The place preference tasks.

a. Wake pairing protocol. The paradigm consisted in four sessions: 1) free exploration and place field identification, 2) basal exploration (PRE), 3) 15 minutes exploration with pairing where online detected spikes of a given place cell triggered MFB stimulation, and 4) test exploration (POST). In PRE and POST session a minimum of eight 60s—trials with changing starting point (gray circles) is performed. Analyses were carried on the first 4 trials where animal was actively exploring. **b. Sleep pairing protocol.** As in panel **a**, the sleep protocol is composed of the same four sessions except that spike—stimulation pairing is performed during 1h of sleep. This protocol was always followed by free exploration to erase the learning (extinction exploration) and a control wake pairing. **c. Classical Place preference task.** Mouse position was tracked in real time with a video camera during a session lasting 15 minutes. Rewarding stimulations were then delivered when mice reached a pre—established area, covering around 5% of the total surface of exploration. This stimulation phase was preceded by a basal exploration (PRE) and followed by a probe exploration (POST) as described in panel **a**. **d.** Method for the choice of the 4 starting points used in PRE and POST sessions of all place preference paradigms.

III- Création d'une préférence de place durant le sommeil



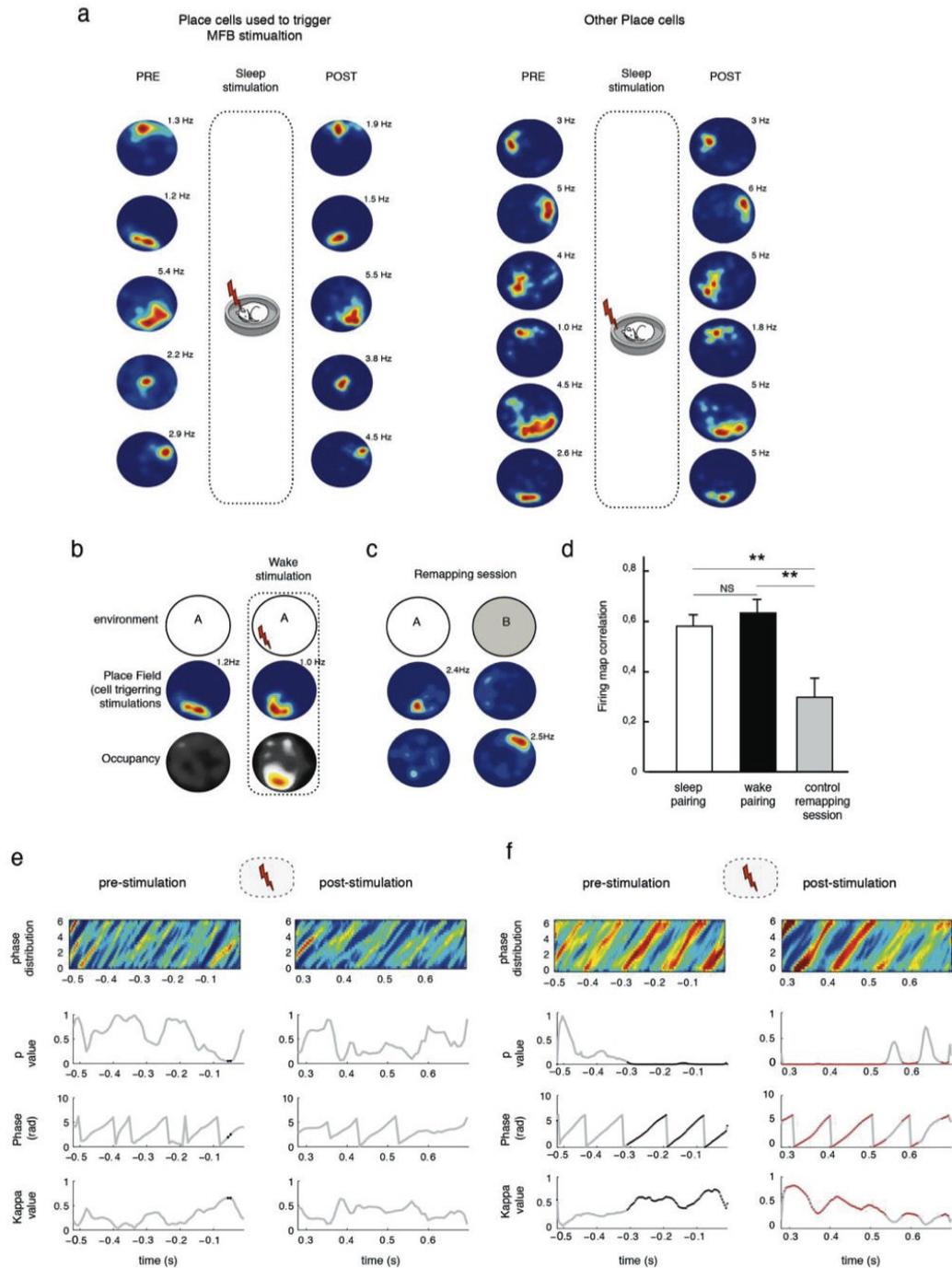
Supplementary Figure 2

Characteristics of sleep pairing sessions with rewarding and non-rewarding MFB stimulations, showing similar properties and absence of sleep perturbation.

a—b. Power spectrum averaged on 3s—period before MFB stimulations train (black), and on 3s period (starting 1s after stimulation train onset to avoid electrical artifact) after rewarding stimulation (**a**, red) or non—rewarding stimulation (**b**, blue) during sleep pairing sessions. From left to right: row power spectrum, spectrum normalized by $1/f$ and log scaled power spectrum. Colored areas represent SEM. **c.** Percentage of time spent in REM during the total sleep period of the sleep pairing experiment, with either rewarding (grey, $n=5$) or non—rewarding (black, $n=2$) stimulations. **d.** Number of stimulation in SWS and REM (Wilcoxon matched pairs test, rewarding condition, $n=5$, $Z=2.02$, $P=0.043$). **e.** Frequency of rewarding and non—rewarding stimulations during the first 10min (beginning) and the last 10min (end) of the sleep pairing sessions (Wilcoxon matched pairs test, rewarding condition, $n=5$, $Z=0.13$, $P=0.89$). This shows that the number of place cell—triggered stimulations is not modified along the pairing protocol, excluding an operant conditioning of the neurons. **f—g.** Sparsity (**f**) and spatial information (**g**) of online and offline detected place cells used to trigger rewarding or non—rewarding stimulations, in sleep and wake—pairing protocols. Wilcoxon matched pairs test, rewarding condition, $n=10$, **f:** $Z=1.58$, $P=0.11$; **g:** $Z=1.27$, $P=0.20$.

* $P < 0.05$, NS: non significant. Error bars indicate SEM.

III- Création d'une préférence de place durant le sommeil



Supplementary Figure 3

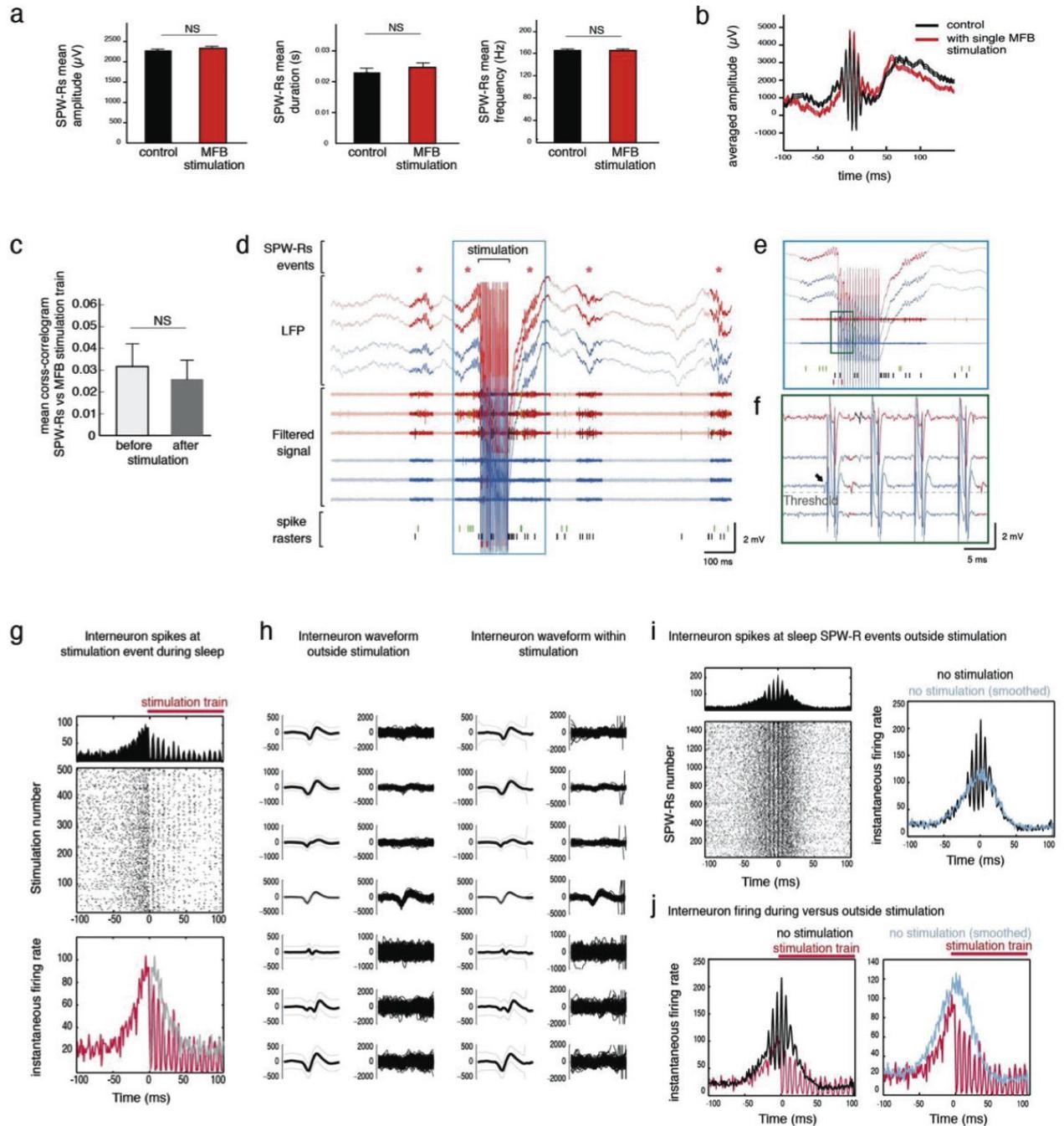
Place cells activity and theta oscillations remain stable after MFB stimulations.

a. Place fields of all online detected place cells used to trigger stimulation during sleep (left), and of all other simultaneously recorded place cells (right), during exploration of the same environment before (PRE) or after (POST) the sleep pairing protocol. Color scale indicates firing rate, maximum being indicated above the map. **b.** Firing map and occupancy map before and during the control wake pairing protocol. **c.** Exploration sessions with classical remapping of place cells when the mouse explores two different environments. **d.** Quantification of place field stability by correlation analyses in the three situations shown in panels **a—c**: Sleep pairing: correlation of firing maps obtained in exploration sessions performed before and after the sleep—pairing procedure (panel **a**); Wake pairing: correlation of firing maps obtained before and during the wake—pairing procedure (panel **b**); Control remapping session: correlation of firing maps obtained in two different environments (panel **c**). (Mann & Whitney, Sleep—pairing session vs. Control remapping session, $n=11$, $n=5$, $Z=2.77$, $P=0.005$; Wake Pairing session vs. Control remapping session $n=10$, $n=5$, $Z=2.59$, $P=0.0094$; Sleep Pairing session vs. Wake Pairing session $n=11$, $n=10$, $Z=0.53$, $P=0.59$). ** $P < 0.01$, NS: non significant.

e—f. Instantaneous phase distribution of theta filtered LFP 500ms before MFB stimulations trains and 500ms after stimulation artifacts, with stimulation either triggered manually during the classical place preference (**e**) or by a theta modulated place cell during wake—pairing protocol (**f**). For phase and kappa value, black and red dots indicate a significant locking of the phase (different from random phase distribution). The p value corresponds to the statistical difference between the observed distribution of the phases of the LFP filtered in the Theta band before and after the stimulation and a uniform circular distribution.

These panels show that in our conditions, MFB stimulation did not modify theta oscillations during exploration. This is an important control since stimulations in the hypothalamic region can drive (or reset) theta oscillations^{22,23}. Also MFB stimulation delivered either during sleep— or wake—pairing protocols, induced no modification of the place fields' properties, as correlations were significantly higher compared to an additional session where mice are placed in two different environments causing place cells remapping. Finally, these panels must be related to the main result of the paper: rewarding stimulations triggered by spikes of a place cell could induce place preference (Fig. 2a), further supporting the absence of modification of place fields by MFB stimulations as previously observe by Kobayashi and colleagues²⁴.

III- Création d'une préférence de place durant le sommeil



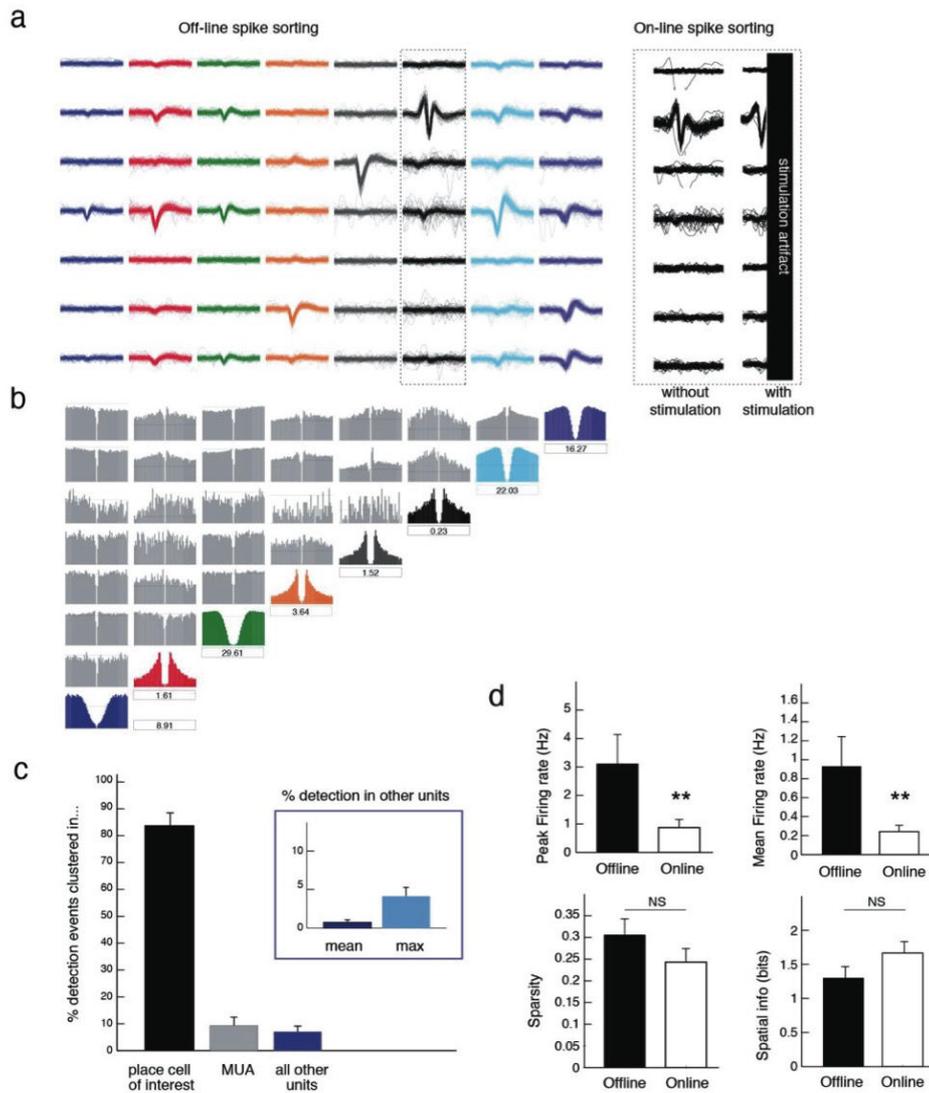
Supplementary Figure 4

MFB stimulation does not alter sleep sharp-wave ripples (SPW-Rs), nor associated neuronal activity.

a. Sleep SPW—Rs mean amplitude, duration and frequency with co—occurrence of a single MFB stimulation (red) or without (black). Wilcoxon matched pairs test, SPW—Rs with stimulation: n=35, SPW—Rs without stimulation: n=41; Amplitude, $Z=1.20$, $P=0.30$, Duration: $Z=1.20$, $P=0.22$, Frequency: $Z=0.98$, $P=0.31$. **b.** Averaged hippocampal LFP at time of SPW—Rs with concomitant single MFB stimulation after removal of the stimulation artifact (red) or without (black). **c.** Cross—correlogram between SPW—Rs and MFB Stimulation train, averaged on 3s before or after stimulation (Wilcoxon matched pairs test, n=5, $Z=1.21$, $P=0.22$). **d.** Representative recording period of selected channels from two stereotrodes (red and blue) within hippocampal pyramidal layer during a train of MFB stimulation. From top to bottom: Raw data, filtered signal (> 600 Hz) with colored spikes and raster plot of offline—clustered neurons. Red stars indicate SPW—R events. The MFB stimulation train does not preclude burst of ripples classically observed. **e.** High magnification of the stimulation train. Ripple—related spiking activity is not affected by MFB stimulation train as assessed by the presence of the interneuron's spikes (black raster) during the stimulation train. **f.** Higher magnification within the stimulation train. Note the presence of the spike crossing the threshold (dashed line) that triggered the MFB stimulation train (black arrow, spike could not be clustered offline due to stimulation artifact) and during the stimulation train (red spikes on blue traces).

g. Top: PETH centered on the start of MFB stimulation train (red bar) and spikes raster plot of the interneuron displayed in black in the raster shown in panel **d**. Bottom: Same PETH superimposed with the symmetric trace of the pre— stimulation train period (grey). **h.** Mean \pm —SEM (left) and superimposition of waveforms (right) of the same interneuron's spikes on seven channels of an octrode, during sleep outside (left panel) or within (right panel) train of MFB stimulation. **i.** Left: SPW—Rs centered PETH and raster of the same interneuron spikes during sleep without MFB stimulation. Right: same PETH without (black) or with an additional jitter that smoothes oscillating firing during SPW—Rs (blue). **j.** Superimposition of the raw (left panel, black) or smoothed (right panel, blue) SPW—Rs centered PETH (as in panel **i**) to the stimulation centered PETH (as in panel **g**, red).

NS: non significant. Error bars indicate SEM.



Supplementary Figure 5

Offline spike sorting and online spike detection.

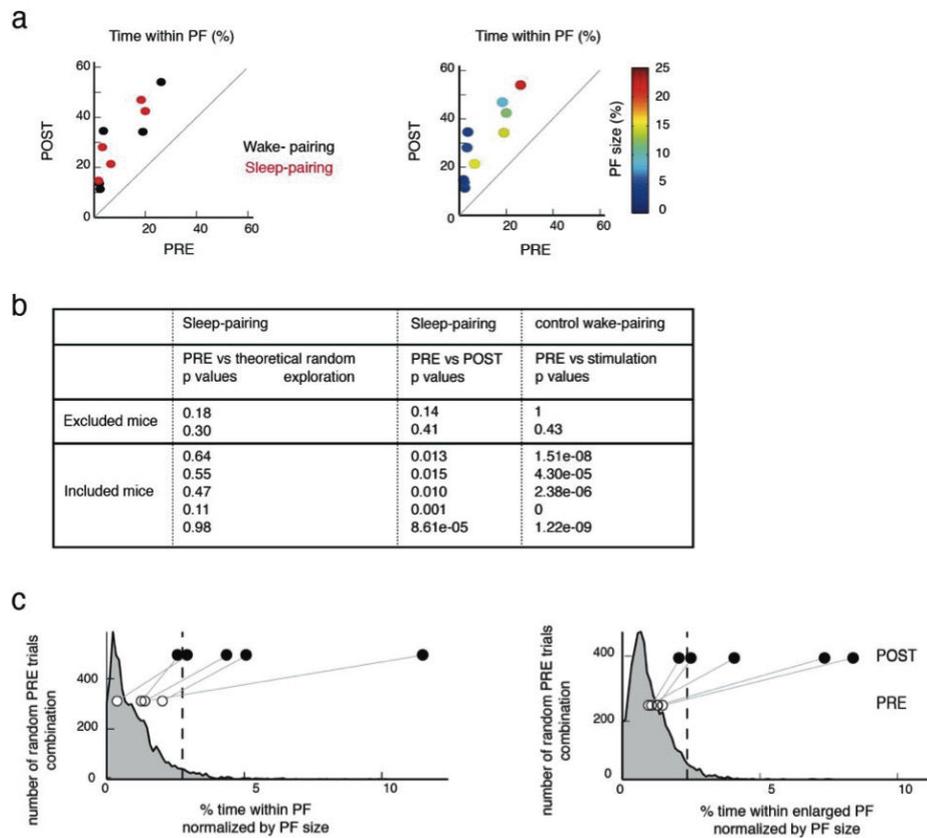
a. Comparison between offline clustering and online voltage threshold—based spike sorting. Each column corresponds to the respective waveforms of eight hippocampal neurons recorded from one stereotrode and isolated by offline automatic clustering. The dashed squares emphasize that spikes detected online correspond to the black waveform without ambiguity. MFB stimulation automatically triggered by spike detection causes an electrical artifact that prevents the recording of the end of the waveform. **b.** Cross—correlograms (grey) and autocorrelograms (color) of the same eight neurons as in panel a. Mean firing rates (Hz) are indicated underneath each autocorrelogram. **c.** Specificity quantification of online spike sorting compared to offline clustering for all

Résultats

pairing protocols (sleep and wake). Percentage of detected events categorized into a unique cluster corresponding to the selected place cell (black), into multi-unit activity (MUA, grey), or into other (erroneous) clusters (blue). Insert: detail analysis of clusters containing misassigned spikes. For all sessions: mean percentage of detected spikes in each erroneous cluster and maximum percentage of detected spikes found over all erroneous clusters. Note that among all spikes detected online, offline clustering shows that 80% of them belonged to the cluster of the place cell of interest whereas less than 10% were clustered into multi-unit activity. Multi-unit cluster mostly corresponds to the spikes of the place cell of interest, to very few noisy signal and spikes of other units. For all recording sessions, on average, 1% of the detection events corresponded to other clustered cells. For each animal, the cluster with the maximum of misassigned spikes represented on average 5% of all detected events, meaning that a maximum of 5% of the MFB stimulations were paired to a different neuron. **d.** Characterization of the cells used in the pairing protocols ($n=10$) when detected online versus clustered offline in terms of firing rate (Wilcoxon matched pairs test, $n=10$, $Z=2.8$, $P=0.005$), sparsity (Wilcoxon matched pairs test, $Z=1.58$, $P=0.11$) and spatial information (Wilcoxon matched pairs test, $Z=1.27$, $P=0.20$). Note that sparsity and spatial information were similar for the place cells detected with online and offline methods, whereas there is a decrease in peak and mean firing rate obtained with the online method, consistent with the absence of detection of lower spikes during burst of complex spikes cells. Mean correlation between firing maps for online and offline detected spikes was 0.80 ± 0.12 .

** $P < 0.01$, NS: non significant.

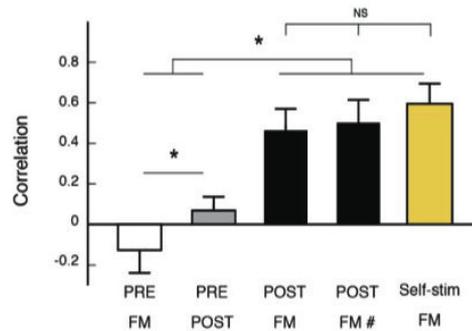
III- Création d'une préférence de place durant le sommeil



Supplementary Figure 6

Additional statistical quantification of the place preference induced by the sleep-pairing protocol.

a. Left. Correlation between PRE and POST sessions of sleep—pairing ($n=5$, red dots) or wake—pairing ($n=5$, black dots) protocols, in term of percentages of time spent in PF. Note that POST values are always bigger than PRE. Right. Correlation between PRE and POST sessions of the same sleep— and wake—pairing experiments, color scale corresponds to the percentage of the exploring area occupied by the PF. **b.** Table with exhaustive Khi2 proportion comparison between proportion of time spent inside and outside the place fields (PF) in PRE and POST session of sleep—pairing protocol (2nd column) or between PRE and stimulation sessions of the control wake—pairing protocol (3rd column), see Figure 3c for bar representation. First column corresponds to the comparison between proportion of time spent in the PF in PRE session of sleep—pairing protocol and the theoretical proportion of time spent in the PF according to PF size in case of random exploration (see Online Methods for details). On the basis of the significance in 3rd column, animals were either included ($n=5$) or excluded ($n=2$), see exclusion criterion 3. **c.** Distribution of percentage of time spent in PF (normalized by PF size) for random combination of 4 trials (out of 8) obtained from PRE sessions of all protocols (sleep—pairing protocol, wake—pairing protocol and classical place preference). Grey area represents the generated distribution, with the values of PRE sessions (white dots) and POST sessions (black dots) of the sleep—pairing protocol displayed on top of it. Dotted line represented the 95th percentile. Four of the 5 mice of the sleep—pairing protocol stood in the 5% extreme part of the distribution (the last one was at the 93th percentile). Left. Distribution computed by using time spent in PF, not significantly different from a homogenous exploration of the environment (see Online Methods), for which the normalized value is 1 (student t test, $n=5914$, $P=0.47$). Right. Same result is obtained by using time spent in the enlarged PF (student t test, $n=5914$, $P=0.96$).

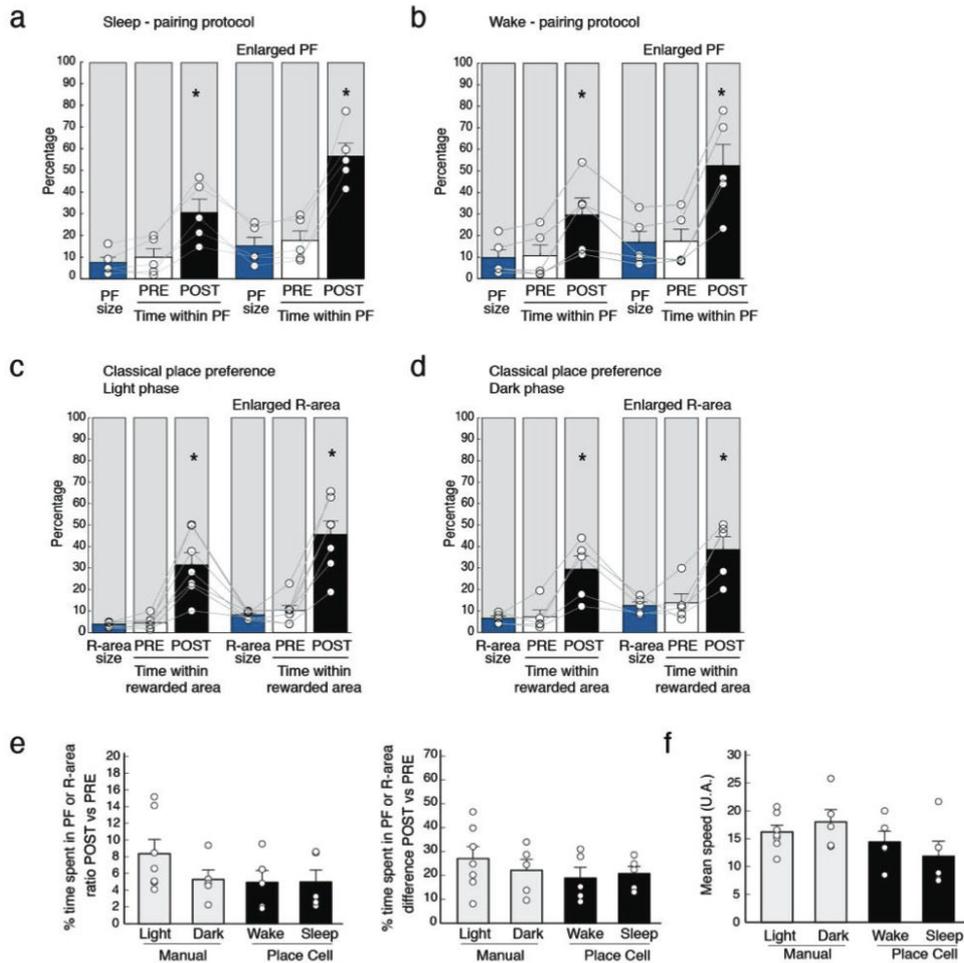


Supplementary Figure 7

Partial correlations of occupancy and firing map before, during and after wake-pairing protocol.

Correlation of occupancy maps in PRE versus POST wake pairing session (grey), or correlation between detected place cell's firing map (FM) and occupancy map in PRE and POST wake pairing session, or during wake pairing (self—stim) sessions (Friedman test, $\chi^2=16.16$ ($n=5, df=4$) $*P=0.0023$). Correlation with FM is increased during POST ($n=5$, correlation PRE/FM vs. POST/FM, Wilcoxon matched pairs test, $Z=2.02$, $*P=0.043$, correlation PRE/POST vs. POST/FM, Wilcoxon matched pairs test, $Z=2.02$, $*P=0.043$, correlation PRE/FM vs. PRE/POST, Wilcoxon matched pairs test, $Z=2.02$, $*P=0.043$). Same results were observed with partial correlation (#) between POST occupancy map and FM when corrected by PRE occupancy map ($n=5$, correlation PRE/FM vs. POST/FM corrected from PRE Wilcoxon matched pairs test, $Z=2.02$, $*P=0.043$, correlation POST/FM vs. POST/FM corrected from PRE, Wilcoxon matched pairs test, $Z=1.21$, $P=0.22$). Interestingly, this positive correlation is comparable to the one seen during the control wake—pairing session, where the mouse is actually self—stimulating (yellow, as in fig.2e) (PRE/FM vs. self—stim/FM: Wilcoxon matched pairs test, $Z=2.02$, $*P=0.043$, POST/FM vs. self—stim/FM, Wilcoxon matched pairs test, $Z=1.21$, $P=0.22$, self—stim/FM vs. POST/FM corrected from PRE Wilcoxon matched pairs test, $Z=0.13$, $P=0.89$). Note the absence of correlation in PRE sessions excluding a bias of behavior induced by arena properties. NS: not significant.

III- Création d'une préférence de place durant le sommeil

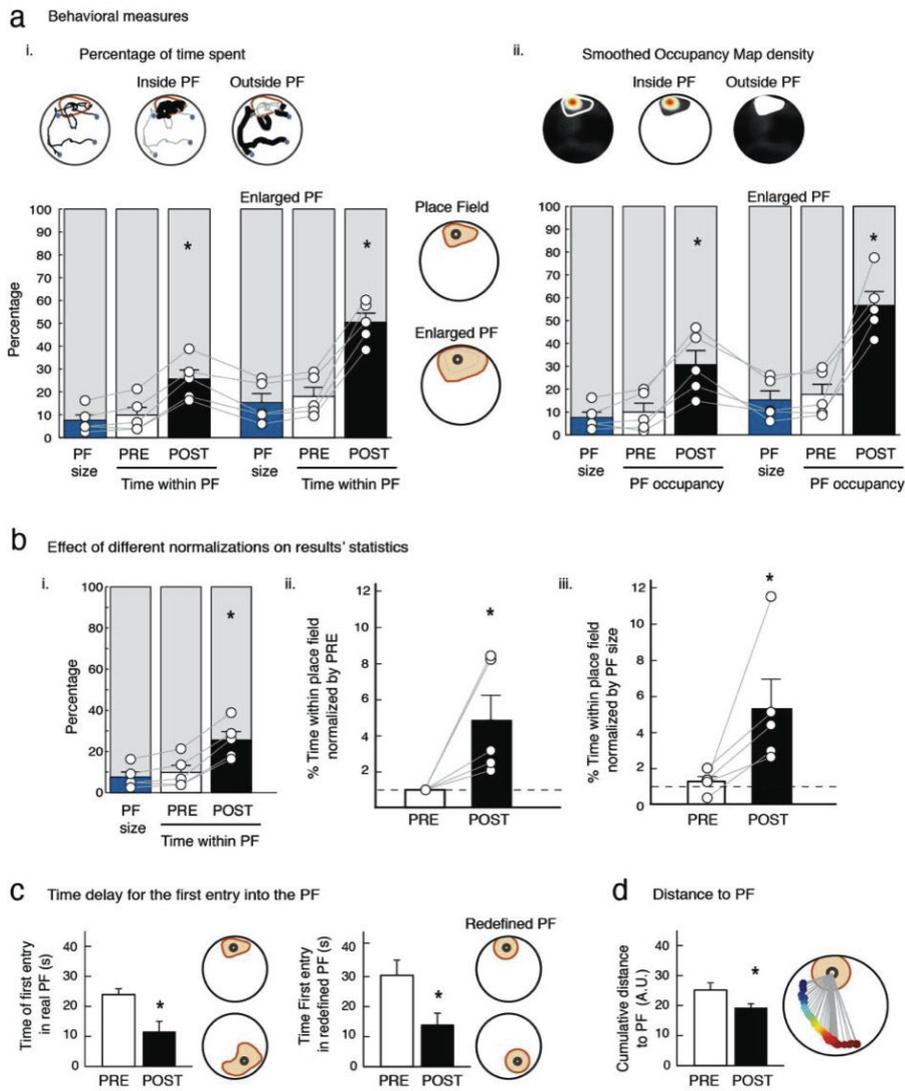


Supplementary Figure 8

Comparison between place preference tasks in all configurations and effect of the circadian rhythm.

a—b. Percentage of time spent within normal place field (left) or enlarged place field (right) in PRE and POST sessions of the sleep—pairing protocol (a, 12:00—15:00, n=5) or the wake—pairing protocol (b, 12:00—15:00, n=5). **c—d.** Percentage of time spent within rewarded area (R—area, left) or enlarged R—area (right) in PRE and POST sessions of the classical place preference using manual stimulation, induced either during the light phase (**c**, 12:00—15:00, n=7) or the dark phase (**d**, 0:00—3:00, n=5) of the day. Panels **a** to **d**, Wilcoxon matched pairs test, all comparison PRE vs. POST, **a—b,d**: n=5, Z=2.02, P=0.043; **c**: n=7, Z=2.37, P=0.018. *P < 0.05.

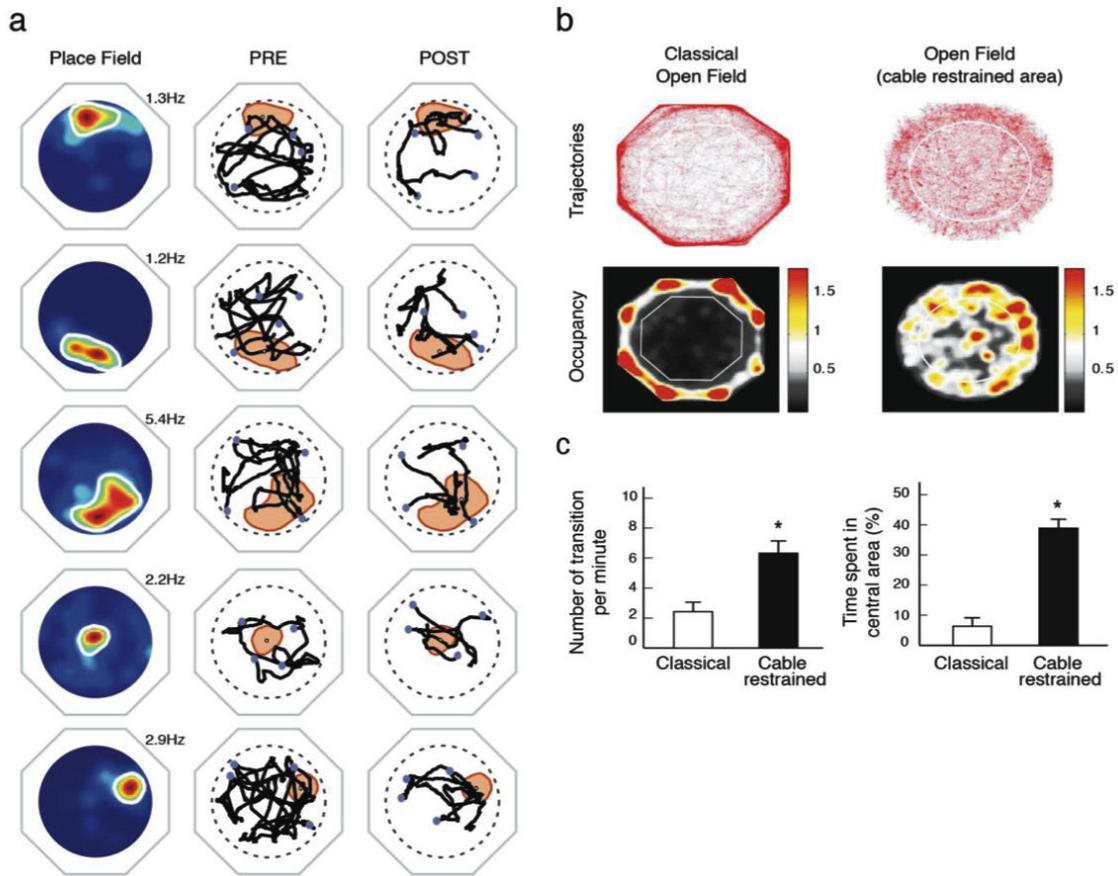
e—f. Comparison of mouse behavior between place cell—stimulation pairing during sleep or wakefulness, with classical place preference (manual place—stimulation pairing) during light or dark phase for different parameters: **e.** Percentage of time spent in place field or rewarded area (R—area) in the POST session normalized by the PRE session, expressed either as a ratio POST/PRE (left, Kruskal Wallis, H(3,22)=3.27, P=0.35) or as a difference POST—PRE (right, Kruskal Wallis, H(3,22)=1.40, P=0.70). **f.** Mean running speed averaged in the different protocols (Kruskal Wallis, H(3,22)=4.279, P=0.23).



Supplementary Figure 9

Quantification of behavioral measures expressed in the sleep-pairing protocol ($n = 5$) and normalization methods.

a. Effect of the definition of the place field (PF). Percentage of time spent in PF (i) and density of occupation inside PF (ii) where “enlarged PF” corresponds to the PF artificially enlarged by the Matlab function imdilate. **b.** Time spent in PF during PRE and POST session, either not normalized (i, as in panel a), normalized by the time spent in PF during PRE (ii), or normalized by the PF size (iii). **c.** Time of first entry into PF in real place fields and in area of standardized size surrounding the center of PF. **d.** Cumulative distance to PF. **a—d,** Wilcoxon matched pairs test, all comparison PRE vs. POST, $n=5$, $Z=2.02$, $P=0.043$. * $P < 0.05$.



Supplementary Figure 10

Fine characterization of mouse behavior during experiments

Left. Raw trajectories before and after sleep learning

a. Left Column. Firing map with delimited place fields (white line) and maximum firing rate (Hz, red) of the detected place cells. Middle and Right columns. Trajectories during the 4 trials from PRE and POST sessions of the sleep pairing protocol for the five included mice. Blue dots correspond to starting points of each trial. Red areas correspond to place fields used for analysis.

Right. Homogenous exploratory behavior with cable—restrained method

b. Trajectories (up) and mean occupancy maps (bottom) exploration (30 minutes) in an octagonal classical open field (left) and in the same open field (identical shape and external clues) where exploration is restricted by the recording cable length (right). White lines represent central area, corresponding to 50% of the total reachable surface of the environment. **c.** Number of transitions per minute between central and external area (Wilcoxon matched pairs test, $n=6$, $Z=2.20$, $P=0.027$), and percentage of time spent within the central area (Wilcoxon matched pairs test, $n=6$, $Z=2.20$, $P=0.027$) over 30min—exploration in classical open field (white) versus cable—restrained exploration (black). Error bars indicate SEM.

III-2 Le sommeil : un outil pour comprendre la mémoire (Revue publiée)

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Current Opinion in
Neurobiology

From necessity to sufficiency in memory research: when sleep helps to understand wake experiences

Marie Masako Lacroix^{*}, Gaetan De Lavilléon^{*} and Karim Benchenane



Memory is the ability to adapt our behavior by using the stored information, previously encoded. The first investigations of the neuronal bases of the memory trace concerned its properties (location, cellular and molecular mechanisms, among others). However, to understand how this is achieved at the scale of neurons, we must provide evidence about the necessity of a neuronal subpopulation to support the memory trace, but also its sufficiency. Here, we will present past and recent studies that provide information about the neuronal nature of memories. We will show that research on sleep, when cells assembly supposedly carrying information from the past are replayed, could also provide valuable information about the memory processes at stake during wake.

Address

Team Memory, Oscillations and Brain states (MOBs), Brain Plasticity Unit, CNRS UMR 8249, Ecole Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles de la Ville de Paris - ParisTech, Paris, France

Corresponding author: Benchenane, Karim
(karim.benchenane@espci.fr, benchenane.karim@gmail.com)
^{*} Both authors contributed equally.

Current Opinion in Neurobiology 2015, 35:156–162

This review comes from a themed issue on **Circuit plasticity and memory**

Edited by **Thomas Mrcsic-Flogel** and **Alessandro Treves**

For a complete overview see the [Issue](#) and the [Editorial](#)

Available online 14th September 2015

<http://dx.doi.org/10.1016/j.conb.2015.08.009>

0959-4388/© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Memory is supported by the experience-induced modifications in our brain that can be accessed later and used to adapt our behavior. Semon first proposed that memory was supported by an 'engram' (cited in [1]), corresponding to the dynamic changes made to the brain that enable the storage of one memory. Hebb further proposed that modification of the synaptic connection between neurons supports memory formation and that the engram relies on the ensemble of mono-synaptically connected neurons (called cell assembly) associated with an experience [2]. As mentioned by Yadin Dudai, the term engram is often used interchangeably with memory trace [3].

Declarative/explicit versus non-declarative/implicit memory

The seminal study of patient HM provided evidence for the existence of several forms of memory: declarative/explicit knowledge relies on hippocampus integrity while non-declarative/implicit one does not [4,5]. Declarative/explicit memory has been defined as a capacity to verbally report specific past experiences or factual knowledge, corresponding respectively to episodic and semantic memory. In both cases, a conscious explicit recall is needed to be qualified as declarative. By contrast, non-declarative or implicit memory does not necessitate these conscious processes.

In order to study declarative-like memory in rodents, researchers have developed different tasks during which rodents' behavior is supposed to be indicative of their knowledge about the world or their past experience. Importantly, the task must not be solvable by using automatic behavior relying on non-declarative memory and should be solved by a goal-directed strategy. According to Dickinson and Balleine, an action is goal-directed if its performance is controlled by the representation of both the contingency between the action and the outcome, and the representation of the outcome as a goal [6]. The standard way of determining the goal dependency of an action is to conduct an outcome devaluation test or a modification of the action–outcome contingency. Moreover, animal models of declarative memory should be, as in human, sensitive to hippocampal lesions while non-declarative memory should be spared.

The two most widely used tasks in memory research are the Morris water maze in which rodents must find an invisible platform by using external cues and the contextual fear conditioning where foot-shocks are delivered in a given spatial context. Importantly, a double dissociation similar to what observed in humans has been observed in rodents [7,8]. Based on these tasks (and others) it was shown that the hippocampus is involved in spatial memory relying on the use of external cues (allocentric). O'Keefe and Nadel proposed the concept of the hippocampus-dependent cognitive map after the discovery of place cells, hippocampal neurons that fire when the animal is in a given part of an environment [9]. Yet, a place cell could fire in different environments (a phenomenon called remapping) and the precise localization in different environments is encoded by a given correlation pattern at the population level [10].

Even if the formation mechanism of place cells is still debated [11,12] and not fully understood [13^{*}], their existence allows researchers to work with a neuronal index of the memorization of a given spatial context. First of all, the spatial information given by place cells is so strong that it can predict the precise location of the animal in an environment [14]. Moreover, place cells are rapidly formed after the animal is released in a new environment [15] and remain stable for months [16] (but see [17]). Finally, their stability is perturbed by a lot of factors known to affect spatial memory and long-term potentiation (LTP) [18].

Immediate early genes: a powerful tool to manipulate the engram

In order to address the bases of memory at the neuronal level and demonstrate that a particular neuronal population has a causal role in the engram, two main issues need to be addressed: *necessity*, that is, suppressing this population should erase the memory trace, and *sufficiency*, that is, activation of this population can substitute to the real learned experience to induce similar recall (described as mimicry procedure in [19,20]). Interestingly both spatial memory and hippocampal LTP rely on new protein synthesis and are associated with the induction of the so-called immediate-early genes (IEGs) such as c-fos. Their expression can be used to locate the brain structures where memory processes/synaptic plasticity has occurred [21] or to drive the expression of proteins allowing the selective manipulation of the neuronal sub-population involved in memory.

Suppressing the engram (necessity)

The first evidence for the functional identification and manipulation of a subpopulation, supposedly linked to the engram, has been done by over-expressing CREB (a transcription factor involved in the induction of IEGs) in a random population of amygdala neurons and by showing that this population was selectively recruited during subsequent fear conditioning [22]. Then the authors showed that the selective destruction of this neuronal population disrupted the memory of the previously learned association while preserving the learning of a new one [23].

Activating the engram (sufficiency)

This experiment showed the necessity of the identified population related to the memory trace to support recall, but not its sufficiency. Could the activation of a particular neuronal population induce a memory-like experience? The proof of concept was obtained a long time ago by Wilder Penfield that used intracranial electrical stimulation in conscious patients and observed that it sometimes induced vivid recollection of past events [24]. In 1990, Gloor, inspired by the concept of cell assemblies corresponding to a particular correlation pattern across distributed connected neurons, suggested that electrical stimulations ‘*may be able to recreate a specific matrix that*

may be similar or identical to that normally encoding a natural experience’. This ‘reactivation’ relies on the possibility ‘*that the information flow from sensory areas to association cortex and to limbic structures can be reciprocated by connections going in the reverse direction*’ [25]. This hypothesis written almost 30 years ago remains highly actual. Yet if these studies show that memory-like experiences can be artificially induced, are we capable to induce a pre-determined memory-like experience?

Labeling the fear conditioning experience (shock + context)

Two groups further investigate the sufficiency by using a time restricted c-fos-driven neuronal expression of optogenetic and pharmacogenetic tools [26^{**},27]. In one of these studies, Tonegawa’s group showed that tagging the c-fos-positive DG neurons activated only during context fear conditioning (thereafter called c-fos^{+CXT+SHOCK}) and reactivating them in a neutral context with ChR2 was sufficient to induce freezing behavior [28^{**}]. Therefore activating directly the neuronal engram leads to the same behavior than re-placing the mouse in the context where real learning occurred. In this experiment though, the labeled engram consists either in the memory of the context, the shock or the context/shock association (see [29^{*}] for a discussion about the complex notion of context).

Labeling the (spatial) context

Further studies tried to disentangle the multi-component nature of the engram and focused on its spatial context component. The c-fos⁺ neurons were tagged in a neutral context N (c-fos^{+CTX-N} neurons) and shocks were delivered in a second context S (for shock), with simultaneous activation of c-fos^{+CTX-N} neurons. This was done for the c-fos neurons of the whole brain with pharmacogenetic activation in Garner’s study and in the sole dentate gyrus (DG) with ChR2-related optogenetic activation in Ramirez’s study [26^{**},30^{**}]. In the first study, mice displayed freezing in the context S, only when c-fos^{+CTX-N} neurons were also pharmacogenetically reactivated, but not in the context N. It shows the generation of a synthetic context memory trace, constituted of a mixture between the engram endogenously activated by the context S and the engram related to context N artificially activated [30^{**}]. On the contrary, in the latter study, mice froze in the sole context N, demonstrating that the artificial engram of context N had been indeed associated with the foot-shock and that its natural reactivation alone was sufficient to induce recall [30^{**}].

Remaining questions

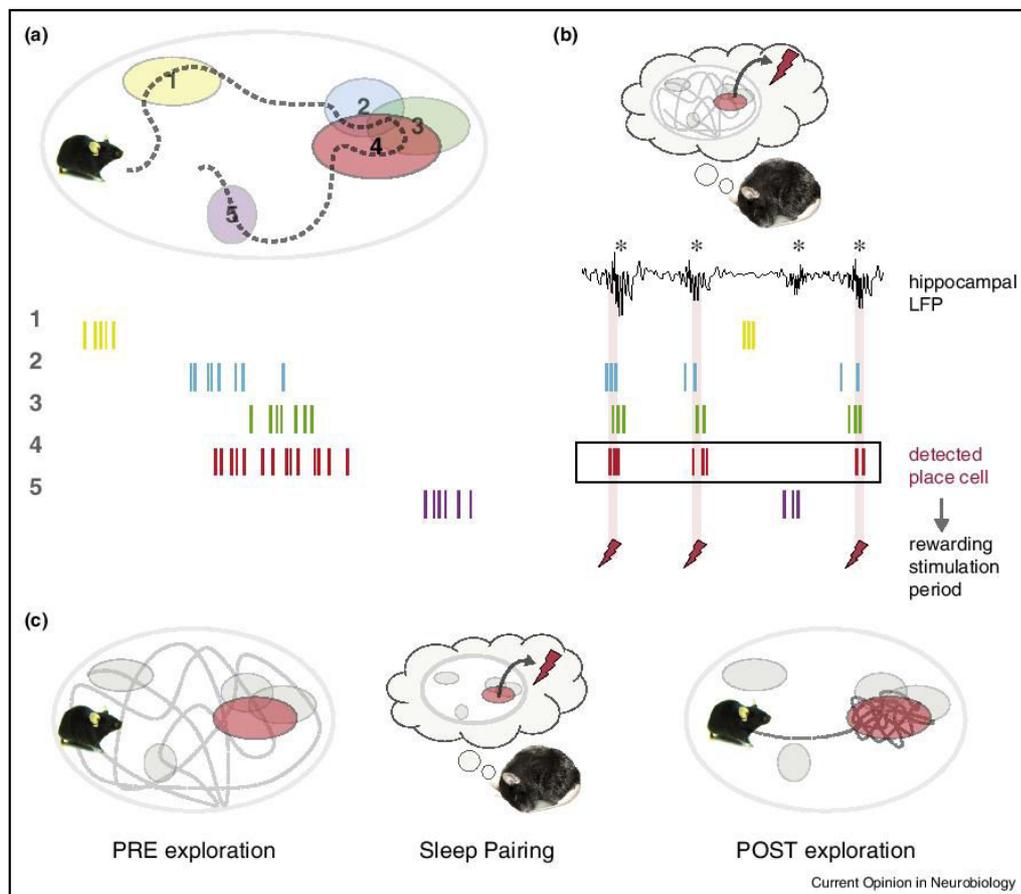
These experiments provide invaluable evidence of the neuronal bases of the memory trace at the neuronal population level. They also raise important questions. First of all, whereas the selective suppression of c-fos^{+CXT+SHOCK} neurons in CA1 suppressed the recall in the same fear conditioning context [31], the sole

activation of $c\text{-fos}^{CTX}$ neurons in CA1 (at 20 Hz) failed to induce any recall [30**]. This was surprising given the importance of this subfield in contextual fear conditioning and more generally in spatial memory [32,33]. Secondly, it is unclear how the synchronous activation of all $c\text{-fos}^{CTX}$ hippocampal neurons in a given subfield will be processed by the brain. Indeed, in CA1 as well as in DG, neurons mostly behave as place cells. This optogenetical activation would thus correspond to the situation of the animal being at all locations at the same time and to a perturbation of the

hippocampal population code, which relies on some place cells being activated when the animal is in the related place field while the other place cells are silent. However this population code is crucial to support spatial information both in DG and CA1 [34–38]. Then to what spatial representation corresponds the synchronous activation of all place cells of an environment?

It is difficult to provide any conclusion about these discrepancies without electrophysiological recordings

Figure 1



Use of sleep spontaneous reactivations for engram manipulation. **(a)** Population coding of place cells within an environment. During spontaneous exploration of an environment, place cells are activated in their relative place fields (colored circles), with some cells coding for overlapping location (firing activity represented below). The location of the animal in the right part of the environment is given by the activity of the population composed of neurons 3, 4 and 5. **(b)** In subsequent sleep, and mostly at time of SPW-Rs (notified by black stars above LFP signal), reactivations of place cells activated during previous exploration occur (Note that there is still no direct evidence that each SPW-Rs is associated with a reactivation). Since the correlation pattern is strongly maintained during SPW-Rs occurring during the first hour of subsequent sleep, the detection of the firing activity of one specific place cell (#4) can be used to associate intracranial stimulation to the whole cell assembly coding for the related location. **(c)** Schematic behavioral output of the association of the engram with a positive valence during sleep. Free exploration of the open field showed homogeneous exploration before pairing. Then during 1 h of sleep, the pairing procedure depicted in panel b. is applied with electrical rewarding stimulation. At awakening, mice went directly towards the place field of the previously paired neuron, and thus to the location represented by the cell assembly it belongs to in this particular context.

but we can make several hypotheses by taking into account the concept of pattern separation (discrimination of two close environments) and pattern completion (complete recognition out of partial information). It has been proposed that pattern separation is first achieved by the DG with a second step achieved by the mossy fibers in order to obtain a full orthogonalization in CA3 where pattern completion takes place [39,40]. It is thus possible that even a fully synchronous — therefore not physiological — activation of DG neurons can be orthogonalized leading to a preserved activation in CA3, which would then complete the activation pattern in the same way than a physiological stimulation caused by exposure to the environment. Since CA1 is downstream of this system, this could explain the lack of recall induced by the optogenetical activation [30**]. Importantly, a more recent observation showed that the activation of *c-fos*^{CTX} neurons in CA1 at 4 Hz did induce recall [41]. Interestingly, optogenetical stimulation of CA1 neurons at low frequency leads to a non-synchronous pattern of activation with neurons firing at different phases of the induced oscillation [42,43], therefore preserving the population coding and perhaps explaining the efficiency of recall.

Sleep as a powerful prism for memory studies

These results showed the first compelling evidence for a crucial role of a subpopulation of neurons in the engram, but raise questions about the importance of population and temporal coding. Interestingly, both types of coding have been shown to be especially important during sleep and studying memory processes through the prism of sleep physiology has been one of the most fruitful approaches in memory studies. Indeed, in both memory processes and sleep, animals disengage from the external world to be driven by internal generated representations [44].

It was proposed in 1989 that during wake theta oscillations, animals encode information that is subsequently replayed and consolidated during sleep fast oscillations called sharp-wave-ripples (SPW-Rs) [45]. This was latter confirmed and the striking similarity of the correlation pattern of a large neuronal population in wake and sleep was the initial evidence suggesting that exploration-related activity was replayed during sleep [37,46*,47].

Inspired by the discovery of reactivations during sleep, various researchers used the same analyses during wake and observed similar reactivations during wake SPW-Rs, both in forward and backward directions [48,49]. Importantly, sequences of hippocampal place cells were observed at the decision point, and encode forward path sequences associated to hesitation/conflict-like behaviors called “vicarious trial and error” (VTE) behaviors [50**], being the closest cellular correlate of mental time travel used to estimate the consequence of choices. By using closed loop system to selectively suppress neuronal

activity during SPW-Rs where most of the replay/preplay occur, other studies showed spatial performance deficits both when suppression was done during sleep and wake. This demonstrates a causal role of SPW-Rs related neuronal activity in memory processes [51**,52**,53**].

Rewarding place reactivation during sleep

Yet, these experiments did not suppress reactivations *per se*. More importantly, there is still no direct relationship between place cells and the representation/memory of space. The representation of space by place cells activity only relies on correlative studies, despite of several investigations [54–56]. In other words, can we substitute the firing of a place cell assembly to the real experience of being in the place field? One of the main problems when studying the causality of place cells is that while the animal is awake, it is impossible to dissociate its actual position from the associated neuronal firing. We took advantage of the transient decorrelation of place cell activity from current location during sleep to directly test the causal role of place cells in navigation [57**].

During sleep, we used a brain-computer interface to make electrical rewarding stimulations of the medial forebrain bundle [58,59] contingent on the spontaneous reactivations of one hippocampal place cell (Figure 1). After this procedure, mice developed a place preference for the location of the related place field, showing a causal role of place cells in spatial memory. This also shows that they still convey the same spatial information during sleep reactivation.

What kind of memory could be formed during sleep?

One important question to address is the kind of memory that has been created. Previous studies have shown that various form of learning could take place during sleep or anesthesia both in rodents [60,61] and in humans [62]. But in all these studies, the induced learning consists in a reflex response to an external unpredicted stimulus. Our recent study proposed that a more complex learning can also be induced during sleep. Importantly, the goal could only be found through the use of external cues and was reached by the mice from different starting points, suggesting the use of an allocentric hippocampus-dependent strategy. In addition, we found that the time of the first entry within the place field decreased after the sleep learning protocol, suggesting that mice performed a trajectory oriented towards the sleep-rewarded place field. However Foster et al. showed by using reinforcement learning algorithms that finding a fixed platform does not require a spatial map nor the conscious recall of the goal location [63]. In this case though, during the learning phase, the agent must associate every single position of the maze with the appropriate action towards the goal. It seems unlikely that our pairing protocol during sleep would achieve such extensive process.

Importantly our probe tests after waking up were not rewarded and thus correspond to a devaluation test commonly used to define a goal-directed behavior. Although the learning effect was clear in the first trials, the effect was not significant anymore for the latter trials, suggesting an extinction (as expected in devaluation procedure). We also showed that the effect was correlated with the rewarding strength of the MFB stimulations. Altogether, this suggests that the pairing between a place cell and a rewarding stimulation during sleep induced a complex explicit-like memory trace that can be used to drive a goal-directed behavior.

Future directions

The creation of an artificial memory during sleep suggests that we can indeed substitute the real location by the firing of a place cell assembly. Importantly, in our study, we used a place cell as an index of the whole related cell assembly it belongs to, but the same experiment should be done with the detection of a whole cell assembly to validate the importance of temporal coding. Moreover, to provide additional evidence that a goal-directed behavior is used after awaking, a probe test with barrier that prevents a direct path towards the goal and force the use of a detour should also be performed.

All the aforementioned studies demonstrate the feasibility of the engram manipulation. However, this raises the question of how this information is further processed by the brain to drive an appropriate behavior. In other words, if the hippocampal engram relies on the activity of a specific neuronal subpopulation, who is the reader and how is this information integrated?

Another crucial question that remains to be addressed is whether the stimulations (electrical or optogenetic) induce a conscious memory-like experience. Indeed as point out previously, the activation of retina mimicking the visual experience of the context associated with the shock would lead to animal freezing without direct manipulation of the engram [20]. More generally, it is still unclear whether the (artificial) activation of a cell assembly directly leads to the conscious access of the related spatial location? Or, conversely, does it indirectly activate a neuronal substrate, the engram, which eventually leads to the conscious access of the spatial representation? Accordingly, it is still unclear whether the hippocampus only deals with memory or whether it is also involved in perception [64]. Unfortunately, we may face the same problem of the non-communicability of subjective experience in rodents as the one met when speaking about declarative or episodic memory in animals.

Conclusion

As a conclusion, it was shown that neuronal activity supporting the engram can be artificially associated to a positive or negative valence leading to an appropriate

behavior, both by the use of optogenetic activation of the engram and by intracranial stimulations triggered on the spontaneous reactivation of a pre-existing spatial engram during sleep. Altogether, these studies show that optogenetics and brain computer interfaces, possibly coupled together, are powerful tools for further investigation of how populations of neurons encode memories in a mammalian brain. Finally, sleep, that is important for memory consolidation, also corresponds to a particularly interesting state that could model situations during which brain activity is driven by internal representations as the ones expected to occur in memory related processes.

Conflict of interest statement

Nothing declared.

Acknowledgments

We thank A. Peyrache for invaluable discussion, and Julie Lefort for her helpful comments. This work was supported by the ATIP-Avenir program (2014) and by the city of Paris (Grant Emergence 2014). This work also received support under the program Investissements d'Avenir launched by the French Government and implemented by the ANR, with the references: ANR-10-LABX-54 MEMO LIFE and ANR-11-IDEX-0001-02 PSL* Research University. G.d.L. and M.M.L. were funded by the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, France and from the Fondation pour la Recherche Médicale FDT20140930842 (G.d.L.) and the Labex Memolife (M.M.L.).

References and recommended reading

Papers of particular interest, published within the period of review, have been highlighted as:

- of special interest
 - of outstanding interest
1. Schacter DL, Eich JE, Tulving E: **Richard Semon's theory of memory**. *J Verbal Learning Verbal Behav* 1978, **17**:721-743.
 2. Hebb DO: *The Organization of Behavior*. Wiley; 1949.
 3. Dudai Y: **The Engram revisited: on the elusive permanence of memory**. In *The Memory Process: Neuroscientific and Humanistic Perspectives*. Edited by Nalbantian S, Matthews PM, McClelland JL. MIT Press (Verlag); 2010:29-40.
 4. Scoville WB, Milner B: **Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions**. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1957, **20**:11-21.
 5. Squire LR, Zola-Morgan SM: **The medial temporal lobe memory system**. *Science* 1991, **253**:1380-1386.
 6. Dickinson A, Balleine BW: **Motivational control of goal-directed action**. *Anim Learn Behav* 1994, **22**:1-18.
 7. Kim JJ, Fanselow MS: **Modality-specific retrograde amnesia of fear**. *Science* 1992, **256**:675-677.
 8. Bechara A, Tranel D, Damasio H, Adolphs R, Rockland C, Damasio AR: **Double dissociation of conditioning and declarative knowledge relative to amygdala and hippocampus in humans**. *Science* 1995, **269**:1115-1118.
 9. O'Keefe J, Nadel L: *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Oxford University Press; 1978.
 10. Leutgeb S, Leutgeb JK, Barnes Ca, Moser EI, McNaughton BL, Moser M-B: **Independent codes for spatial and episodic memory in hippocampal neuronal ensembles**. *Science* 2005, **309**:619-623.
 11. Eichenbaum HB, Cohen NJ: **Can we reconcile the declarative memory and spatial navigation views on hippocampal function?** *Neuron* 2014, **83**:764-770.

12. Hartley T, Lever C, Burgess N, O'Keefe J: **Space in the brain: how the hippocampal formation supports spatial cognition.** *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2014, **369**:20120510.
13. Bittner KC, Grienberger C, Vaidya SP, Milstein AD, Macklin JJ, Suh J, Tonegawa S, Magee JC: **Conjunctive input processing drives feature selectivity in hippocampal CA1 neurons.** *Nat Neurosci* 2015 <http://dx.doi.org/10.1038/nn.4062>.
The authors took advantage of the patch clamp recording in freely-moving rats to investigate the fine mechanisms at stake during the formation of place fields. They showed that dendritic plateau potentials in CA1 pyramidal neurons could induce the formation of new place fields. This corresponds to the first step that could solve the long lasting controversy regarding the associative or non-associative nature of the place fields formation.
14. Zhang K, Ginzburg I, McNaughton BL, Sejnowski TJ: **Interpreting neuronal population activity by reconstruction: unified framework with application to hippocampal place cells.** *J Neurophysiol* 1998, **79**:1017-1044.
15. Hill AJ: **First occurrence of hippocampal spatial firing in a new environment.** *Exp Neurol* 1978, **62**:282-297.
16. Thompson LT, Best PJ: **Long-term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats.** *Brain Res* 1990, **509**:299-308.
17. Ziv Y, Burns LD, Cocker ED, Hamel EO, Ghosh KK, Kitch LJ, El Gamal A, Schnitzer MJ, Gamal AEI: **Long-term dynamics of CA1 hippocampal place codes.** *Nat Neurosci* 2013, **16**:264-266.
18. Shapiro ML: **Plasticity, hippocampal place cells, and cognitive maps.** *Arch Neurol* 2001, **58**:874-881.
19. Martin SJ, Morris RGM: **New life in an old idea: the synaptic plasticity and memory hypothesis revisited.** *Hippocampus* 2002, **12**:609-636.
20. Mayford M: **The search for a hippocampal engram.** *Philos Trans R Soc Lond B* 2014, **369**:20130161.
21. Guzowski JF, Timlin Ja, Roysam B, McNaughton BL, Worley PF, Barnes Ca: **Mapping behaviorally relevant neural circuits with immediate-early gene expression.** *Curr Opin Neurobiol* 2005, **15**:599-606.
22. Han J-H, Kushner Sa, Yiu AP, Cole CJ, Matynia A, Brown Ra, Neve RL, Guzowski JF, Silva AJ, Josselyn Sa: **Neuronal competition and selection during memory formation.** *Science* 2007, **316**:457-460.
23. Han J-H, Kushner SA, Yiu AP, Hsiang H-L(Liz), Buch T, Waisman A, Bontempi B, Neve RL, Frankland PW, Josselyn SA: **Selective erasure of a fear memory.** *Science* 2009, **323**:1492-1496.
24. Penfield W, Perot P: **The brain's record of auditory and visual experiences. A final summary & discussion.** *Brain* 1963, **86**:595-696.
25. Gloor P: **Experiential phenomena of temporal lobe epilepsy.** *Brain* 1990, **113**:1673-1694.
26. Garner AR, Rowland DC, Hwang SY, Baumgaertel K, Roth BL, Kentros CG, Mayford M: **Generation of a synthetic memory trace.** *Science* 2012, **335**:1513-1516.
This study showed that the engram can be manipulated through optogenetical tools, opening a new area of studies in memory research.
27. Reijmers LG, Perkins BL, Matsuo N, Mayford M: **Localization of a stable neural correlate of associative memory.** *Science* 2007, **317**:1230-1233.
28. Liu X, Ramirez S, Pang PT, Puryear CB, Govindarajan A, Deisseroth K, Tonegawa S: **Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall.** *Nature* 2012, **484**:381-385.
See annotation to Ref. [26**].
29. Nadel L, Willner J: **Context and conditioning: a place for space.** *Physiol Psychol* 1980, **8**:218-228.
A very interesting review about the concept of context.
30. Ramirez S, Liu X, Lin P-A, Suh J, Pignatelli M, Redondo RL, Ryan TJ, Tonegawa S: **Creating a false memory in the hippocampus.** *Science* 2013, **341**:387-391.
This study shows that optogenetic stimulation of the engram related neuronal population can substitute to the real experience of a context.
31. Tanaka KZ, Pevzner A, Hamidi AB, Nakazawa Y, Graham J, Wiltgen BJ: **Cortical representations are reinstated by the hippocampus during memory retrieval.** *Neuron* 2014, **84**:347-354.
32. McHugh TJ, Blum KI, Tsien JZ, Tonegawa S: **Impaired hippocampal representation of space in CA1-specific NMDAR1 knockout mice.** *Cell* 1996, **87**:1339-1349.
33. McHugh TJ, Jones MW, Quinn JJ, Balthasar N, Coppari R, Elmquist JK, Lowell BB, Fanselow MS, Wilson Ma, Tonegawa S: **Dentate gyrus NMDA receptors mediate rapid pattern separation in the hippocampal network.** *Science* 2007, **317**:94-99.
34. Shen J, Kudrimoti HS, McNaughton BL, Barnes Ca: **Reactivation of neuronal ensembles in hippocampal dentate gyrus during sleep after spatial experience.** *J Sleep Res* 1998, **7**(Suppl 1):6-16.
35. Leutgeb JK, Leutgeb S, Moser M-B, Moser EI: **Pattern separation in the dentate gyrus and CA3 of the hippocampus.** *Science* 2007, **315**:961-966.
36. Wilson MA, McNaughton BL: **Dynamics of the hippocampal ensemble code for space.** *Science* 1993, **261**:1055-1058.
37. Kudrimoti HS, Barnes Ca, McNaughton BL: **Reactivation of hippocampal cell assemblies: effects of behavioral state, experience, and EEG dynamics.** *J Neurosci* 1999, **19**:4090-4101.
38. Skaggs WE, McNaughton BL, Wilson MA, Barnes CA: **Theta phase precession in hippocampal neuronal populations and the compression of temporal sequences.** *Hippocampus* 1996, **6**:149-172.
39. Treves A, Tashiro A, Witter MP, Moser EI: **What is the mammalian dentate gyrus good for?** *Neuroscience* 2008, **154**:1155-1172.
40. Leutgeb S, Leutgeb JK: **Pattern separation, pattern completion, and new neuronal codes within a continuous CA3 map.** *Learn Mem* 2007, **14**:745-757.
41. Ramirez S, Liu X, MacDonald CJ, Moffa A, Zhou J, Redondo RL, Tonegawa S: **Activating positive memory engrams suppresses depression-like behaviour.** *Nature* 2015, **522**:335-339.
42. Royer S, Zemelman BV, Barbic M, Losonczy A, Buzsáki G, Magee JC: **Multi-array silicon probes with integrated optical fibers: light-assisted perturbation and recording of local neural circuits in the behaving animal.** *Eur J Neurosci* 2010, **31**:2279-2291.
43. Stark E, Eichler R, Roux L, Fujisawa S, Rotstein HG, Buzsáki G: **Inhibition-induced theta resonance in cortical circuits.** *Neuron* 2013, **80**:1263-1276.
44. Buzsáki G, Peyrache A, Kubie J: **Emergence of cognition from action.** *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2015, **LXXIX**:1-11.
45. Buzsáki G: **Two-stage model of memory trace formation: a role for noisy brain states.** *Neuroscience* 1989, **31**:551-570.
46. Wilson MA, McNaughton BL: **Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep.** *Science* 1994, **265**:676-679.
A seminal study that showed that correlation patterns observed during wake navigation are maintained during subsequent sleep, suggesting that memory trace are replayed and possibly consolidated during sleep, and showed that reactivations mainly occur during SPW-Rs.
47. Lee AK, Wilson Ma: **Memory of sequential experience in the hippocampus during slow wave sleep.** *Neuron* 2002, **36**:1183-1194.
48. Foster DJ, Wilson MA: **Reverse replay of behavioural sequences in hippocampal place cells during the awake state.** *Nature* 2006, **440**:680-683.
49. Diba K, Buzsáki G: **Forward and reverse hippocampal place-cell sequences during ripples.** *Nat Neurosci* 2007, **10**:1241-1242.
50. Johnson A, Redish AD: **Neural ensembles in CA3 transiently encode paths forward of the animal at a decision point.** *J Neurosci* 2007, **27**:12176-12189.
This is an exceptional study showing that decoding activity from hippocampal place cell population at the decision point during a memory task

162 Circuit plasticity and memory

occasionally corresponds to forward paths of the animal, consistent with a mental travel possibly used to evaluate potential consequence of action. This has been followed by multiple studies confirming and extending this fantastic result.

51. Girardeau G, Benchenane K, Wiener SI, Buzsáki G, Zugaro MB: **Selective suppression of hippocampal ripples impairs spatial memory.** *Nat Neurosci* 2009, **12**:1222-1223.
This study provides the first direct evidence for a causal role of SPW-Rs related neuronal activity in memory processes.
52. Ego-Stengel V, Wilson Ma: **Disruption of ripple-associated hippocampal activity during rest impairs spatial learning in the rat.** *Hippocampus* 2010, **20**:1-10.
See annotation to Ref. [51**].
53. Jadhav SP, Kemere C, German PW, Frank LM: **Awake hippocampal sharp-wave ripples support spatial memory** *science* 2012, **336**:1454-1458.
By using the same close loop system as in Refs. [51**,52**], the authors showed that awake SPW-Rs are crucial for memory. This is a crucial step towards the understanding of processes involved in memory-related decision making involved in spatial navigation.
54. Speakman A, O'Keefe J: **Hippocampal complex spike cells do not change their place fields if the goal is moved within a cue controlled environment.** *Eur J Neurosci* 1990, **2**:544-555.
55. Lenck-Santini P-P, Muller RU, Save E, Poucet B: **Relationships between place cell firing fields and navigational decisions by rats.** *J Neurosci* 2002, **22**:9035-9047.
56. Jeffery KJ, Gilbert A, Burton S, Strudwick A: **Preserved performance in a hippocampal-dependent spatial task despite complete place cell remapping.** *Hippocampus* 2003, **13**: 175-189.
57. De Lavilléon G, Lacroix MM, Rondi-Reig L, Benchenane K: **Explicit memory creation during sleep demonstrates a causal role of place cells in navigation.** *Nat Neurosci* 2015, **18**:493-495.
This is the first study that shows the causality of place cell in spatial navigation. Moreover, it provides evidence that place cells reactivation during sleep still conveys spatial information.
58. Fukuda M, Kobayashi T, Bures J, Ono T: **Rat exploratory behavior controlled by intracranial self-stimulation improves the study of place cell activity.** *J Neurosci Methods* 1992, **44**:121-131.
59. Olds JL: **Self-stimulation of the brain.** *Science* 1958, **127**: 315-324.
60. Weinberger NM, Gold PE, Sternberg DB: **Epinephrine enables Pavlovian fear conditioning under anesthesia.** *Science* 1984, **223**:605-607.
61. Hennevin E, Hars B: **Second-order conditioning during sleep.** *Psychobiology* 1992, **20**:166-176.
62. Arzi A, Shedlesky L, Ben-Shaul M, Nasser K, Oksenberg A, Hairston IS, Sobel N: **Humans can learn new information during sleep.** *Nat Neurosci* 2012, **15**:1460-1465.
63. Foster DJ, Morris RGM, Dayan P: **A model of hippocampally dependent navigation using the temporal difference learning rule.** *Hippocampus* 2000, **10**:1-16.
64. Nadel L, Hardt O: **Update on memory systems and processes.** *Neuropsychopharmacology* 2011, **36**:251-273.

Discussion

Discussion

Notre résultat concernant la création d'un nouveau souvenir spatial durant le sommeil chez la souris permet d'apporter une réponse à trois grandes questions majeures quant à la mémoire spatiale. Tout d'abord, la possibilité de créer une nouvelle préférence de place durant le sommeil par l'association d'une sensation de récompense à l'activité d'une cellule de lieu, alors même que l'activité de celle-ci est décorrélée de la position de l'animal, montre que l'activité de ces cellules elle-même est utilisée par l'animal dans une carte mentale. Un rôle fonctionnel est démontré ici.

De plus, les réactivations des assemblées de cellules de lieu durant le sommeil suggèrent que l'information spatiale était rejouée ; nous confirmons par notre résultat le fait que l'information spatiale est codée de la même façon durant le sommeil, les assemblées maintenant la représentation d'un lieu particulier au moment de chaque réactivation.

Enfin, l'observation des trajectoires des animaux au réveil dévoile que celles-ci sont directes vers le champ de lieu de la cellule utilisée, suggérant ainsi que l'animal effectue un comportement dirigé vers un but : il se dirige vers le champ de lieu car il *s'attend* à y recevoir une récompense. Ce résultat souligne le caractère explicite de l'apprentissage, et montre qu'une mémoire de ce type peut être créée durant le sommeil, allant au delà des conditionnements de types stimulus-réponses créés durant le sommeil dans des études précédentes.

Cependant des questions se posent quant à la façon dont cette nouvelle trace mnésique a pu se créer.

Nouvelle association lieu-récompense durant le sommeil

Nos résultats montrent qu'un apprentissage a eu lieu durant le sommeil, pourtant il existe toujours un débat quant à la possibilité de faire de la LTP durant le sommeil. Il a notamment été montré que la LTP n'était alors pas possible au sein de l'hippocampe (Leonard *et al.*, 1987), mais cela n'exclut pas la possibilité que la plasticité intervienne dans d'autres structures. Notamment, les trains de stimulation de MFB que nous avons utilisés dans notre étude ont une fréquence proche des stimulations tétaoniques des protocoles de LTP. Il serait alors intéressant de regarder si des marqueurs de LTP (comme les IEGs) sont observés dans des structures particulières à la suite de notre apprentissage.

De plus, certaines études suggèrent que les ripples du sommeil pourraient permettre de la plasticité, notamment puisque la suppression de ces rythmes affecte spécifiquement la mémoire (Girardeau *et al.*, 2009). Dans notre étude la très grande majorité des stimulations MFB ont lieu durant le NREM, dont 40% durant les ripples, alors que celles-ci ne représentent que 2% de la durée totale de sommeil. Ce résultat renforce l'idée que c'est bien les réactivations en lien avec les ripples qui sont importantes pour la consolidation mnésique. Aussi, il serait intéressant de restreindre les stimulations aux périodes de ripples seulement, ou en dehors des ripples afin de confirmer la spécificité de leur rôle dans le résultat que nous avons obtenu avec les réactivations.

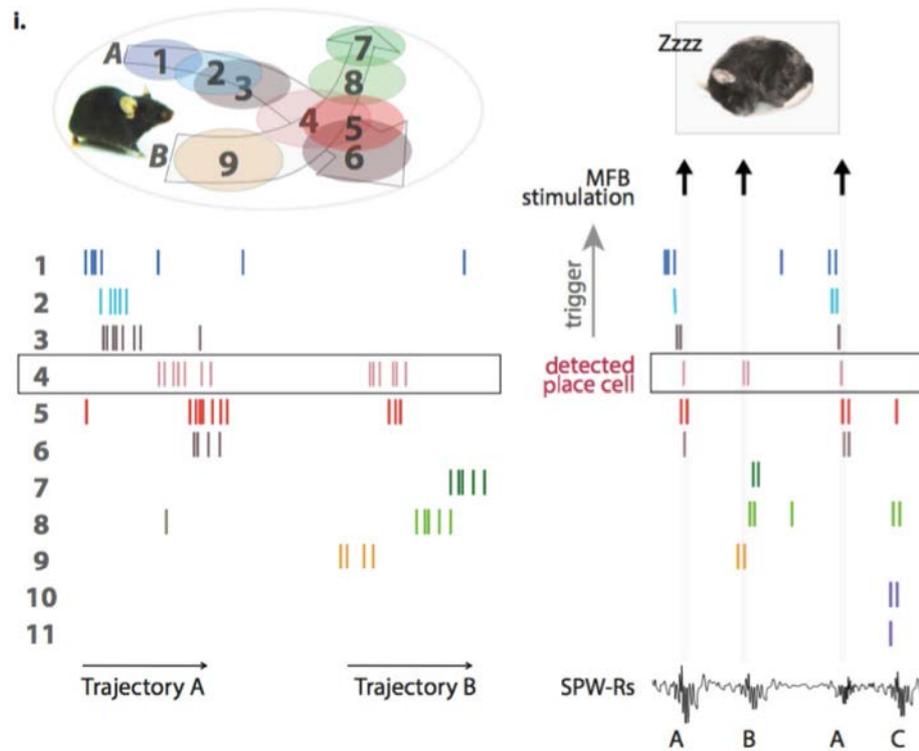


Figure 1 : réactivation des trajectoires durant le sommeil et détection d'une cellule de lieu

Notre interface cerveau-machine permet la détection d'une cellule de lieu. Lors des réactivations du sommeil, nous stimulons automatiquement la MFB à partir des spikes de la cellule de lieu sélectionnée mais celle-ci intervient au sein d'assemblées cellulaires auxquelles nous associons *de facto* la stimulation.

III- Création d'une préférence de place durant le sommeil

Nous avons démontré que la stimulation MFB, n'induisait pas de modification de la physiologie de l'hippocampe et de l'activité des cellules de lieu, à la fois durant l'éveil et le sommeil. Comment alors cette nouvelle association lieu-récompense a-t-elle pu se créer ? Une possibilité est que l'association lieu-récompense se fasse dans une structure qui reçoit à la fois des afférences de l'hippocampe et du circuit de la récompense. Le noyau accumbens ainsi que le cortex préfrontal peuvent être des candidats potentiels, et il serait intéressant alors d'inhiber spécifiquement une de ces structures durant le protocole afin d'interroger son implication dans la création de la trace mnésique.

Il faut cependant noter que l'établissement du nouveau souvenir spatial, ne dépend probablement pas uniquement du renforcement synaptique de la seule cellule de lieu utilisée pour déclencher les stimulations. Le codage en assemblées cellulaires présent lors de l'exploration, est notamment maintenu durant les réactivations du sommeil, et la stimulation MFB est en fait associée à toute l'assemblée dont la cellule détectée fait partie (Figure 1). L'enregistrement de plus large population de neurones durant ce protocole nous permettrait de confirmer ce point.

Mémoire explicite et comportement dirigée vers un but

Notre résultat diffère des études précédentes sur la création de souvenir durant le sommeil puisqu'il fait appel à une mémoire spatiale de type allocentrique, souvent associée à une mémoire explicite. En effet, nous avons utilisé différents points de départ lors du probe test pour forcer la stratégie allocentrique, proche de ce qui est fait en piscine de Morris.

Il faut noter que le comportement de préférence de place peut être expliqué par un processus de conditionnement simple : la cellule de lieu sert de CS+ dans un renforcement de sorte que, lors d'un déplacement aléatoire, l'activation de la cellule lorsque l'animal entre dans le champ de lieu déclenche une réponse conditionnée. Or nous observons au réveil que la souris se dirige directement vers le champ de la cellule de lieu, suggérant qu'elle se représente le lieu et l'objectif, à savoir obtenir une sensation de plaisir à cet endroit.

Une autre possibilité de conditionnement simple pour expliquer cette préférence de place serait l'existence d'un gradient spatial de la représentation de la récompense (Figure 2). L'obtention d'une récompense lors du déplacement aléatoire de l'animal, entraîne le renforcement de ce dernier comportement. De proche en proche, l'animal peut donc associer chaque point de l'environnement à un déplacement optimisant les chances d'obtenir une récompense. Pour réaliser ce gradient, un grand nombre de points de l'environnement et de déplacements possibles doivent être explorés. L'apprentissage est donc extrêmement long, et le désapprentissage également.

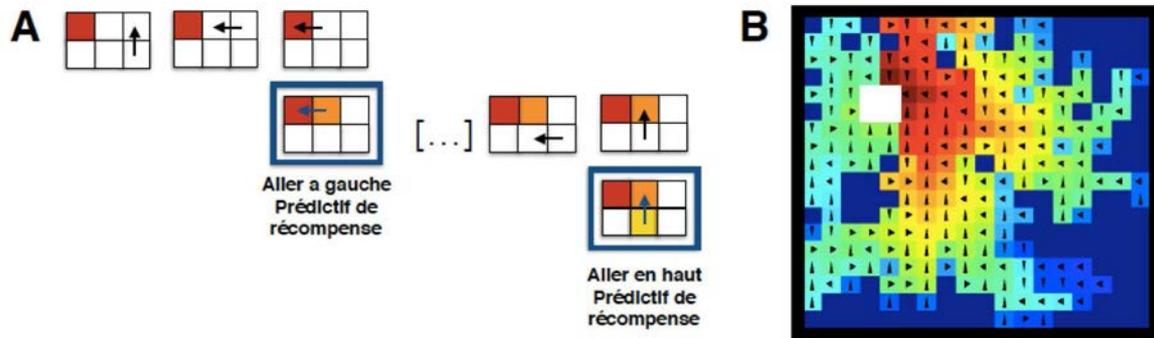


Figure 2 : modèle de préférence de place par gradient spatial

Lors de la phase d'apprentissage où l'individu explore aléatoirement l'environnement, la rencontre aléatoire de la récompense augmente la valence associée au déplacement précédent (A). Chaque point de l'espace est ainsi associé petit à petit à une probabilité d'obtenir une récompense. Après un long apprentissage, chaque point a donc une probabilité d'obtenir une récompense et à un déplacement maximisant les chances de s'en approcher. L'animal peut alors retrouver la récompense par une succession de stimulus-réponse (je suis dans cette case, je tourne à gauche) lui permettant de remonter le gradient.

III- Création d'une préférence de place durant le sommeil

Un comportement dirigé vers un but est défini comme une action médiée par 1) la représentation d'une contingence entre l'action et sa conséquence, et 2) la représentation de la conséquence comme un but à atteindre (Balleine & Dickinson, 1998). Un moyen de tester cette caractéristique est une dévaluation de la conséquence, à savoir dans notre cas, l'absence de stimulation de récompense au niveau du champ de lieu préalablement associée aux stimulations MFB durant le sommeil. Alors qu'elle passe beaucoup de temps dans ce champ de lieu durant la première partie du probe test, la souris y passe moins de temps en deuxième partie, suggérant que l'absence de stimulation a causé la dévaluation de ce lieu. Ce critère nous permet de conclure que l'animal a développé un comportement dirigé vers un but, écartant d'ailleurs l'hypothèse du gradient spatial.

Ainsi notre étude a permis de démontrer la possibilité de créer un nouvel apprentissage explicite durant le sommeil, et que les réactivations des cellules de lieu durant le sommeil portent bien la même information spatiale durant le sommeil et la navigation, et renforce l'hypothèse que ces réactivations seraient impliquées dans la consolidation mnésique.

Aussi, de nombreuses études suggèrent que les stades de sommeil pourraient avoir un rôle différentiel sur la mémoire, et en fonction du type de mémoire. Dans notre étude, 96% des stimulations survenaient durant le NREM, le REM constituant 2% de l'heure d'enregistrement. Il serait alors intéressant de restreindre les stimulations au REM uniquement, afin de comparer la capacité de celui-ci à celle du NREM, dans la création du souvenir spatial.

IV- Résultats Partie 2.

Microarchitecture du sommeil, description d'une nouvelle classification des états de vigilance chez la souris

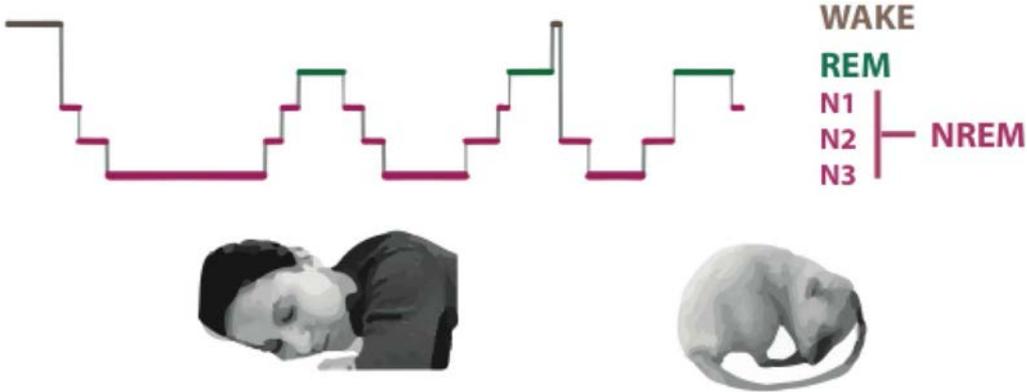


Illustration représentant un hypnogramme commun au sommeil du rongeur et de l'homme.

IV- Résultats Partie 2. Microarchitecture du sommeil, description d'une nouvelle classification des états de vigilance chez la souris

Problématique

L'activité du cerveau durant le sommeil offre la possibilité aux traces mnésiques de se consolider et nous avons vu ici qu'il était possible de créer un nouveau souvenir durant le sommeil en utilisant les réactivations des cellules de lieu. Mais la théorie des réactivations neuronales lors du sommeil se confronte à une seconde théorie stipulant que les ondes lentes du sommeil seraient responsables de l'homéostasie synaptique, dé-potentialisant toutes les synapses, de sorte que seules les synapses les plus activées par un apprentissage sont maintenues (Tononi & Cirelli, 2003). Récemment, il a été suggéré que ces deux théories pourraient en fait être réconciliées par la prise en considération de différents stades de sommeil : un sommeil léger favorisant les réactivations neuronales, et un sommeil profond favorisant l'homéostasie synaptique (Genzel et al., 2014). L'importance de la différenciation des stades de sommeil s'impose alors pour l'étude des mécanismes fins impliqués dans la consolidation de la mémoire.

Le sommeil est constitué d'une succession de **cycles**, dont les phases sont définies par des profils oscillatoires précis, et conservés d'un individu à l'autre. Comme nous l'avons vu, la durée de ces cycles est régulière chez l'homme, alors que le sommeil est beaucoup plus fragmenté chez le rongeur. De plus, alors qu'il en existe quatre chez l'homme, le sommeil du rongeur n'est actuellement subdivisé qu'en deux phases : le REM et le NREM. Pourtant un grand nombre de marqueurs électrophysiologiques sont communs à nos deux espèces, et il peut paraître curieux qu'aucun consensus n'ait été trouvé pour rendre compte de la dynamique d'un cycle de sommeil chez la souris. Serait-il possible de définir des sous-états de NREM chez la souris ? Quelles seraient alors leurs caractéristiques ? Et en quoi la connaissance de ces sous-stades améliore-t-elle la description des processus impliqués dans le sommeil ?

Parmi les marqueurs électrophysiologiques du NREM, les rythmes associés à la consolidation mnésique comme les spindles, les ripples et les ondes lentes sont présents de manière différentielle durant le N1, le N2 et le N3 chez l'homme. Le rôle conjoint de ces rythmes semble essentiel pour la consolidation de la mémoire, mais la manière dont ils sont coordonnés et l'importance de cette coordination restent encore mal comprises.

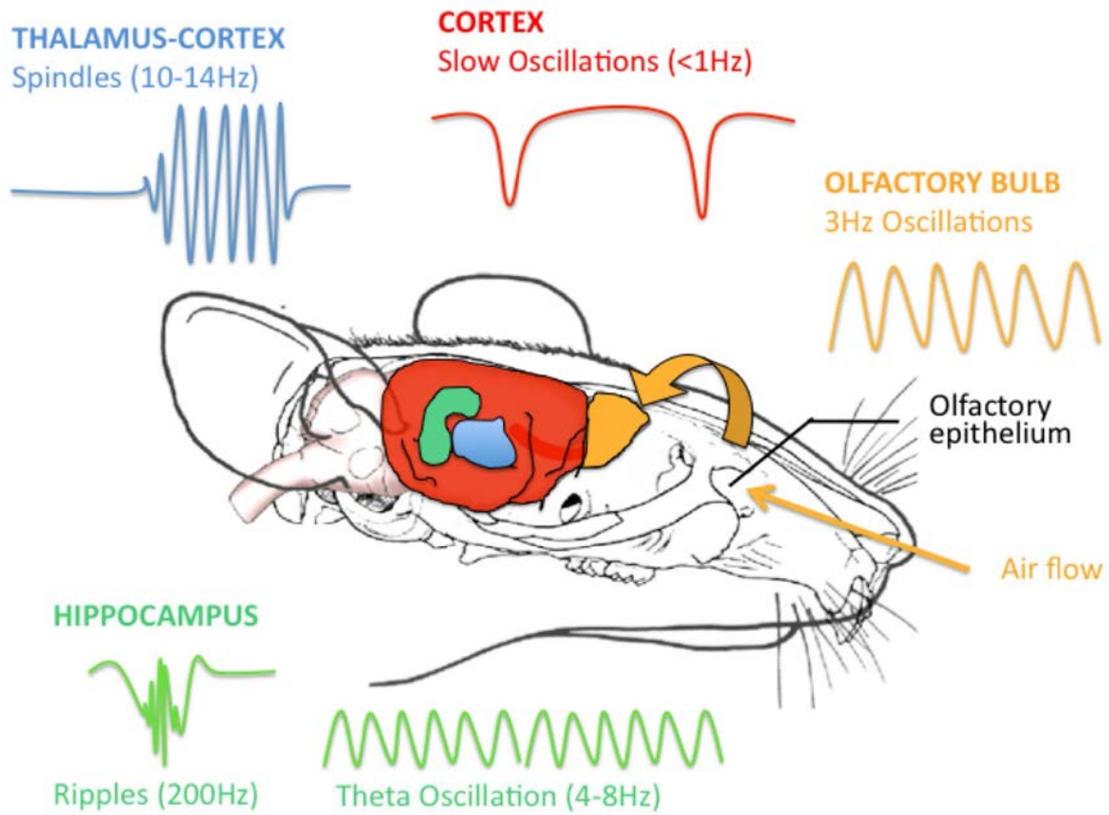


Illustration présentant les différents rythmes présents durant le sommeil chez la souris, ainsi que leur origine anatomique.

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

Serait-il possible d'affiner la description des phénomènes en lien avec la consolidation mnésique en distinguant les sous-stades de sommeil comme unité de régulation ?

De plus, les processus homéostatiques impliqués dans la régulation de la durée respective de REM et de NREM sont encore mal compris. **Les sous-stades de NREM pourraient-ils être régulés de manière différentielle par des phénomènes d'homéostasie du sommeil ?**

Enfin, durant le sommeil coïncident les rythmes du réseau thalamo-cortical et de l'hippocampe. Mais un rythme particulier s'ajoute à ceux-ci : celui de la respiration. **Cet input rythmique proche du rythme delta si caractéristique du sommeil à onde lente, joue-t-il un rôle particulier dans le sommeil ?** L'activité du bulbe olfactif est très dépendante de la respiration et cette structure est en lien direct avec le système limbique. L'oscillation de respiration pourrait ainsi constituer un moteur important de l'activité du cerveau durant le sommeil via le bulbe olfactif.

Dans cette partie nous allons détailler une nouvelle méthode de scoring du sommeil chez la souris qui permet de subdiviser le NREM en sous-stades selon des marqueurs électrophysiologiques proches de ceux trouvés chez l'homme. Les propriétés de ceux-ci seront alors décrites.

Puis nous aborderons l'implication que cette nouvelle méthode pourrait avoir dans l'étude du sommeil, en observant 1) les liens entre REM et stades de NREM, 2) la coordination des rythmes du sommeil en lien avec la consolidation mnésique 3) la communication hippocampo-préfrontale en fonction de ces sous-stades et enfin 4) l'homéostasie neuronale liée au sommeil.

Le rôle du bulbe olfactif dans le sommeil, sera alors discuté en lien avec les rythmes corticaux et les processus d'homéostasie.

Enfin nous comparerons les caractéristiques des sous-stades de sommeil obtenus avec cette méthode avec la classification du sommeil NREM chez l'homme et discuterons des similarités dans le cycle de sommeil.

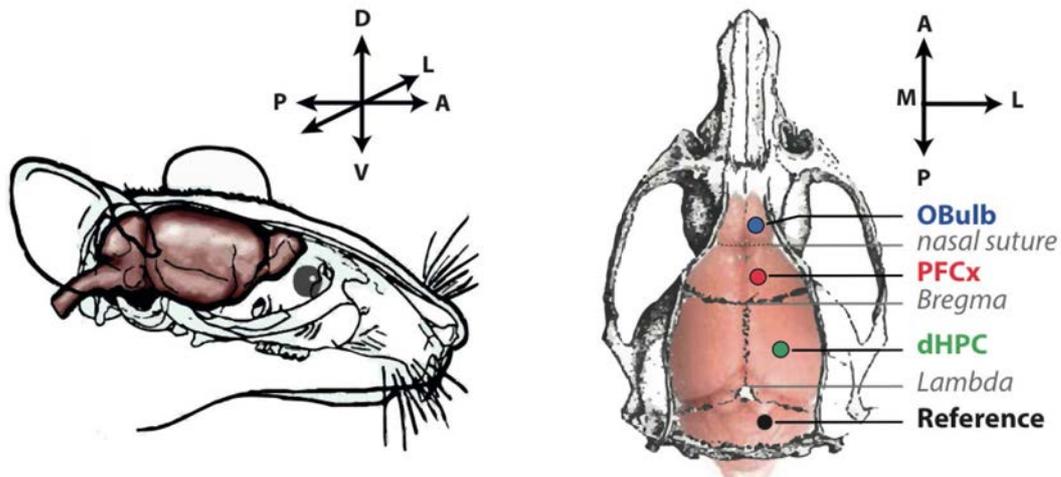


Figure 4.1: Schéma des coordonnées d'implantation stéréotaxique.

a- Gauche : Représentation du cerveau de souris avec les axes antéro-postérieur (AP), médio-latéral (ML) et dorso-ventral (DV). Droite : crâne et cerveau de souris avec les placements approximatifs des électrodes dans les axes AP et ML. Les coordonnées du cortex préfrontal (PFCx) et de l'hippocampe (dHPC) sont données par rapport au point *Bregma*, point de jonction des sutures crâniennes antérieures, celles du Bulbe Olfactif (OBulb) par rapport à la suture nasale. L'électrode de référence est placée en dessous du point *Lambda*, point de jonction des sutures crâniennes postérieures.

Matériels et Méthodes

Implantation des électrodes

Pour ce projet, 13 souris mâles C57Bl6 (*Mus musculus*), âgées de 3 à 5 mois ont été implantées au niveau du cortex préfrontal, du bulbe olfactif et de l'hippocampe avec des électrodes d'enregistrement permettant de mesurer le LFP (fil de tungsten). Parmi elles, 4 ont en plus été implantées avec des tétrodes (4 fils de nichrome torsadés) au niveau du cortex préfrontal afin d'enregistrer l'activité de neurones uniques. La procédure consiste à anesthésier l'animal par une injection intra-péritonéale d'un mélange de kétamine 500 (1:5) et de xylazine 2% (1:20) dilué dans une solution saline (10mL/kg). La souris est ensuite placée dans un cadre stéréotaxique afin de procéder à l'implantation. Les électrodes d'enregistrement intracrâniennes sont placées au niveau du cortex préfrontal (coordonnées stéréotaxiques par rapport au point *bregma*, dans l'axe antéro-postérieur : AP +1.9mm, médio-latéral : ML+0.5mm, et dorso-ventral : DV-1.4mm), de l'hippocampe (AP-2.2, ML+2.0, DV-1.1), et du bulbe olfactif (AP : +4.2mm, ML :0.5mm, DV : 1mm) et une électrode de référence est placée au dessus du cervelet (en dessous de lambda) comme indiqué sur la figure 4.1. Les électrodes, fixées au niveau du crâne par du ciment dentaire, sont connectées à une carte électronique (EIB 16 ou EIB 32, Neuralynx), celle-ci étant à son tour fixée sur le crâne permettant l'acquisition chronique ultérieure des signaux électrophysiologiques.

Session de sommeil

Durant la période de récupération (6jours minimum) et durant tout le projet, les animaux placés en cage individuelle et en cycle normal (lumière de 8h à 20h), reçoivent nourriture et eau *ad libitum*. Les souris étant nocturnes, l'activité électrophysiologique du sommeil fut enregistrée durant la période de jour par session de 7 à 10h (8h +/-2h), ce qui représente la quasi totalité de leur période d'inactivité. Les animaux restent dans leur cage pendant tout l'enregistrement.

Acquisition des signaux électrophysiologiques et vidéo

Deux systèmes d'enregistrement différents ont été utilisés, permettant tous deux l'acquisition d'un signal à 20kHz : le système Neuralynx (Bozeman, MT) dans lequel les signaux provenant de l'EIB sont pré-amplifiés (headstage preamplifier HS-16), amplifiés (amplificateurs programmables Lynx8, gain 2000), digitalisés (Power 1401 CED, Cambridge, UK) et transmis au système d'acquisition Spike2; et le système INTAN dans lequel les signaux sont tout de suite digitalisés par une carte RHD2000 et transmis au système d'acquisition (RHD2132). Le LFP est sous-échantillonné off-line et stocké à 1250Hz. Une caméra vidéo installée au dessus de la cage permet l'enregistrement des mouvements de l'animal avec une fréquence d'acquisition de 30Hz synchronisé avec celui des signaux électrophysiologiques (interface utilisant Matlab, MathWorks, Natick, MA).

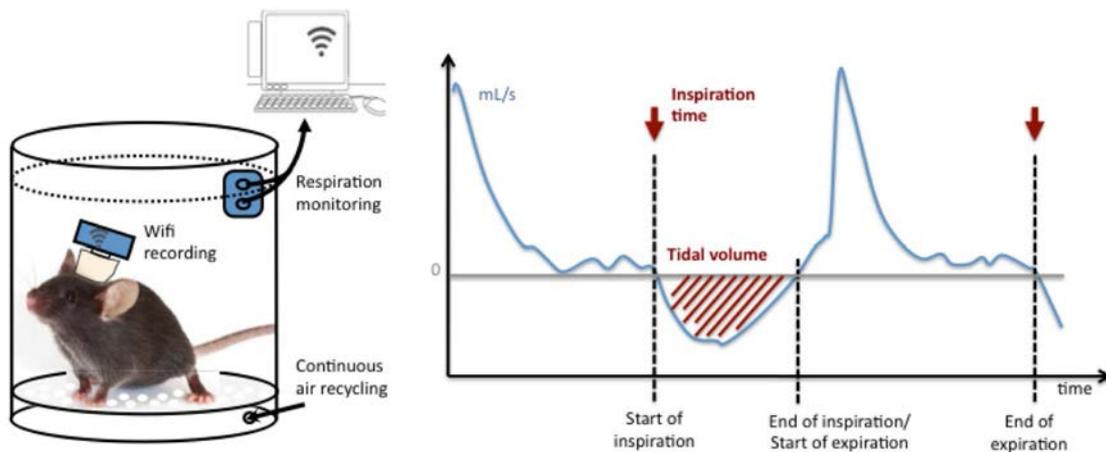


Figure 4.2: Pléthysmographe et enregistrement de la respiration.

Gauche : illustration de l'appareil d'enregistrement de la respiration couplée à l'acquisition sans fil des signaux électrophysiologiques. Le pléthysmographe est constitué de 3 compartiments : en dessous un compartiment où se fait l'arrivée d'air, au milieu l'espace où se trouve l'animal, et au dessus une valve permettant la sortie d'air. La respiration est mesurée à partir du différentiel de pression entre ces deux derniers compartiments. Droite : exemple de tracé obtenu à partir du pléthysmographe (bleu). Les temps de début d'inspiration (flèches rouges) correspondent au début du signal négatif : le moment où la pression devient négative dans le compartiment où se trouve la souris. Le volume inspiré par la souris correspond donc à l'intégral du signal négatif (hachures rouges).

Enregistrement de la respiration par pléthysmographe

La respiration fut enregistrée à l'aide d'un pléthysmographe (Emka Technologies), spécialement conçu pour accueillir une souris dont l'implant est connecté à un appareil sans fil, permettant l'enregistrement simultané des signaux électrophysiologiques par wifi (voir acquisition des signaux). Le signal provenant du pléthysmographe correspond aux variations de pression dans cette chambre hermétique dont l'air est recyclé de manière constante. Ce signal est amplifié (amplificateurs programmables Lynx8, gain 2000), amené au système d'acquisition Neuralynx (fréquence d'acquisition 1000Hz), digitalisé (Power 1401 CED, Cambridge, UK), et enregistré par le système d'acquisition Spike2. Le temps d'inspiration correspond au passage d'un signal positif à un signal négatif (Figure 4.2) car quand la souris commence à inspirer, une dépression est ressentie dans la chambre du pléthysmographe. Le volume tidal est calculé comme l'intégrale du signal inférieur à zéro, et la fréquence instantanée de respiration comme l'inverse de la période entre deux inspirations successives (programmes MATLAB fait maison utilisant la méthode des zéro-cross).

Acquisition wifi des signaux électrophysiologiques (dans le pléthysmographe)

Afin d'enregistrer simultanément le signal électrophysiologique et la respiration des souris implantées dans le bulbe olfactif, le préfrontal et l'hippocampe, un système sans fil (Multi Channel System) compatible avec le pléthysmographe a été utilisé. L'amplification fut réglée à 1kHz pour l'enregistrement des LFP, et à 10kHz pour l'activité des neurones. Ce dernier réglage, très coûteux en batterie, ne permet l'acquisition du signal que sur une vingtaine de minutes maximum. Le signal est synchronisé avec le pléthysmographe grâce à l'utilisation de digital input. Une caméra vidéo installée face au pléthysmographe permet l'enregistrement des mouvements de l'animal avec une fréquence d'acquisition de 30Hz synchronisée avec celle des signaux électrophysiologiques (interface utilisant Matlab MathWorks, Natick, MA).

Détection et clusterisation des spikes

Le signal provenant des tétrodes implantées dans le cortex préfrontal est filtré entre 600Hz et 20KHz permettant d'extraire les spikes. La waveform du spikes sur chacun des 4 fils de tétrodes (32 points à 20kHz) est analysée et utilisée pour séparer les spikes en différents clusters, grâce à une analyse en composante principale suivi d'une analyse basée sur les mixtures de gaussiennes par le logiciel KlustaKwik (Harris *et al.*, 2000). Les clusters ainsi générés sont évalués visuellement pour regrouper les spikes sur la base des waveforms et du cross-correlogramme conservant une période réfractaire compatible avec l'activité d'un neurone unique. Les clusters dont la période réfractaire n'est pas respectée sont considérés comme du bruit et ne sont pas inclus dans les analyses présentées (exemple de clusters finaux Figure 4.3).

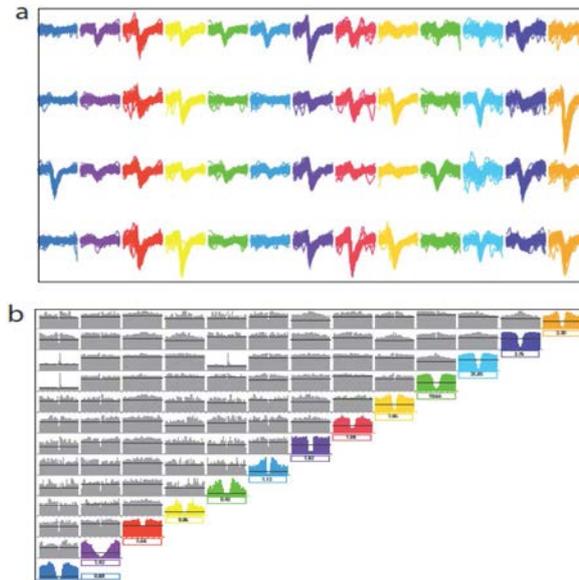


Figure 4.3: Clustering d'une population de neurones du cortex préfrontal.

a- Forme des spikes enregistrés dans le cortex préfrontal. Chaque colonne correspond à un cluster, chaque ligne correspondant à un des fils d'une tétrode. La combinatoire des formes enregistrées sur les 4 fils, permet d'attribuer chacun des spikes détectés à 13 neurones différents. b- Cross-corrélogramme (gris) et auto-corrélogramme (couleur) de chacun des 13 clusters identifiés. Noter la période réfractaire présente sur chaque auto-corrélogramme dénotant que ce cluster correspond à un neurone unique. Noter également l'absence de période réfractaire sur les cross-corrélogrammes ce qui indique qu'aucune paire de cluster ne pourrait être attribuée à un seul et même neurone.

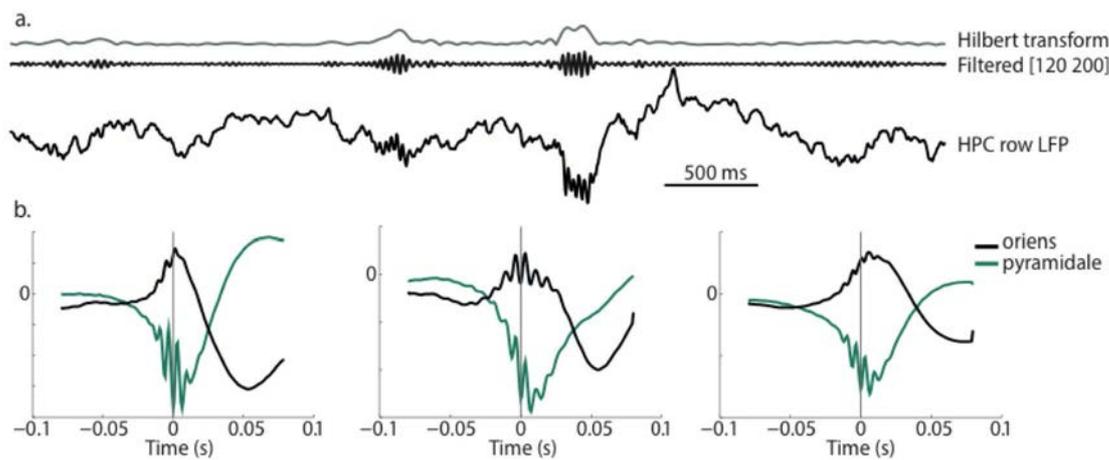


Figure 4.4. Méthode de détection des ripples de l'hippocampe.

a. Exemple de LFP enregistré dans la couche pyramidale de l'hippocampe, puis filtré dans la fréquence des ripples (120-200Hz). La transformée de Hilbert dépassant 5SD et dont l'enveloppe dépassant 3SD dure au moins 30s est considérée comme une ripples. b. Moyenne des LFPs enregistrés dans la couche oriens et pyramidale de l'hippocampe au moment des ripples détectés pour 3 animaux représentatifs (n=3). Noter l'inversion des LFPs sur la composante lente caractéristique de la sharp wave. Le temps zéro de la ripples correspond au minimum de l'oscillation rapide détectées dans la couche pyramidale

Analyse sur l'activité neuronale

Afin de mesurer la modulation d'évènement unitaires comme les spikes ou les états down, par un signal continu tel le LFP dans le bulbe olfactif, nous avons utilisé une fonction reposant sur le code Matlab `firingPhaseHilbert.m` développé par Francesco Battaglia (accessible www.gnu.org/copyleft/gpl.html).

Détection des ripples.

Le LFP enregistré par des électrodes placées dans la couche pyramidale de l'hippocampe, est échantillonné à 1250Hz et filtré dans la bande des ripples (120-200Hz). Un filtre à réponse impulsionnelle finie (FIR) y est appliqué afin de normaliser le signal et obtenir un déphasage nul, puis la transformée de Hilbert est calculée (Figure 4.4a). Une ripple doit avoir une enveloppe dépassant 3 fois la déviation standard (SD) avec un pic de 5SD. La durée minimale est de 30ms, la durée maximale de 100ms et deux ripples sont séparées au minimum de 30ms.

La SD est calculée sur les périodes de NREM uniquement afin de prévenir l'éventuelle présence de bruit de haute fréquence sur les signaux de l'éveil. Une électrode placée dans le cortex préfrontal qui ne présente pas d'oscillations aussi rapides, permet de détecter le bruit commun à plusieurs électrodes : un évènement de même amplitude détecté à la fois dans le cortex et dans la couche pyramidale correspond à du bruit.

La visualisation du LFP moyen au moment des ripples permet de s'assurer d'une bonne détection de ces évènements (Figure 4.4b). Sur l'ensemble des souris utilisées dans le protocole (n=13), un total de 10 étaient implantées correctement dans la couche pyramidale permettant la détection des ripples.

Spectres de puissance et quantification du rythme delta

Un spectre de puissance sur toute la période d'enregistrement est calculé à partir du signal LFP échantillonné à 1250Hz provenant d'une électrode placée dans le cortex préfrontal et d'une électrode de l'hippocampe (utilisée pour le scoring REM/NREM, voir résultats). L'analyse de transformée de fourrier est appliquée sur tout le LFP par fenêtre de 3s, glissant par pas de 200ms, entre 0.1 et 20Hz (spectre multi-tapers 3-5). Pour quantifier l'oscillation delta, le spectre de puissance est moyenné entre 2-4Hz pour chaque temps de l'enregistrement

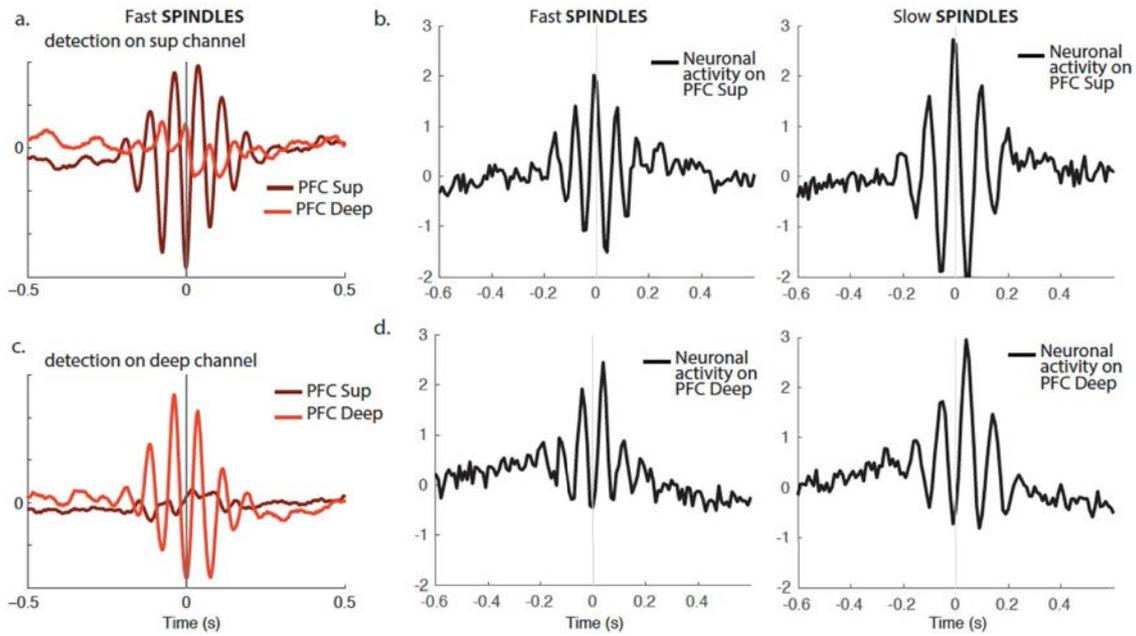


Figure 4.5. LFP et activité neuronale dans le cortex préfrontal lors des spindles.

a,c Moyenne ($n=1$ animal) du LFP superficiel et profond enregistrés dans le cortex préfrontal au moment des spindles. Les spindles sont détectées, soit à partir du LFP superficiel (a) soit à partir du profond (c). Le temps zéro de la spindle correspond au minimum de l'oscillation. b,d activité neuronale ($n=256$ neurones, $N=3$) du cortex préfrontal moyennés aux temps des spindles détectée sur les voies supérieures (b) ou profondes (d) du cortex après un filtre dans la bande 12-15Hz (fast) et 10-12Hz (slow).

Détection des spindles.

Le LFP enregistré par les électrodes placées dans le cortex préfrontal et échantillonné à 1250Hz est filtré entre 10 et 16Hz. Un filtre à réponse impulsionnelle finie y est appliqué afin de normaliser le signal et obtenir un déphasage nul. Une spindle doit avoir une enveloppe dépassant 1,5SD avec un pic de 5SD. La durée minimale est de 350ms, sans maximum (fixé à 200s) et deux spindles sont séparées au minimum de 100ms. La SD est calculée sur les périodes de NREM uniquement afin de prévenir l'éventuelle présence de bruit de grande amplitude sur les signaux de l'éveil.

Les spindles sont détectées à partir de deux LFP différents : un provenant d'une électrode implantée dans les couches profondes (LFPprof) et l'autre dans les couches superficielles (LFPsup), celle-ci pouvant parfois être remplacée par une électrode en EEG (posée à la surface du crâne) ou en EcoG (placée juste sous le crâne). La visualisation du LFP cortical moyen au moment des spindles permet de s'assurer d'une bonne détection de ces événements (Figure 4.5a,c). L'activité neuronale moyennée au temps des spindles nous assure également que les spindles sont associées à une activité corticale (Figure 4.5b,d), et suggère que ces événements sont bien physiologiques. Il faut toutefois noter que la détection des spindles est beaucoup moins précises que celles des ripples et la méthode est en cours d'amélioration dans le laboratoire.

Détection des périodes oscillantes du sommeil.

Le LFP échantillonné à 1250Hz est filtré entre 2 et 20Hz par pas de 2Hz (2-4Hz, 4-6Hz, jusqu'à 20-22Hz). Pour chaque bande de fréquence, la déviation standard (SD) est déterminée et les pics de signaux (déterminés par une dérivée nulle) dépassant 2SD sont détectés. Des périodes de bouffées d'oscillation sont alors déterminées à partir de l'ensemble des pics de toutes les bandes de fréquences : des pics séparés par moins d'une seconde forme une bouffée.

Base de donnée chez l'homme

La comparaison à l'homme a été réalisée à partir de la base de donnée *DREAMS Subjects Database* (2013) provenant de l'Université MONS- *TCTS Laboratory* et de l'Université Libre de Bruxelles-CHU de Charleroi- *Sleep Laboratory*.

<http://www.tcts.fpms.ac.be/devuyst/Databases/DatabaseSubjects/>.

Les données polysomnographiques proviennent de 20 nuits enregistrées chez des sujets sains en condition normales, 16 femmes et 4 hommes, de 20 à 45 ans (33,45 ans en moyenne). Ces données polygraphiques enregistrées en format EDF (polygraphe BrainnetTM System of MEDATEC, Brussels, Belgium), à un taux d'acquisition original de 200Hz, incluent deux électro-oculogrammes, 3 EEG (Fp1-A2, Cz-A1 et O1-A2), et un EMG au niveau du menton. Le scoring a été réalisé par époque de 30s selon les critères du AASM20 (Iber *et al.*, 2007) par un expérimentateur expert du *Sleep Laboratory*.

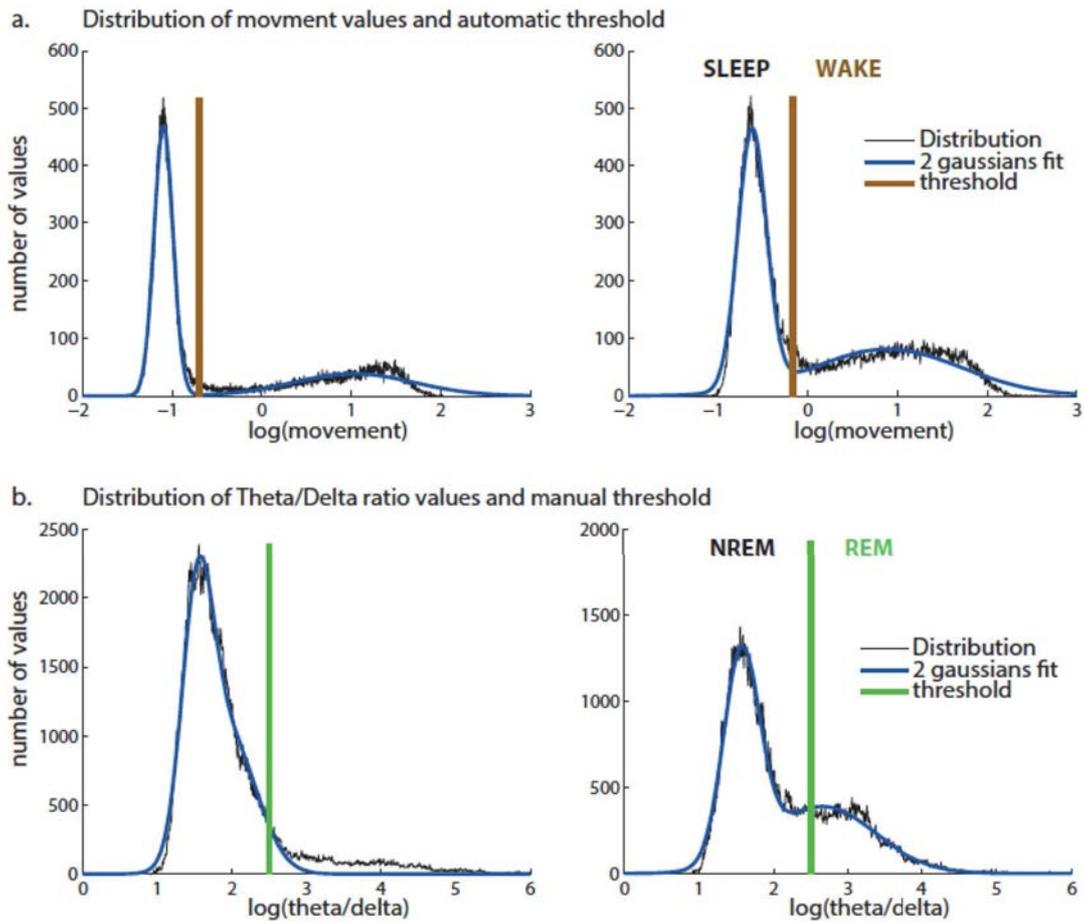


Figure 4.6: Différenciation semi-automatisée entre états de vigilance.

a- Exemples (n=2 souris) de distribution de la quantité de mouvement (noir), fit de deux gaussiennes (bleu) et seuil automatique séparant l'éveil du sommeil (marron). Noter la distribution bimodale permettant de définir automatiquement ce seuil.

b- Exemples (n=2 souris) de distribution du ratio Thêta/Delta de l'hippocampe (noir), fit de deux gaussiennes (bleu) et seuil automatique séparant le REM du NREM (vert). Noter l'absence de distribution bimodale claire, et la nécessité de réajuster le seuil.

IV-1 Définition et caractérisation de sous-stades de NREM chez la souris

IV-1-a. Développement d'une méthode de scoring des stades de NREM

Dans cette première partie nous allons décrire une nouvelle méthode de scoring du sommeil chez la souris. Celle-ci utilise tout d'abord des méthodes classiques et semi-automatisées afin de séparer l'éveil du sommeil, et au sein du sommeil de différencier REM et NREM. Puis, le NREM est subdivisé en sous-stades de manière entièrement automatisée selon des critères électrophysiologiques.

Différenciation classique entre éveil, REM et NREM

L'enregistrement du sommeil chez les petits mammifères par des électrodes intracrâniennes datent de près d'un-demi siècle, et les méthodes de scoring se sont succédées. La distinction entre éveil et sommeil, ainsi qu'entre REM et NREM, se fait le plus classiquement par des méthodes manuelles réalisés par des experts qui utilisent le plus souvent un EEG (dérivation fronto-pariétale) et un EMG. Récemment, des études sur le lien entre sommeil et mémoire notamment, ont utilisé un scoring automatique, souvent moins précis, basé sur l'EMG ou la vidéo pour détecter le mouvement. Notre méthode de scoring s'inspire beaucoup de ces dernières études.

Différencier éveil et sommeil avec le mouvement

Afin de différencier les états de sommeil et d'éveil, la quantité de mouvement visible sur un enregistrement vidéo est analysée de manière automatique. Celle-ci correspond à la différence entre deux images successives, échantillonnées à 10Hz. La résolution de cette caméra permet de rendre compte de mouvements aussi fins que celui de la respiration.

Les valeurs de ce paramètre mesurées durant tout l'enregistrement présentent une distribution bimodale (Figure 4.6.a) et il est alors possible de placer automatiquement un seuil en fitant deux gaussiennes et en déterminant leur point d'intersection. Ce seuil ainsi fixé catégorise alors l'éveil comme période prolongée de mouvement, le sommeil comme période prolongée d'immobilité.

Cependant la durée de ces périodes est très variable : il est possible d'enregistrer des périodes d'immobilité d'à peine quelques secondes, peu susceptibles d'être du sommeil ; et à l'inverse, des périodes courtes de mouvement qui peuvent faire partie du sommeil.

En reprenant des résultats de la littérature, nous avons choisi les critères suivants :

- De longues périodes de mouvements correspondent à de l'éveil.
- Des périodes de mouvements de moins de 3s au sein d'une longue période d'immobilité sont considérées comme du sommeil.

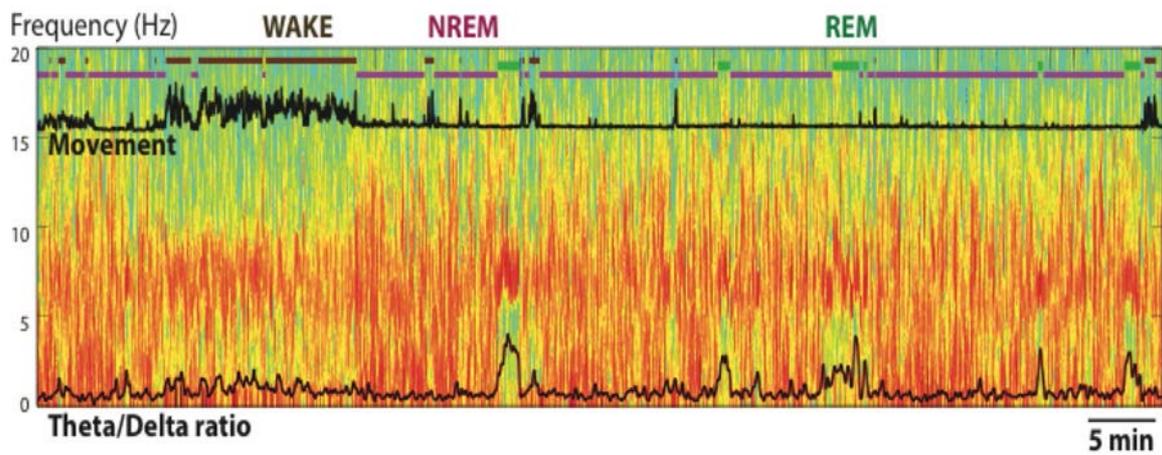


Figure 4.7: Exemple de différenciation entre éveil, REM et NREM.

Spectre de puissance de l'hippocampe entre 0.1 et 20Hz sur 1h d'enregistrement (n=1). La présence de pics répétés sur la quantité de mouvement (haut, noir) indique l'éveil. Noter quelques mouvements brefs durant le sommeil. Le ratio thêta (5-10Hz) sur delta (2-5Hz) est indiqué en bas. Noter les pics caractéristiques du REM.

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

- De courtes périodes d'immobilité (< 3s) au sein d'une période de mouvement sont considérées comme de l'éveil.

Le résultat d'un tel scoring est présenté sur la figure 4.7 et l'ensemble de ces critères sera résumé plus tard dans la figure bilan 4.11.

Différencier REM et NREM avec le ratio Thêta/Delta de l'hippocampe

Une fois les périodes d'éveil et de sommeil discriminées, le sommeil est alors découpé en stades de REM et NREM. Chez le rongeur, les comportements nécessitant un état de vigilance accru tels l'orientation spatiale ou la course, entraîne un fort rythme thêta dans l'hippocampe. Ce rythme est également présent durant le REM, et permet d'ailleurs de caractériser cette phase de sommeil. En revanche le rythme delta est présent durant le NREM, bien que l'amplitude de ce rythme puisse varier au sein de cette phase.

Ainsi, le scoring du sommeil chez le rongeur utilise classiquement le ratio entre les bandes de fréquences Thêta et Delta mesurées dans l'hippocampe afin de différencier REM et NREM.

Afin de déterminer ce ratio, le LFP enregistré au niveau de la couche pyramidale de l'hippocampe est filtré dans la bande Thêta (5-10Hz) et dans la bande Delta (2-5Hz), puis on y applique la transformée de Hilbert. Le ratio entre ces transformées est échantillonné à 12.5Hz et smoothé de sorte que la précision temporelle du ratio est de l'ordre de la seconde.

La distribution du ratio au cours de tout l'enregistrement revêt parfois un aspect bimodal (Figure 4.6.b, exemple de droite), à partir duquel il est aisé de déterminer un seuil séparant le REM dont le ratio Thêta/Delta est élevé, du NREM. Ce seuil doit parfois être ajusté manuellement pour représenter correctement les données du spectre de puissance dans l'hippocampe. En effet il peut arriver que la distribution ne soit pas clairement bimodale (exemple Figure 4.6.b gauche), notamment si l'enregistrement est de courte durée. L'observation du spectre de puissance comme celui présenté Figure 4.7 permet de différencier facilement les périodes de REM, le seuil étant alors placé manuellement.

Il faut noter qu'un nombre grandissant d'auteurs définissent une période de sommeil intermédiaire (Gottesmann, 1992), durant laquelle le cortex préfrontal présente encore un grand nombre de marqueur du NREM alors que le thêta caractéristique du REM est déjà présent dans l'hippocampe. Dans nos analyses, ce sommeil intermédiaire est donc automatiquement inclus dans le REM.

Ainsi les périodes soutenues de mouvement sont catégorisées en éveil, les périodes d'immobilité avec un ratio Thêta/Delta élevé sont catégorisées en REM, et celles avec un ratio faible en NREM (Figure 4.7).

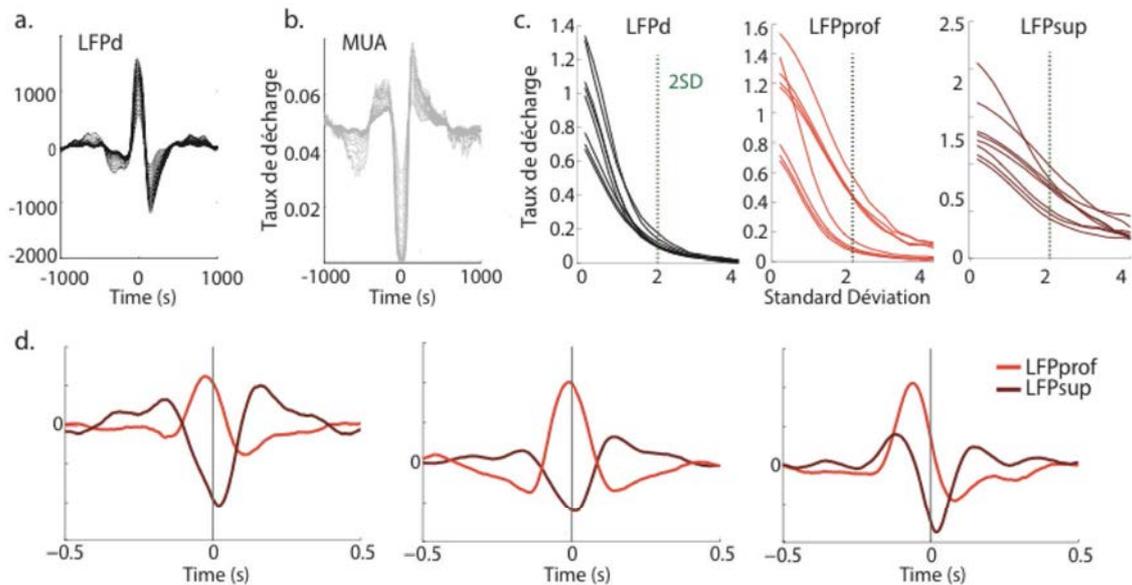


Figure 4.8. Comparaison des méthodes de détection des ondes delta.

a- Moyennes (n=12, N=4) du LFP différentiel entre profond et superficiel (LFPd) au moment de la détection de delta à partir de ce même LFPd. b- taux de décharge des neurones enregistrés dans le cortex préfrontal au moment des deltas. c- Évolution du taux de décharge des neurones en fonction du seuil de détection utilisé, exprimé en fonction de la déviation standard SD. Comparaison entre les méthodes de détection à partir du LFPd, ou du LFP profond (LFPprof) ou encore à partir du LFP superficiel (LFPsup). Noter que les deltas détectées avec 2SD sur le LFPd correspondent à un silence neuronal (down state) pour l'ensemble des souris, ce qui n'est pas le cas avec les deux autres méthodes. Figure tirée du manuscrit de thèse de Gaetan de Lavilléon. d- Moyenne de LFP superficiel et profond enregistrés dans le cortex préfrontal au moment des deltas détectés pour 3 animaux représentatifs (n=3). Noter l'inversion entre les LFP superficiel et profond. Le temps zéro de la delta correspond au maximum de la différence entre les deux LFPs.

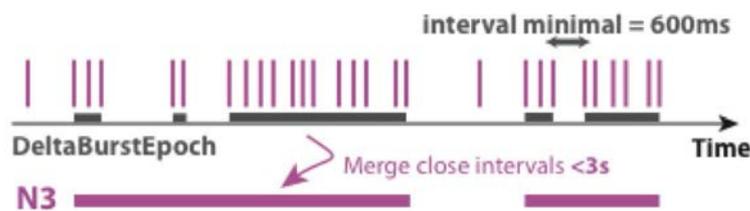


Figure 4.9. Méthode de détermination des burst de delta.

Deux ondes delta séparées de moins de 600ms forment une bouffée (burst) de delta. Deux bouffées séparées de moins de 3s forment une période de N3. Le N3 est donc caractérisé par une présence importante de delta.

Définition du N3 comme forte densité d'ondes delta

En observant les enregistrements électrophysiologiques au cours du sommeil de la souris, nous avons fait le constat que certaines périodes du NREM étaient constituées de nombreuses ondes Delta. Ces périodes pouvaient ainsi être assimilées à du sommeil profond de type stade 3/4 chez l'homme où l'occurrence des K-complexes est tellement élevée qu'une oscillation lente de très grande amplitude est visible plus de 25% du temps.

Méthode de détection du dipôle des ondes delta

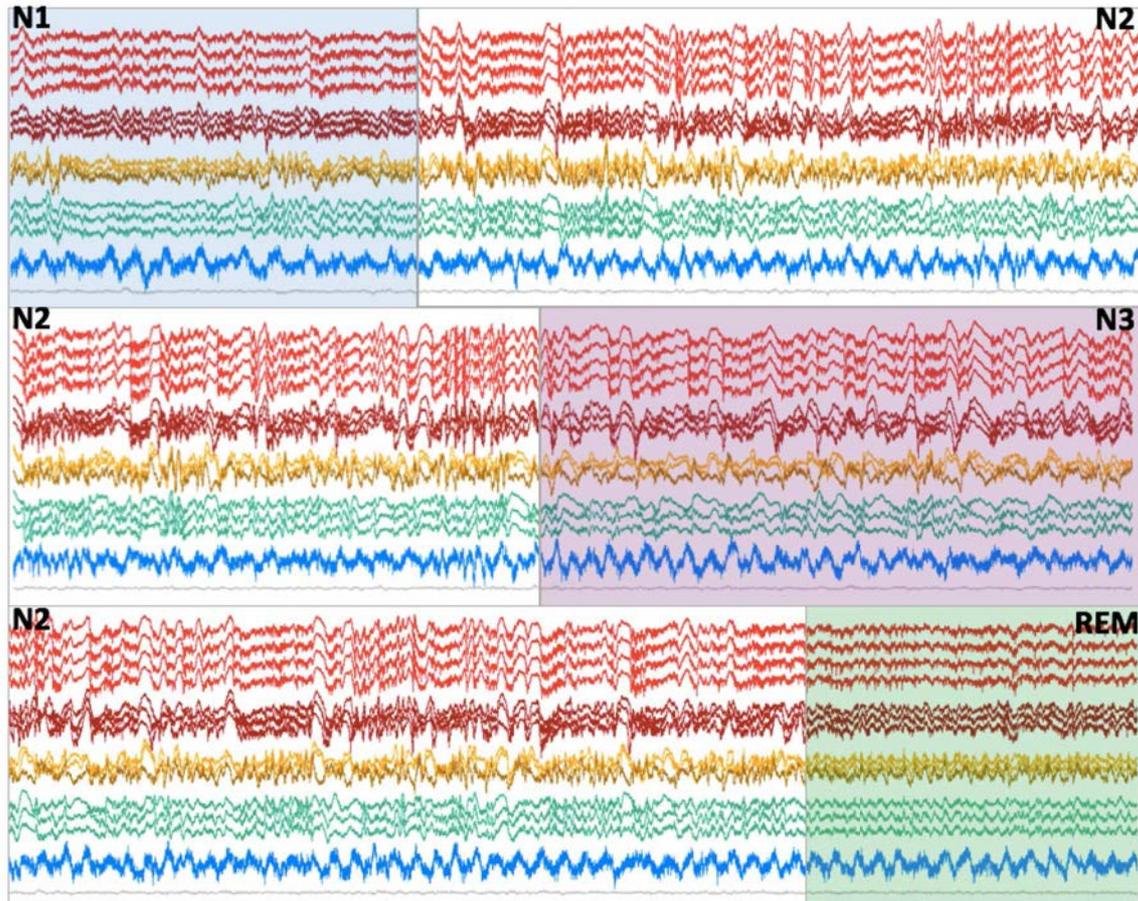
Afin de détecter les ondes delta, le LFP enregistré au niveau des couches superficielles du cortex préfrontal (LFPsup) et le LFP enregistré dans les couches profondes (LFPprof) sont utilisés. La différence entre ces deux signaux (notée LFPd, figure 4.8a) permet d'identifier les événements générés localement. Tout événement sur le LFPd filtré dans la bande 2-4Hz dépassant de deux fois la déviation standard (SD) est considéré comme une onde delta. Cette SD est calculée sur l'ensemble des périodes de sommeil uniquement afin d'exclure d'éventuelles périodes de bruit provenant de l'éveil.

Cette méthode décrite par Anton Sirota (Sirota *et al.*, 2003) et implémentée par Gaëtan de Lavilléon durant sa thèse, apporte une nette amélioration par rapport à la détection classique des deltas ne reposant que sur une seule voie superficielle. En effet si l'onde delta correspond à un état « Down » comme indiqué en introduction, l'activité neuronale enregistrée permet de confirmer qu'il s'agit bien d'une période de silence neuronale. Gaëtan a observé que tous les événements dépassant 2SD détectés sur le LFPd correspondent effectivement à un état Down, ce qui n'est pas le cas pour une détection reposant sur le LFPprof ou le LFPsup seulement (figure 4.8b-c).

Sur l'ensemble des animaux utilisés pour la suite des résultats concernant la microstructure du sommeil, tous ont été implantés à la fois dans les couches superficielles (parfois en EEG) et en couche profonde permettant de détecter ces inversions formant les ondes delta (Figure 4.8).

Détermination des périodes de burst de delta

Par analogie au stade N3 trouvé chez l'homme, les périodes de forte densité de delta déterminent un stade 3 de NREM dans nos enregistrements. Comme indiqué sur la Figure 4.9, une bouffée (ou burst) d'onde delta correspond à au moins deux ondes delta séparées de 600ms maximum. Deux bouffées séparées de moins de 3s sont regroupées pour constituer une seule et même période de N3. Un exemple de N3 est présenté en annexe Figure A4. Ces critères seront résumés sur la figure bilan 4.11.



4 voies d'une tétrade dans le Cortex préfrontal
3 voies LFP dans le Cortex préfrontal
2 voies LFP dans le cortex pariétal (couche supérieure et profonde)
3 voies dans l'hippocampe
1 voie dans le Bulbe olfactif

Figure 4.10 Exemples d'enregistrement électrophysiologique en N1, N2, N3 et REM.

Haut exemple de transition N1-N2. Le cortex préfrontal présente une activité peu oscillante, aucune onde delta n'étant visible durant le N1.

Milieu exemple de transition N2-N3. Une spindles est visible juste avant la transition vers le N3 ; le N3 est caractérisé par une occurrence élevée d'onde delta (définies par une inversion entre les LFP superficiels et profonds du cortex préfrontal comme indiqué en Annexe Figure A5).

Bas exemple de transition N2-REM, le REM étant caractérisé par un rythme thêta très régulier dans l'hippocampe mais également visible sur le LFP cortical.

Détection des périodes oscillantes N2/N3

En plus des ondes delta, nos enregistrements dans le cortex préfrontal nous permettent de détecter des spindles, oscillations d'origine thalamo-corticales entre 10 et 20Hz caractéristique du sommeil NREM. Ces rythmes sont particulièrement présents durant le stade N2 du sommeil.

Détection des spindles

La détection des spindles (IV- Matériels et Méthodes) est réalisée sur les voies superficielles et profondes du cortex préfrontal (Figure 4.4). La moyenne du LFP à ces différentes profondeurs montrent une oscillation de grande amplitude d'environ 500ms. Afin de vérifier la bonne détection des spindles, nous avons mesuré la quantité de spikes modulés par ce rythme sur les souris dont le nombre de neurones clustérisés était suffisant (>10 clusters). Les spindles entraînent bien une modulation des neurones enregistrés localement, validant ainsi la méthode de détection (Figure 4.5). Il faut toutefois noter que la détection des spindles est beaucoup moins précises que celles des ripples ou que celles des ondes delta avec notre méthode. En effet, de nombreux événements sont détectés mais ne ressemblent pas à la forme canonique des spindles décrites chez l'homme. Nous améliorons actuellement la méthode de détection dans le laboratoire. Il est important également de rappeler que les spindles sont des événements beaucoup moins marqués que chez l'homme, et cela se traduit notamment par une absence de pic entre 12-16Hz sur le spectre enregistré chez la souris.

Détection des périodes N2/N3

Les périodes de forte oscillation entre 2 et 20Hz, incluant la bande delta et la bande des spindles, sont identifiées selon la méthode présentée dans IV- Matériels et Méthodes. Ces périodes oscillantes du NREM sont considérées comme les stades N2/N3.

Ces périodes oscillantes incluent la majorité des spindles, mais les temps des spindles sont ajoutés afin de garantir l'inclusion de ces oscillations dans le N2/N3.

Détection des périodes N1

Par opposition, le stade léger N1 est défini comme le sommeil hors N2/N3, c'est à dire possédant très peu d'oscillations dans la bande delta et pas de spindles.

Un exemple d'enregistrement du sommeil durant ces différents stades est présenté figure 4.10. La présence de spindles et de delta durant le N2, et la densité particulièrement importante de delta dans le N3 en font des stades différenciables au premier regard, mais surtout facile à caractériser de manière automatique.

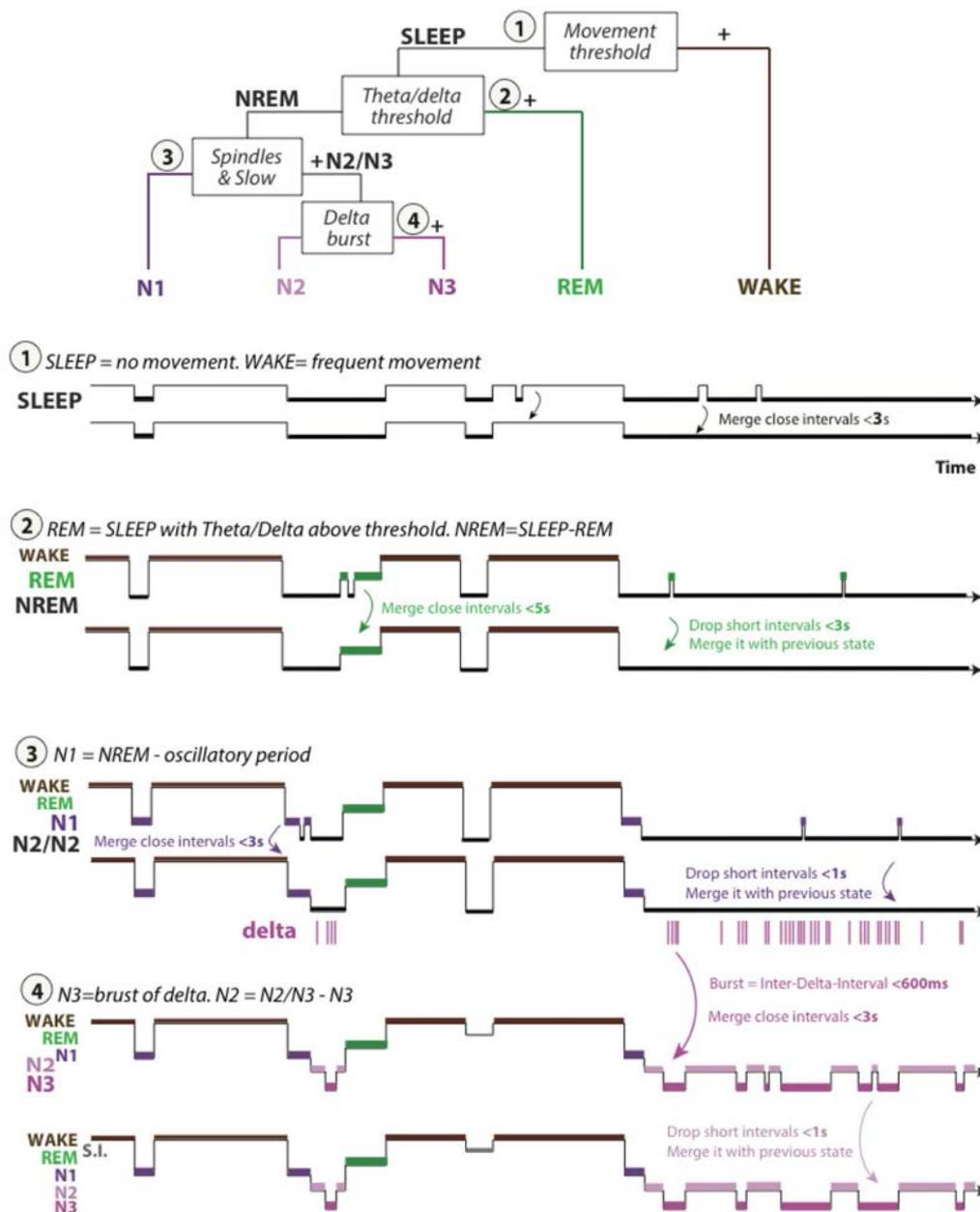


Figure 4.11: Bilan de la méthode de scoring du sommeil.

Étape 1- un seuil automatiquement défini à partir de la distribution de la quantité de mouvement permet de différencier l'éveil du sommeil. Étape 2- le ratio thêta/delta de l'hippocampe permet de différencier le REM du NREM selon un seuil déterminé de manière semi-automatique. Étape 3- Détection de périodes oscillantes dans la bande des spindles et la bande delta définissant les stades N2/N3 distinctes d'un stade léger de NREM nommé N1. Étape 4- Détection des bouffées d'ondes delta, afin de distinguer un stade profond de NREM nommé N3 caractérisé par une forte densité d'ondes delta, d'un stade plus intermédiaire N2.

Résumé de la méthode

Bilan des étapes

Afin de résumer l'ensemble des étapes précédemment développées, la méthode de scoring semi-automatique du sommeil décrite ici permet, selon des critères objectifs :

- De différencier l'éveil du sommeil à partir de la quantité de mouvement.
- Au sein du sommeil, de différencier le REM du NREM selon une méthode classique du ratio Thêta/Delta de l'hippocampe mais dont le seuil est déterminé de manière automatique.
- De subdiviser le NREM en 3 sous-états :
 - o Un stade N3 correspondant aux périodes de bouffées d'ondes delta,
 - o Un stade N2 correspondant aux périodes présentant des oscillations dans la bande delta et la bande des spindles mesurées au niveau préfrontal en dehors des périodes de bouffée d'onde delta.
 - o Et enfin le N1, correspond aux périodes de sommeil ne présentant pas d'oscillations dans ces dernières bandes de fréquences.

Un schéma récapitulatif de la méthode en quatre étapes est présenté figure 4.11. Les scorings successifs permettent de 1) différencier d'abord le sommeil de l'éveil, puis 2) le REM du NREM, puis 3) le N1 du N2/N3, et enfin 4) le N2 du N3.

Fenêtre temporelle pour définir les stades

Les phénomènes du sommeil se déroulant sur une période de l'ordre de la seconde sont difficiles à interpréter et ne seront pas considérés ici. En effet, les ondes delta, spindles, et ripples durent entre une centaine de milliseconde et une seconde. De plus les analyses spectrales étant effectuées avec une fenêtre glissante de 3s, nous avons choisi de ne pas considérer les épisodes de moins de 3s. Ces critères sont parfois utilisés dans la littérature (Robert *et al.*, 1999), bien que la majorité des études effectuent le scoring sur des fenêtres de 5 à 15s. Ainsi tout épisode de moins de 3s est regroupé avec l'épisode précédent.

Dans cette première partie nous avons vu comment il était possible de décomposer le sommeil de manière automatique et selon des critères objectifs, en éveil, REM et trois sous-stades de NREM : le N1 caractérisé par une absence d'oscillations dans les basses fréquences, le N2 caractérisé par la présence de rythme delta et de spindles, et enfin le N3 défini comme des périodes de bouffées d'ondes delta. Nous allons détailler maintenant les caractéristiques de ces différents sous-stades.

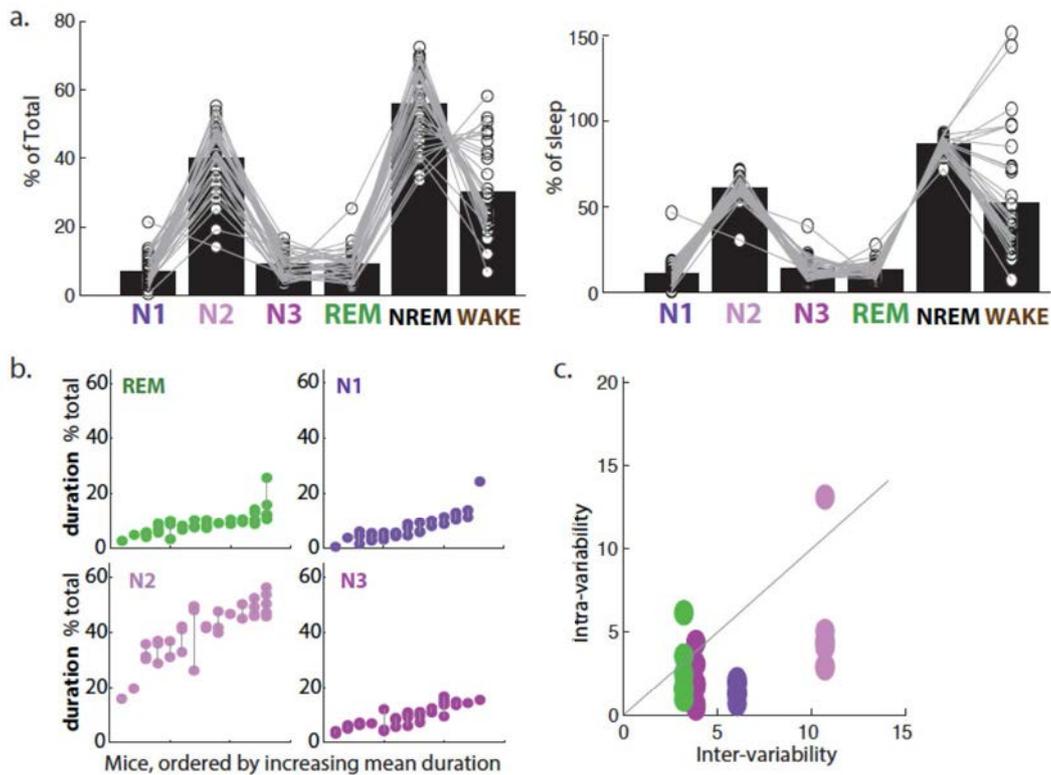


Figure 4.12: Durée totale des sous-stades de sommeil et variabilité

a- Le temps passé dans les sous stades de NREM (N1, N2, N3), en REM, en éveil (WAKE) et en NREM total (NREM) sont exprimés en pourcentage du temps total (gauche), et en pourcentage du temps de sommeil (droite). Noter la faible variabilité interindividuelle entre les durées des stades, proche de celle du REM scoré de manière classique. Moyenne et SEM n=33 expériences, N=13 animaux.

b- durées des stades N1, N2, N3 et REM en pourcentage de l'enregistrement total. Chaque point correspond à un enregistrement, les enregistrements d'une même souris sont sur le même abscisse. Les souris sont ordonnées par durée moyenne croissante pour chaque phase de sommeil. c- Corrélation entre les variabilités intra et inter-individuelles de la durée des différents sous-stades (N=7 avec n>2 pour chaque animal). Noter que la variabilité entre souris différentes est globalement plus importante que la variabilité intra-individuelle.

IV-1-b. Caractéristiques générales des sous-stades de NREM

Durée totale des sous-stades de NREM

Afin de comprendre la dynamique des différents sous-stades décrits ici, leur durée globale est quantifiée. Pour tous les enregistrements d'une durée moyenne de 8h +/-2h, le pourcentage de temps passé dans les différents états d'éveil, de REM ou de NREM, ainsi que dans les sous-stades N1 N2 N3 est présenté figure 4.12a.

Tout d'abord nous pouvons remarquer que le pourcentage de sommeil correspondant à du REM est d'environ 10%, ce chiffre est en accord avec ce qui est classiquement décrit dans la littérature.

De plus, il est intéressant de remarquer que la durée globale de N3 est stable d'un animal à l'autre, et également proche des 10%. De même le N1 et le N2 représentent un pourcentage très conservé d'une souris à l'autre.

Ce résultat valide le bien-fondé de notre approche puisqu'il met en évidence une conservation des durées de sous-stades définis par des critères objectifs. Cette stabilité peut en effet refléter des phénomènes d'homéostasie des marqueurs utilisés lors du scoring, régulant la durée relative de ces différents stades au sein du sommeil.

Variabilité interindividuelle et intra individuelle de la durée des états

Tout d'abord, le pourcentage de temps passé dans les différents états de vigilance est quantifié pour chacune des expériences réalisées (Figure 4.12b,c). Le pourcentage de sommeil alloué au N1, au N2, et au N3 varie peu d'une expérience à l'autre pour un animal donné, et moins que d'un animal à l'autre, suggérant des spécificités individuelles telles celles décrites pour des courts- versus longs-dormeurs. Notamment, ces variabilités intra- et inter-individuelles sont comparables à celles de la durée du REM, stade déterminé par des méthodes classiques de scoring. Ainsi l'homogénéité de la durée globale des différents sous-stades suggère que les processus impliqués dans leur régulation sont conservés d'un jour à l'autre voire d'un animal à l'autre. Ce résultat plaide à nouveau en faveur de l'importance et de la réalité physiologique de la sous-catégorisation effectuée ici.

Les rythmes du sommeil

Spectre moyen

L'analyse spectrale du LFP enregistré au niveau du cortex préfrontal et au niveau de l'hippocampe permet de comparer la force des oscillations dans ces sous stades de NREM (Figure 4.13). Les rythmes de la bande delta (2-4Hz) sont de plus en plus importants entre le N1 et le N3, reflétant ainsi la profondeur de sommeil. Par la méthode de scoring elle-même, on s'attend en effet à une plus forte

Résultats

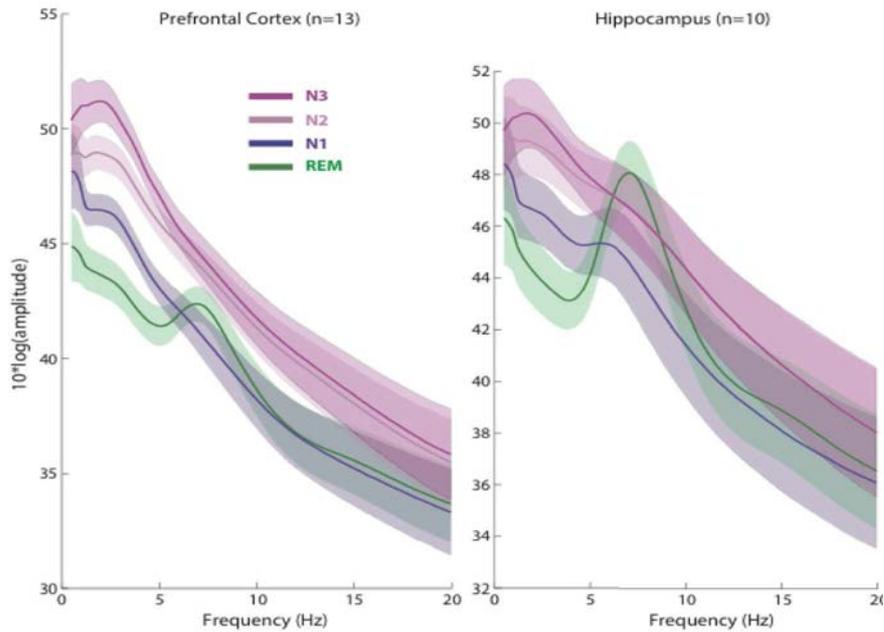


Figure 4.13: Analyse spectrale du LFP pour les sous-stades de sommeil.

Spectre de puissance moyen entre 0.1 et 20Hz enregistré au niveau du cortex préfrontal (gauche, N=13 souris) et de l'hippocampe (droite, N=10) durant le sommeil. Les traits pleins indiquent la moyenne de chaque état et les aires de couleurs la SEM.

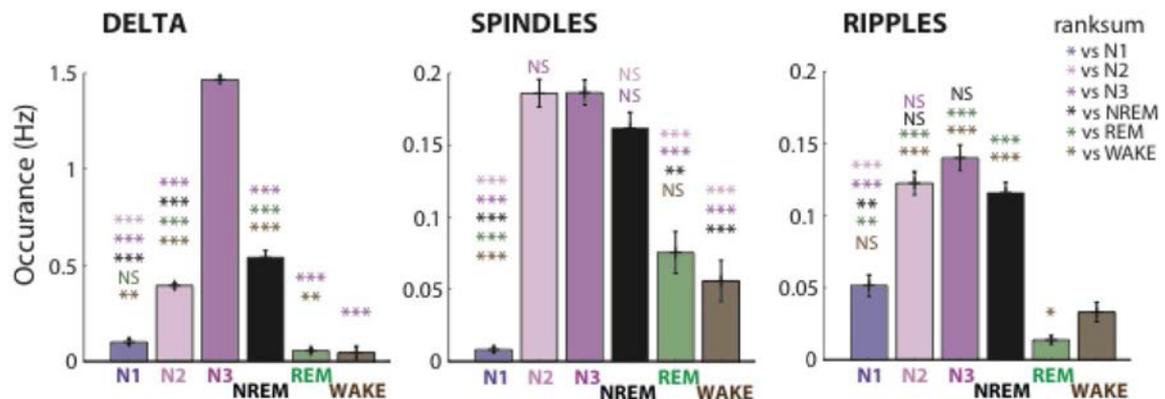


Figure 4.14: Les rythmes au sein des sous-stades de sommeil.

Occurrence des ondes delta, spindles et ripples détectées durant les sous-stades N1 N2 N3, le REM et pour information durant l'éveil et le NREM total. Point individuels, moyenne et SEM, n=13 animaux pour delta et spindles, n=10 pour les ripples. Test de Wilcoxon pour chaque paire d'état de vigilance : *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, NS non significatif. Noter que les ondes delta sont très fréquentes dans le N3, que spindles et delta sont peu présentes en N1 et REM, et que les ripples suivent plutôt le profil des spindles.

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

présence de rythme delta dans les stades N2 et surtout N3.

La présence d'un rythme dans la bande thêta durant le REM est classiquement observée chez la souris et correspond essentiellement à la conduction volumique du rythme téta généré au niveau de l'hippocampe (Sirota *et al.*, 2008). En effet, aucun dipôle générateur de thêta n'a été observé dans le cortex préfrontal.

Occurrence des rythmes corticaux : onde delta et spindles

Nous avons ensuite quantifié l'occurrence de ces événements dans les stades N1, N2, N3 et REM (Figure 4.14).

Il apparaît comme attendu que la quantité d'onde delta est la plus abondante durant le N3, plus faible durant le N2 et très faible durant le N1, au même niveau que le REM. De même, le N1 étant défini comme une période de faible oscillation dans la bande de 2 à 20Hz, les spindles en sont absentes, alors que ces rythmes sont très présents en N2 et N3.

Ainsi le stade N1 correspond à une absence de spindles et de delta, le stade N2 à beaucoup de spindles et peu de delta, et le stade N3 à beaucoup de spindles et beaucoup de delta.

Il faut cependant noter une occurrence non négligeable des spindles corticales détectées durant le REM. Ce phénomène pourrait être attribué à une période de sommeil intermédiaire, décrite régulièrement dans la littérature (Gottesmann, 1992), durant laquelle le cortex préfrontal présente encore un grand nombre de spindles alors que le thêta caractéristique du REM est déjà présent dans l'hippocampe. Des analyses supplémentaires seraient cependant nécessaires pour confirmer ce point. Dans nos analyses, les périodes de sommeil intermédiaires sont automatiquement incluses dans le REM puisque ce dernier est défini uniquement par le ration thêta/delta de l'hippocampe, indépendamment de l'activité corticale.

Le pourcentage de spindles et de ripples correspond à ce qui a déjà été observé durant le NREM, le REM et l'éveil, validant notre méthode de détection et la continuité de notre approche qui s'inscrit dans une littérature classique de scoring.

Occurrence des ripples de l'hippocampe

En revanche, il est une oscillation qui n'est pas utilisée lors de la séparation des sous-stades de NREM : il s'agit des ripples de l'hippocampe. La méthode que nous avons utilisée pour la détection des ripples est classique (voir IV- Matériel et Méthode).

Malgré le petit nombre d'onde delta et de spindles durant le stade N1, le nombre de ripples reste relativement élevé, bien qu'inférieur à celui du N2 et du N3 (Figure 4.14). Il apparaît donc que les ripples surviennent de manière indépendante des delta et spindles durant le stade de N1, et leur rôle pourrait être distinct entre les stades de sommeil léger et plus profond.

Résultats

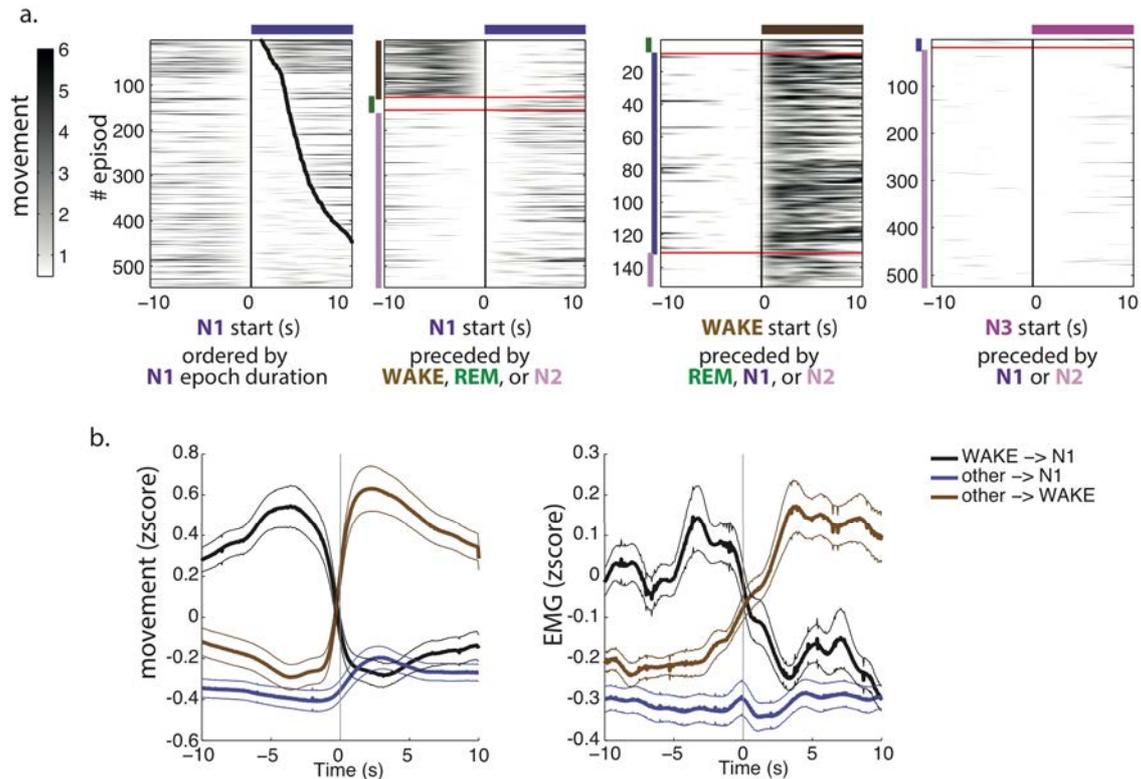


Figure 4.15: Les caractéristiques du N1

a. Exemple de quantité de mouvement sur le début de tous les épisodes de N1, d'éveil et de N3 (n=1). Les épisodes sont ordonnés selon la durée de l'épisode de N1 (panel gauche, point noir correspondant à la fin de l'épisode) ou selon la nature de l'épisode précédent le N1, l'éveil ou le N3 respectivement. Unité arbitraire, le noir correspondant à de fortes valeurs. Noter l'absence de mouvement en N3 (contrôle négatif), le mouvement systématique pour les épisodes d'éveil (contrôle positif) et la quasi absence de mouvement au sein des épisodes de N1. b- Moyenne du mouvement et de l'EMG pour les transitions vers N1 ou vers l'éveil, et le cas particulier de l'éveil vers N1. Mouvement (n=29, N=11) et EMG (n=8, N=4) sont normalisés par zscore sur l'ensemble de chaque enregistrement.

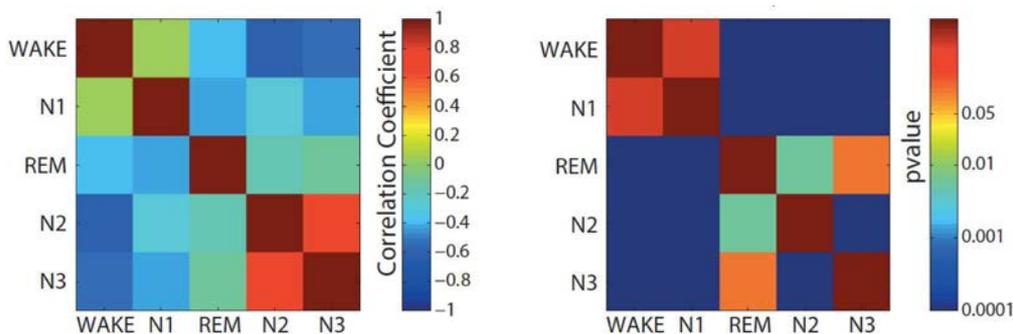


Figure 4.16: Activité neuronale selon les états de vigilance

aAnalyse en composante principale sur le taux de décharge moyen dans les différents états de vigilance, de l'ensemble des neurones enregistrés (n=266, 10sessions, 3souris). gauche- Matrice de corrélation des vecteurs propres pour la première composante, ordonnés par coefficient croissant. droite- significativité de la corrélation pour chaque paire d'état de vigilance. Noter la corrélation N2-N3, et leur anti-corrélation avec le REM-N1-éveil.

Qu'est-ce que le N1 ?

Nous venons de voir que le N1 était défini comme un mode par défaut, puisqu'il est caractérisé par une absence d'oscillation de grande amplitude. Nous pouvons donc nous interroger sur le bienfondé de cet état, notamment puisqu'il pourrait être apparenté à de l'éveil calme ou encore à des micro-éveils au sein du sommeil.

Tout d'abord, nous avons vu plus haut que sa durée est stable d'une expérience à l'autre, et d'un animal à l'autre, suggérant que ce phénomène est une réalité physiologique soumise à des processus de régulation. Mais le N1 pourrait-il correspondre à des micro-éveils ?

Nous avons tout d'abord quantifié le mouvement durant cet état (Figure 4.15). Nous avons comparé les transitions vers le N1, aux transitions vers l'éveil comme contrôle positif. Il apparaît que les transitions vers le N1 sont bien caractérisées par le maintien ou l'apparition d'immobilité pour plusieurs secondes. De plus le N1 ne semble pas faire suite ou être accompagné de micro-mouvements lorsqu'il est précédé par du REM ou du N2 (Figure 4.15a), suggérant qu'il ne s'agit pas de micro-éveil. L'analyse sur tous les animaux (Figure 4.15b) révèle que le N1 est bien associé à une quantité de mouvement faible. La transition vers le N1 depuis d'autres états de sommeil s'accompagne d'une légère augmentation de mouvement mais cela peut être dû aux épisodes courts de N1 suivi d'éveil (Figure 4.15a).

Nous avons ensuite confirmé ce résultat en quantifiant les modifications au niveau de l'EMG, afin de comprendre si le N1 est associé à un tonus musculaire accru mais invisible sur la vidéo (Figure 4.15b). Or il n'en est rien, bien que les transitions de l'éveil vers le N1 indiquent un tonus musculaire encore un peu élevé, les transitions des autres états de sommeil vers le N1 ne s'accompagnent pas de modification substantielle de l'EMG.

Changement de l'activité neuronale

Variance de l'activité neuronale

Quelle est la réalité physiologique de ces sous-stades de NREM ? Afin de répondre à cette question, nous avons utilisé l'activité de 256 neurones enregistrés chez 3 souris au cours de plusieurs sessions de sommeil pour comparer les taux de décharge en N1, N2, N3, REM et éveil. Un exemple d'enregistrement durant le NREM avec l'activité neuronale est présenté en annexe (Figure A5).

Pour les différents enregistrements, le taux de décharge moyen de chaque neurone est calculé pour chacun des sous-stades de sommeil, et est normalisé (zscore) pour chaque neurone. Une analyse en composante principale a permis de montrer que l'activité neuronale était significativement corrélée entre les stades N2 et N3 (Figure 4.16), c'est à dire qu'un neurone actif durant le N2 sera également actif durant le N3 ; inversement, un neurone inactif durant le N2 le sera également durant le N3. Aussi, les stades REM, N2 et N3 sont-ils anti-corrélés aux stades éveil et N1, suggérant que

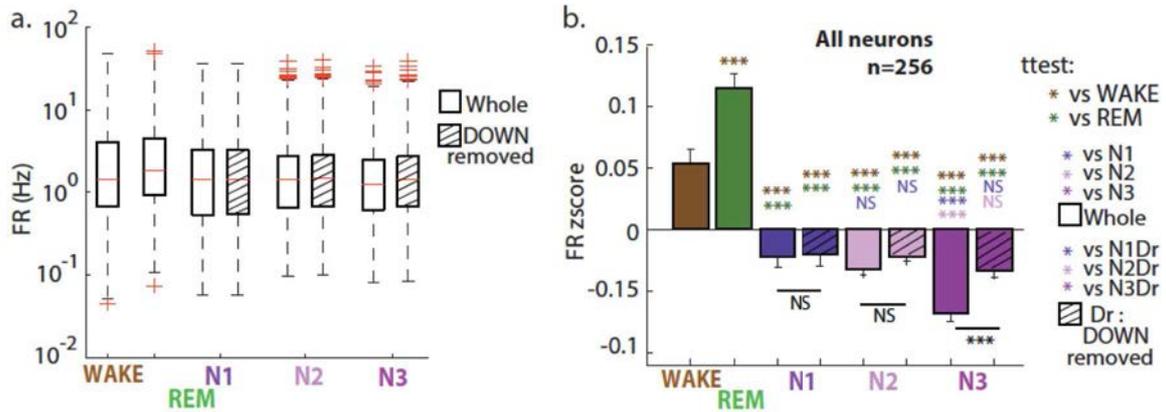


Figure 4.17: Sous-population de neurones dans le cortex préfrontal.

a- Graphe en boîte du taux de décharge moyen (firing rate, FR) dans l'éveil, le REM, et les différents sous stades de NREM, (n=266 neurones, 10 sessions, 4 souris). Pour le N1, N2 et N3, le taux de décharge corrigé pour les états Down est indiqué en hachuré. b- taux de décharge moyens par état de vigilance pour l'ensemble des neurones enregistrés. La normalisation par zscore est appliquée sur tout l'enregistrement. Noter l'augmentation significative du taux de décharge entre le N3 et le N3 corrigé dû à la présence de nombreux états Down dans ce stade de sommeil.

Test de student pour chaque paire d'état de vigilance : *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, NS non significatif.

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

la profondeur du sommeil est reflétée par l'activité de populations de neurones. En revanche, l'éveil et le stade léger N1 ne sont pas significativement corrélés indiquant que le N1 est bien un stade à part entière et non un stade proche de l'éveil.

Taux de décharge moyen

La plupart des études ne voient pas de différence du taux de décharge moyen des neurones entre sommeil et éveil. Nous retrouvons ici ce résultat (Figure 4.17a). L'occurrence de spikes peu varier selon les neurones entre 0.1 et 30Hz. Noter que cette analyse ne différencie pas les interneurons et les cellules pyramidales mais cette analyse est en cours. En revanche des études récentes montrent une évolution du taux de décharge au sein du sommeil (Grosmark *et al.*, 2012).

Afin de comparer la variation de l'activité des neurones au cours des différents stades de sommeil, nous avons normalisé l'activité de chaque neurone (zscore, figure 4.17b). Le taux de décharge normalisé semble augmenter d'environ 30% entre l'éveil et le REM pour la population de neurones corticaux analysée. En moyenne, le taux de décharge normalisé est en revanche significativement diminué durant les stades N1, N2 et N3, soulignant à nouveau que le stade N1 appartiendrait bien au sommeil.

Cette analyse est cependant biaisée par les états DOWN où tous les neurones sont silencieux, particulièrement pour le stade N3 défini par une occurrence élevée d'onde delta. Nous avons donc corrigé ce biais, en analysant le taux de décharge moyen en dehors des périodes de silence neuronal (Figure 4.17a-b hachuré). Comme attendu, cela réhausse le taux de décharge particulièrement en N3, mais le taux de décharge reste plus faible dans le NREM que dans le REM et l'éveil.

Neurones spécifiques des sous-stades

Cependant ce profil de décharge moyen observé sur la totalité des neurones enregistrés ne reflètent pas la réalité de l'activité neuronale. En effet, l'analyse en composante principale (Figure 4.18) indique notamment que REM, N2 et N3 sont positivement corrélés et cela n'apparaît pas ici.

Nous avons donc catégorisé chaque neurone selon le stade de sommeil dans lequel son taux de décharge est maximal (Figure 4.18c). Tout d'abord les neurones « WAKE » ont la particularité d'être plus actifs durant l'éveil que durant n'importe quelle phase de sommeil, notamment le taux de décharge est identique en N1 et en REM.

En revanche les neurones « REM » augmentent très fortement leur activité durant le REM, alors que le N1 et le N3 ont de faibles taux de décharge.

De manière intéressante, certains neurones s'activent particulièrement durant le N1 distinguant encore une fois cet état de l'éveil.

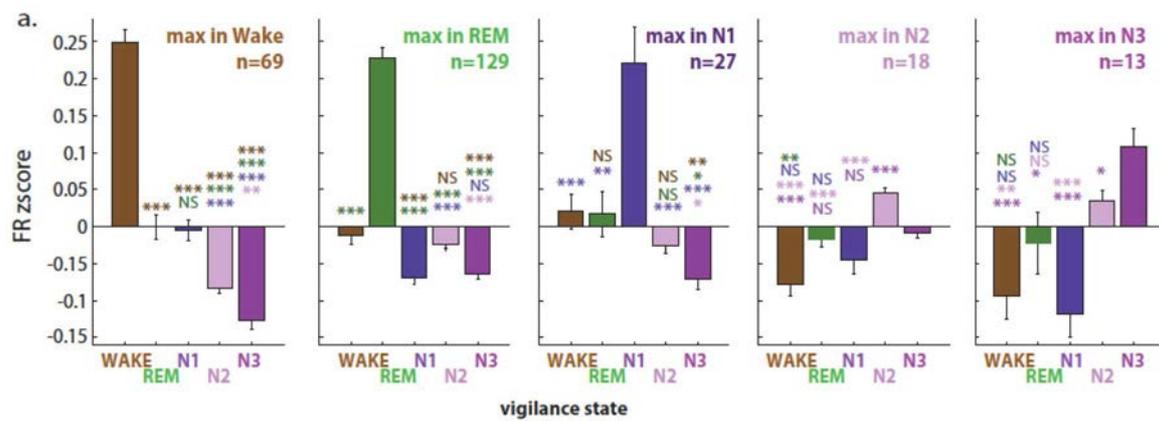


Figure 4.18: Sous-population de neurones dans le cortex préfrontal.

a- taux de décharge moyens par état de vigilance pour les neurones dont le taux de décharge est maximal en éveil, REM, N1, N2 ou N3 respectivement. La normalisation par zscore est appliquée sur tout l'enregistrement. Les sous-stades de NREM sont corrigés par les états Down.

Test de student pour chaque paire d'état de vigilance : *p<0.05, **p<0.01, les valeurs non significatives ne sont pas indiquées.

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

Pour ce qui est des neurones « N2 » et « N3 » en revanche, ils présentent un taux de décharge plus élevé en N2 et N3, et plus faible dans les stades légers comme l'éveil, REM et N1.

Les résultats de cette catégorisation ne sont pas modifiés par la correction des états Down.

Pour résumer, des sous-populations neuronales semblent avoir une activité très dépendante des sous-états de vigilance. Cette spécificité pourrait être reliée à une sensibilité différentielle aux neuro-modulateurs dont la concentration varie pendant les sous-stades de sommeil.

Notamment la présence d'une population neuronale très active durant le N1 renforce l'idée qu'il s'agit d'un état à part entière, différent de l'éveil.

De plus, il apparaît que l'ensemble des variations de l'activité neuronale décrite ici pourrait suffire à prédire l'état de vigilance de l'animal à chaque instant. Cette analyse est en cours dans le laboratoire.

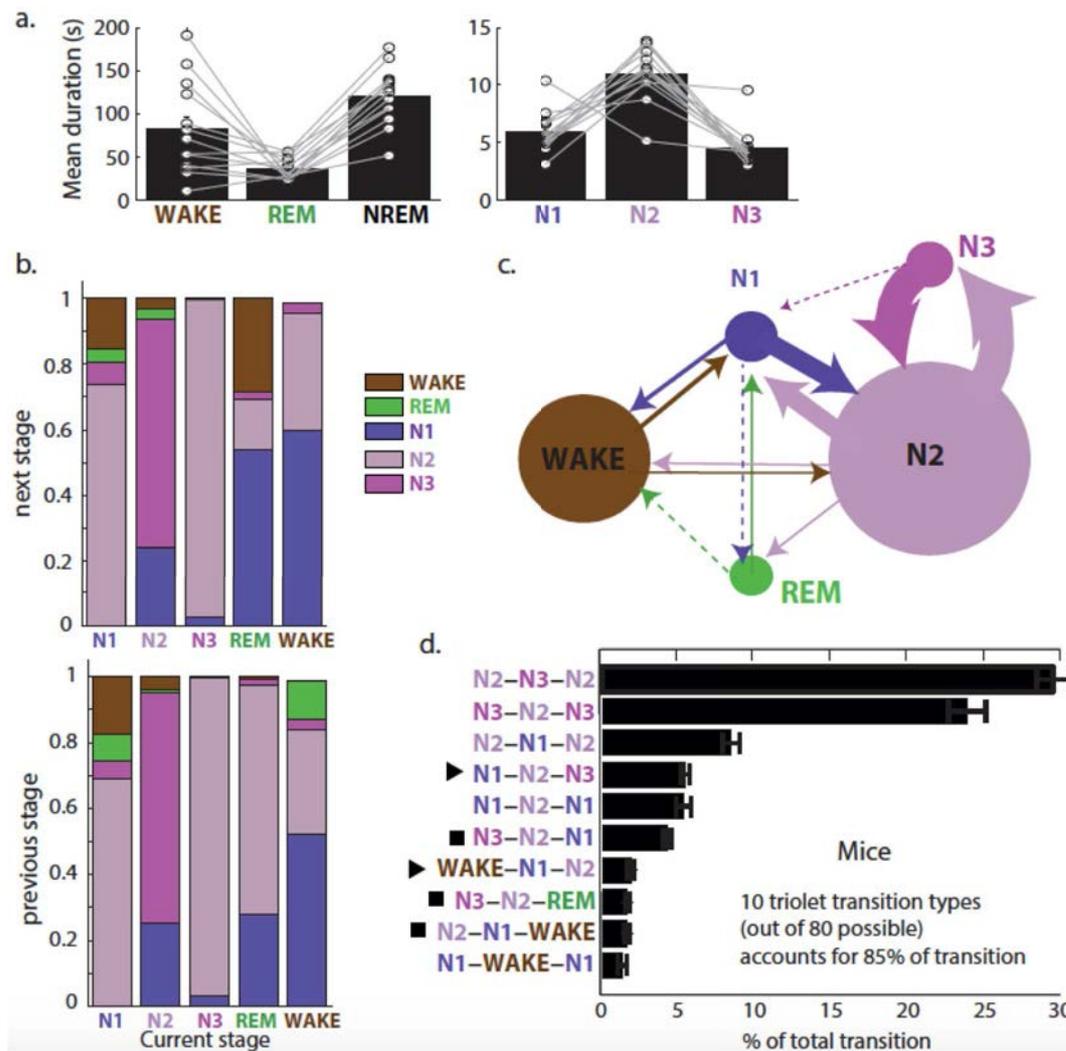


Figure 4.19: Dynamique des états de vigilance

a- Durée moyenne en seconde d'un épisode de REM, éveil, ou NREM non différencié (gauche), et d'un épisode de N1, N2 et N3 (droite). N=13 animaux.

b- Probabilité de transition entre états de vigilance. Probabilité de transiter vers un autre stade à partir du stade actuel en fonction de sa nature (haut, N=13), et probabilité de la nature du stade précédent en fonction du stade actuel (bas).

c- diagramme de transition résumant b. la taille des cercles est relative à la durée globale de chaque état de vigilance (majoritairement le N2, et équitablement entre N1, N2 et REM), la taille des flèches correspond aux nombres de transition entre deux états. Noter le grand nombre de transition entre N2 et N3, stades labiles (a.), fréquents et particulièrement court pour le N3. Noter également le faible nombre de transition vers le REM et l'éveil, états stables dont les durées sont grandes.

d- Trios de phases de sommeil les plus fréquemment observés chez la souris, exprimé en pourcentage du nombre total de transition. 80 transitions possibles existent, mais nous avons choisi de montrer ici les transitions contribuant en cumulé à 85% des transitions totales. Le reste est donné pour information en Annexe A3

IV-1-c. Dynamique des sous-stades de sommeil

Nous venons de décrire les caractéristiques globales des sous-stades, mais qu'elle est leur organisation à une échelle plus fine ? Afin de mieux décrire la dynamique du sommeil NREM, nous allons analyser les durées et les probabilités de transitions des stades N1, N2, N3

Durée moyenne d'un épisode

Non seulement la durée globale du REM et du NREM ne varie que très peu d'un animal à l'autre (Figure 4.12), mais la durée moyenne d'un épisode de REM, tout comme celle d'un épisode de NREM est assez conservée. Il est intéressant alors de connaître la durée moyenne d'un épisode de N1, de N2 ou de N3.

Ce résultat est présenté figure 4.19a. Un épisode de REM dure en moyenne 40s et un épisode de NREM 120s, ce qui est en accord avec la littérature. Quand aux sous-stades de NREM, leur durée est assez courte : environ 4s pour un épisode de N3, 6s pour N1 et 12s pour N2. Cela montre la dynamique rapide du changement de pattern oscillatoire du sommeil chez le rongeur, et explique également la difficulté d'établir des stades clairs, si l'on prend comme référence la stabilité des sous-stades observés chez l'homme.

Cette durée moyenne ne varie que très peu au sein de la période de sommeil (heure de la journée).

Probabilité de transition

Pour comprendre la dynamique du NREM nous avons quantifié la probabilité de passage d'un stade à l'autre (Figure 4.19b-c) : le nombre de transition vers les autres stades, ou depuis les autres stades est indiqué en pourcentage pour chaque stade.

Par exemple, pour le stade N1, la majorité des épisodes sont précédés de N2 et suivis de N2, mais au moins 20% de transitions correspondent au passage de N1 vers l'éveil ou de l'éveil vers N1. De la même façon le N3 transite majoritairement vers et depuis le N2.

A partir de ces différentes informations, il est possible de faire un diagramme de transition (Figure 4.19.c). Ici la taille des cercles est relative à la durée globale de chaque stade, le N2 étant le stade majoritaire du sommeil, les N1, N3 et REM représentant quant à eux une portion similaire entre 10 et 15%. La taille des flèches correspond au nombre de transitions d'un état à l'autre. La majorité des transitions se font entre les stades N2 et N3, et un nombre assez important entre N1 et N2, car ce sont des épisodes de courte durée. A l'inverse, les quelques transitions vers les stades REM et éveil suffisent à expliquer le temps passé dans ces stades qui durent en moyenne plus longtemps.

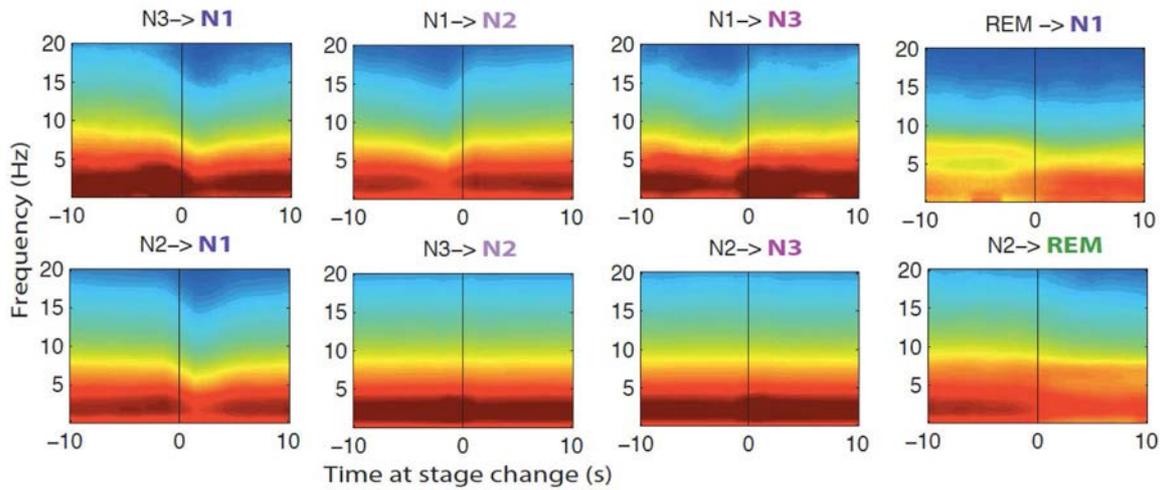


Figure 4.20: Spectre de puissance aux transitions entre états de vigilance.

Les spectres de puissance sur une fenêtre de 20s autour des transitions entre les différents stades ont été moyennés (n=13). Noter la présence de fortes oscillations dans la bande delta en N3 et N2, beaucoup moins présente en N1. Noter la bande thêta avant la transition du REM vers N1, et la persistance de la bande delta au début du REM après le N2. L'échelle de couleurs est identique sur tous les panels.

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

Enfin, la quantification du nombre de paire de transition (enchaînement de 3 états, Figure 4.19.d) permet également de décrire cette dynamique. Il apparaît que les aller-retours entre N2 et N3, ou N1 et N2 sont effectivement les évènements majoritaires, soulignant le switch rapide d'un état à l'autre. Ceux-ci mis à l'écart, les transitions majoritaires sont une progression des états de sommeil légers vers des états plus profonds tel le trio N1-N2-N3, ou de l'éveil vers le sommeil léger WAKE-N1-N2 ; mais également une progression du sommeil profond vers des états de sommeil légers N3-N2-N1 ou N3-N2-REM, ou vers un état d'éveil N2-N1-WAKE. Ce type de transition correspond parfaitement à ce qui est classiquement observé chez l'homme. L'ensemble des 80 transitions est présenté en annexe (Figure A1).

Spectres de transition

Quels sont les changements électrophysiologiques associés aux transitions ? En effet les caractéristiques décrites jusqu'à présent concernaient les sous-états pris dans leur globalité, mais que se passe-t-il dans le cortex au moment d'un changement d'état ?

Pour répondre à cette question nous avons d'abord observé les changements moyens du spectre de puissance (Figure 4.20). Nous retrouvons les résultats attendus à savoir que la fin du REM est associée à une forte bande thêta (conduction volumique) depuis l'hippocampe et une faible bande delta, le thêta disparaissant pour faire place au delta au passage en N1 ou N2. Les passages N2 -N1 et N3 - N2 sont associés à une diminution de la puissance spectrale en delta, et inversement les passages de N1 vers N2, et N2 vers N3 sont associés à une augmentation de cette puissance.

Les résultats obtenus ici sur les transitions reflètent les phénomènes observés au niveau des périodes globales. Pour mieux comprendre le processus de transition il serait essentiel de regarder l'activité des sous-types de neurones corticaux à ces moments particuliers. Cette analyse est en cours de développement.

Dans cette première partie, les caractéristiques des différents sous-stades ont été décrites. Il apparaît que le N1, N2 et N3 ont des caractéristiques différentes en terme de durée globale, de durée d'un épisode et de patterns d'oscillation associés, mais que ces différences soient reproductibles d'un animal à l'autre. Cette reproductibilité souligne la réalité physiologique et l'importance potentielle de ces différents stades.

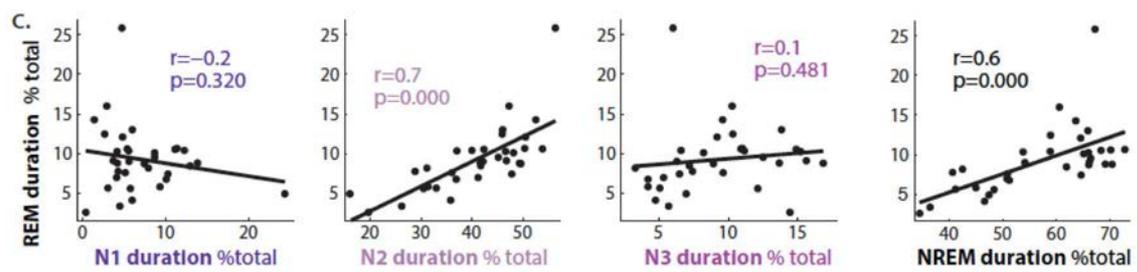


Figure 4.21: Corrélation entre la durée des sous-stades.

Corrélation entre la durée totale de REM et les durées de N1, N2 et N3, et NREM total pour chaque enregistrement (n=33, N=13) et moyennées pour chaque animal. Pour chaque régression linéaire, la valeur du coefficient (r) et de significativité (p) sont indiqués au dessus.

IV-2 Importance des sous-stades de NREM : Homéostasie et coordination des rythmes

Quelle importance pourrait avoir la discrimination des sous-stades de NREM ?

Un premier aspect concerne l'évolution du sommeil au cours du temps de sommeil. Chez l'homme, le sommeil n'est pas homogène au cours de la nuit et nos cycles de sommeil ne sont pas composés de la même quantité de N3 et de REM en début et fin de nuit. Nous pouvons donc nous interroger sur l'évolution au cours du temps de sommeil des différents paramètres caractérisant les sous-stades de NREM que nous venons de décrire.

Aussi, il est intéressant de comparer les liens entre les oscillations liées à la consolidation mnésique - ondes delta, ripples et spindles - au cours de ces sous-stades, notamment en terme de coordination. L'organisation de la communication entre différentes structures, notamment pour la consolidation mnésique du sommeil, varie-t-elle ?

Enfin nous pouvons nous interroger sur la similarité des sous-stades obtenus chez le rongeur avec les sous-stades décrits chez l'homme. Quels sont les caractéristiques conservées ?

IV-2-a. Macrostructure des différents sous-stades du sommeil

Afin de comprendre si des processus homéostatiques permettent la régulation des différents sous-stades de NREM, nous allons quantifier ici la relation d'interdépendance entre le N1, N2, N3 et le REM en terme de durée globale.

Corrélation entre la durée globale des états

Le REM est un stade bien caractérisé grâce à ses marqueurs électrophysiologiques décrits précédemment (ratio thêta/delta dans l'hippocampe). De plus, certains travaux ont étudié les processus homéostatiques expliquant l'initiation et le maintien des épisodes de REM, notamment en fonction de l'historique de NREM. Il existe actuellement une controverse entre l'influence du NREM dans la régulation du REM. Cette controverse n'est toujours pas réglée, cependant une étude a montré que l'identification des sous-stades améliorerait les analyses de corrélation entre REM et NREM (Neckelmann & Ursin, 1993). Cette étude avait cependant été réalisée chez le chat dont les sous-stades de NREM sont mieux caractérisés que chez le rongeur. Nous allons utiliser les sous-stades N1, N2 et N3 pour tester cette hypothèse chez la souris.

Pour comprendre l'importance putative des différents sous-stades de NREM nous avons quantifié le lien entre la durée globale des différents stades et la durée du REM (Figure 4.21).

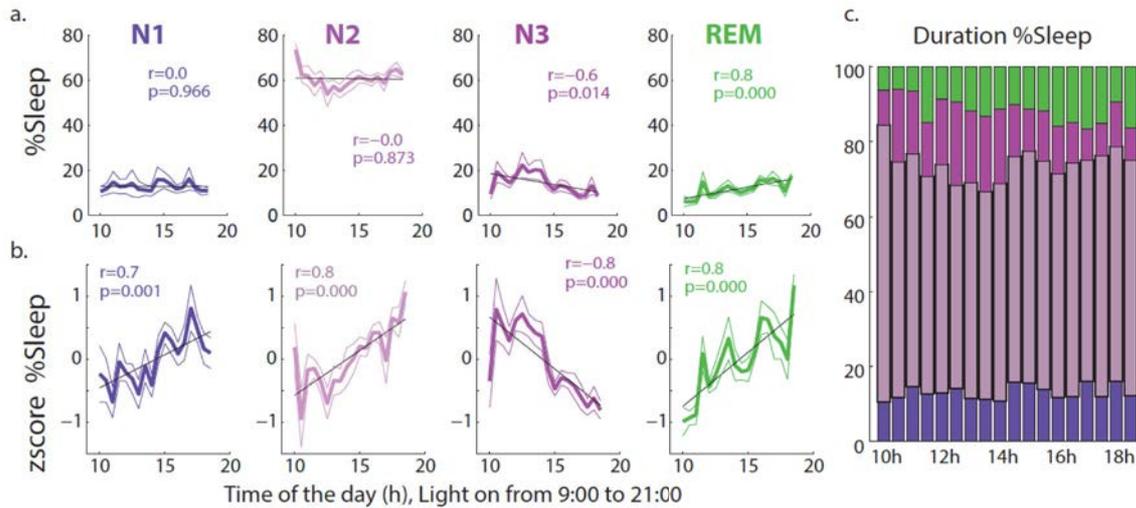


Figure 4.22: Évolution du temps passé dans les différents sous-stades en fonction de l'heure de la journée.

a- temps passé dans les sous stades de NREM (N1, N2, N3) et en REM, exprimés en pourcentage du temps de sommeil (n=33, N=13). Le temps de la journée est découpé en période de 30min entre 10h et 19h, représentant la majeure partie de la période de sommeil. b- même analyse en normalisant ces valeurs par zscore au sein de chaque état de vigilance afin de mieux illustrer les différentes dynamiques. c- Pourcentages cumulés du sommeil occupé par les différentes phases au cours du temps.

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

Nous observons ici que la durée du REM est positivement corrélée à la durée du N2 : plus l'animal passe de temps en N2, plus la durée de REM est importante. Cet effet pourrait être simplement dépendant de la durée des épisodes de sommeil : plus le temps d'un épisode augmente, plus la durée du N2 et du REM augmentent. Mais si tel était le cas, une corrélation serait également visible avec les stades N1 et N3, or on n'observe aucune corrélation entre le N1 et le REM, ou entre le N3 et le REM. Ce résultat montre donc que la durée de REM est spécifiquement liée à la durée de N2.

De plus la corrélation entre la durée de N2 et de REM est améliorée par rapport à celle entre NREM total et REM. Il semble donc que le rôle du NREM dans l'homéostasie du REM décrit dans la littérature puisse être attribué au N2 seulement, soulignant à nouveau l'importance de cette sous-catégorisation explicitant la non-homogénéité des processus du sommeil.

IV-2-b Processus homéostatique

Nous venons de décrire la relation entre les durées globales de REM et de sous-stades de NREM, mais le sommeil est un processus dynamique qui évolue au cours de la nuit de sommeil. Notamment le REM est classiquement plus présent en fin de période de sommeil, chez l'homme mais aussi chez le rongeur. Nous souhaitons caractériser ici l'évolution de la durée des stades de sommeil au cours du temps.

Evolution des sous-stades au cours de la « nuit de sommeil »

Le pourcentage de sommeil dans les sous-stades a été quantifié en fonction de l'heure de la journée (Figure 4.22). Il apparaît que la proportion de sommeil allouée au REM augmente au cours de la « nuit de sommeil », ce qui est en accord avec la littérature.

Bien que les proportions de N1 et N3 soient assez faibles en valeur absolue, on peut noter une légère augmentation de N1 et une diminution du N3 au cours du temps (Figure 4.22a-c). En revanche la quantité de N2 diminue en début de nuit avant de se stabiliser, alors que celle de N3 augmente d'abord avant de diminuer. L'utilisation d'une normalisation par zscore pour chaque expérience permet de s'affranchir de la variabilité interindividuelle décrite plus haut et renforce le résultat précédent (Figure 4.22b).

Il est intéressant de noter le pattern opposé du N3 et du REM qui n'est pas sans rappeler l'évolution du sommeil chez l'homme : un début de nuit avec des cycles composés principalement de N3, puis des cycles où le REM prend de plus en plus d'importance. Ces changements au cours du temps reflètent donc une dynamique particulière du sommeil que nous souhaitons étudier maintenant.

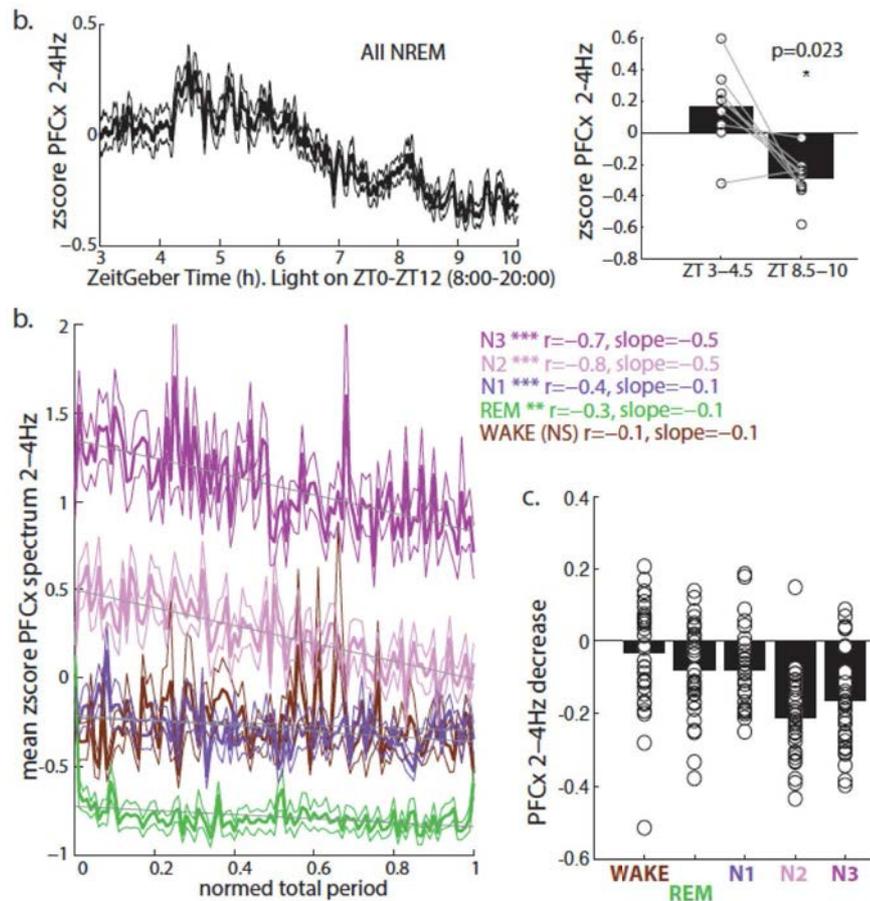


Figure 4.23: Diminution des oscillations lentes corticales durant le sommeil.

a. Puissance de la bande delta du cortex préfrontal au début (11h-12h30) et en fin (16h30-18h) de sommeil pour les différents états de vigilance. Moyenne et SEM (n=17), test apparié Wilcoxon ranksum : * $p<0.05$, ** $p<0.01$, NS : non significatif. c- Puissance de la bande delta du cortex préfrontal au cours de du temps. La puissance a été normalisée pour chaque souris (n=33, N=10) par un zscore sur l'ensemble de l'enregistrement, et non par état de vigilance afin de permettre la comparaison des états entre eux. Le temps d'enregistrement de chaque souris est normalisé entre 0 et 1. Les informations de régression linéaire sont indiquées à droite du graphe. Noter la faible puissance delta pendant le REM, et la différence de puissance entre N1, N2 et N3. b- quantification de la pente de la régression linéaire effectuée sur la décroissance de la bande delta du cortex préfrontal pour chacun des états de vigilance.

Quantification de la diminution du rythme delta au cours du sommeil

Un des éléments révélateurs de la pression de sommeil est la puissance dans la bande delta (2-4Hz). En effet cette puissance est élevée en début de nuit et diminue avec le temps de sommeil.

Nous retrouvons ici ce résultat puisque la puissance du spectre dans la bande delta durant le NREM est significativement diminuée en fin de période de sommeil (Figure 4.23a, voir IV-Matériels et Méthodes).

Cependant nous venons de voir que la distribution des sous-stades de NREM n'est pas homogène au cours du sommeil, et la décroissance des oscillations lentes pourraient être expliquée par la simple décroissance de la durée de N3, le profil étant très similaire (Figure 4.22b). Pour comprendre si cette décroissance dépend d'un sous-stade de NREM, nous avons comparé la décroissance de l'amplitude mesurée sur le spectre de puissance dans cette bande dans tous les états de vigilance (Figure 4.23b-c).

Il apparaît qu'une diminution générale des oscillations delta est visible dans le spectre de puissance pour tous les états de vigilance, suggérant que la diminution du temps alloué au N3 au cours du temps de sommeil ne peut expliquer ce phénomène. De plus la pente de la décroissance est similaire entre le N2 et le N3, bien que le niveau de base soit plus élevé en N3, suggérant que c'est l'amplitude des oscillations qui décroît avec le temps de sommeil.

Cependant il se pourrait que les bursts d'onde delta soient plus éparses à la fin de sommeil, et ce à la fois pour le N2 et le N3, expliquant alors la diminution de cette oscillation dans le spectre.

Evolution de l'activité neuronale au cours du temps de sommeil

Le taux de décharge moyen des neurones du cortex et de l'hippocampe varie au cours du temps de sommeil, de manière différentielle entre les états (Diba & Buzsáki, 2007; Vyazovskiy *et al.*, 2009; Grosmark & Buzsaki, 2016). Les sous-stades de NREM définis ici sont-ils associés à des variations particulières du taux de décharge neuronale au cours du sommeil ?

Le taux de décharge moyen des 266 neurones enregistrés dans le cortex préfrontal varie très peu au cours du sommeil (Figure 4.24a). Nous avons alors à nouveau séparé les différents types de neurones pour mieux caractériser cette évolution.

Il apparaît que les neurones dont l'activité est maximale durant l'éveil ou ceux durant le REM, ne modifient pas leur activité au cours du temps de sommeil.

En revanche, les neurones du N1 et du N2, augmentent clairement leur activité au cours du temps de sommeil, de sorte que leur activité en fin de journée est plus élevée qu'en début de journée, et ce pour tous les états de vigilance (Figure 4.24b).

À l'inverse, les neurones dont l'activité est maximale en N3, voient leur activité diminuer au cours de la journée, et cela est significativement différent pour tous les états de vigilance.

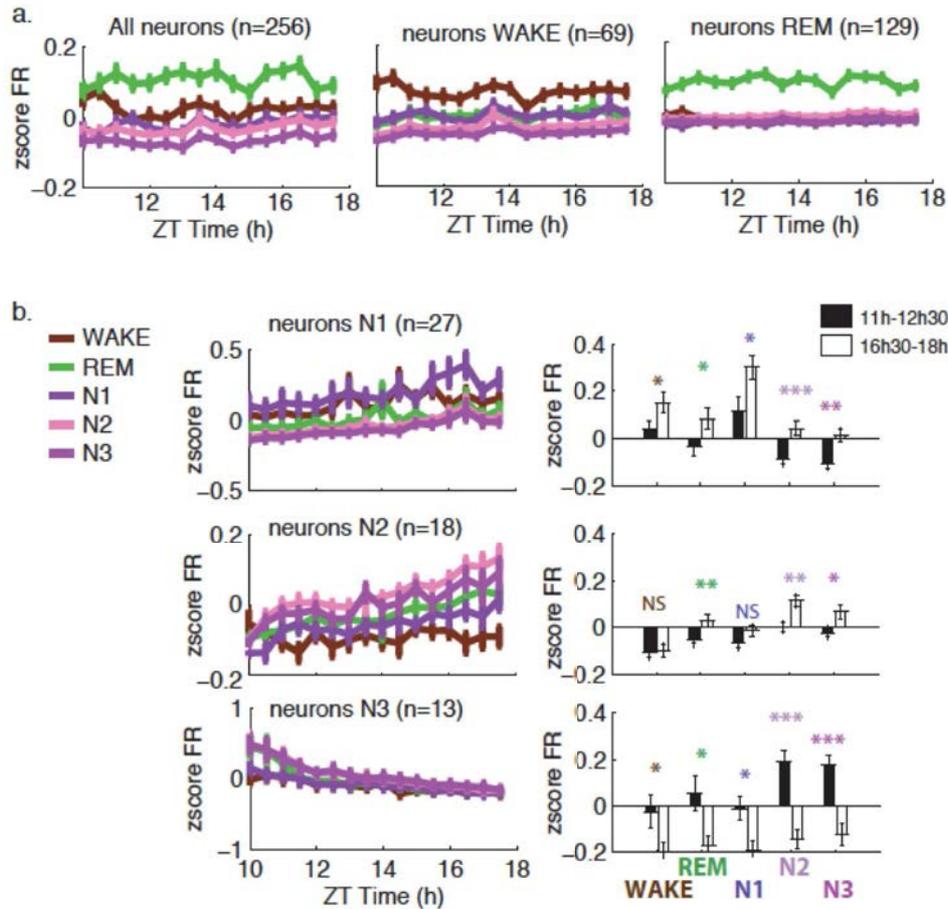


Figure 4.24: Variation du taux de décharge selon l'état de vigilance.

a- variation au cours du temps de la journée du taux de décharge (FR) dans l'éveil le REM, et les stades N1, N2 et N3, pour tous les neurones, les neurones déchargeant préférentiellement durant l'éveil et les neurones déchargeant le plus en REM. Il n'y a pas de différence significative du taux de décharge entre début et fin de la journée. b- même analyse pour les neurones activés préférentiellement durant le N1, N2 et N3, et quantification de la différence de FR entre début (11-12h30) et fin (16h30-18h) de la période de sommeil. Les neurones N1 et N2 voient leur taux de charge augmenter significativement, les neurones N3 diminuent leur taux de décharge. * p<0.05, ** p<0.01 *** p<0.001, NS : non significatif.

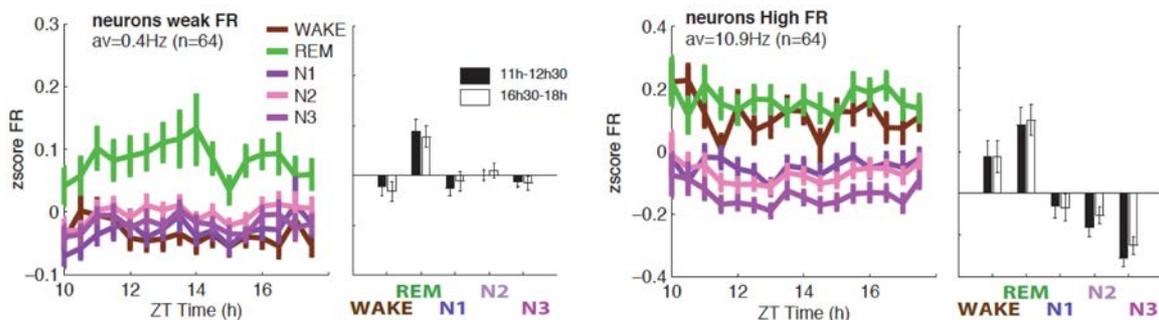


Figure 4.25: Variation du FR des neurones à fort ou faible taux de décharge

Evolution du taux de décharge en fonction de l'heure de la journée pour le quart de neurones les plus actifs (taux de décharge les plus élevés), et le quart de neurones les moins actifs. Quantification de la différence entre début (11-12h30) et fin (16h30-18h) de la période de sommeil (non significatif).

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

Comme cela a été décrit récemment, le sommeil pourrait ne pas avoir le même effet sur l'activité neuronale selon le taux de décharge des neurones. Watson et Buzsaki ont récemment démontré que les neurones à fort taux de décharge, diminuaient leur taux de décharge au cours du sommeil, alors que les neurones à faible taux de décharge l'augmentaient (Watson *et al.*, 2016).

Nous avons voulu vérifier que notre analyse ne reflétait pas simplement ce phénomène. Nous avons donc quantifié l'évolution de l'activité des neurones dont le taux de décharge était le plus élevé (64 neurones sur 256, taux moyens 10.5Hz), et ceux dont le taux de décharge est le plus faible (64 neurones, taux moyens 0.4Hz). Ces deux types de neurones ne présentent pas d'évolution particulière au cours du sommeil (Figure 4.25).

Il apparaît donc que dans nos données, l'évolution de l'activité des différents types de neurones spécifiques des sous-états de NREM au cours du sommeil ne soit pas expliquée par une différence de leur taux de décharge. Noter cependant que nous ne faisons pas ici la distinction entre les interneurones et les cellules pyramidales, analyse en cours dans le laboratoire. Nous pourrions alors imaginer que ces différents types de neurones soient sensibles à différents neuro-modulateurs dont les concentrations évoluent au cours du sommeil, et leur activité reflèterait ces changements sous-jacents.

Une autre hypothèse serait que les neurones recrutés spécifiquement durant le N3, subissent le plus d'homéostasie synaptique. En revanche les neurones particulièrement recrutés durant le N2, interviendraient dans les réactivations neuronales en lien avec les spindles et les ripples, et pourraient alors être potentialisés.

Cette hypothèse nécessiterait alors des mécanismes pour « tagger » les neurones, et les recruter plus au moins dans les différents stades.

Afin de comprendre d'avantage les processus impliqués dans les stades de NREM décrits ici, nous allons à présent regarder leur implication dans la coordination des rythmes du sommeil.

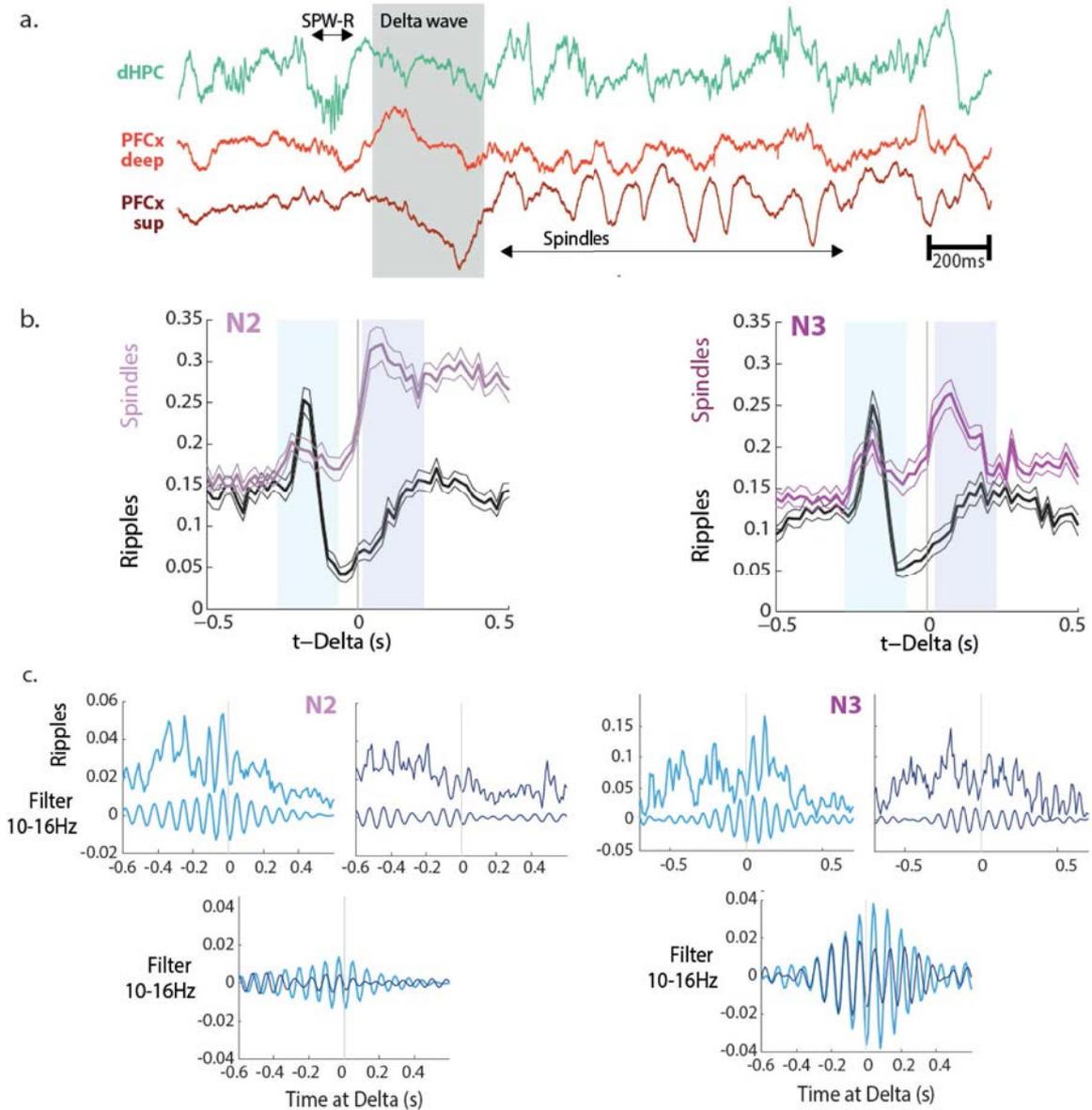


Figure 4.26: **Coordination des rythmes du sommeil en N1, N2, N3.**

a- exemple de coordination entre ripples, onde delta et spindles lors du NREM. LFP (1250Hz) enregistré dans l'hippocampe (HPC), et dans le cortex préfrontal superficiel (PFCx sup) et profond (PFCx deep). b- Cross-corrélogrammes surimposés entre ripples et onde delta d'une part et entre spindles et onde delta d'autre part dans les trois sous-stades de NREM. Moyenne et SEM (n=33, N=13). Noter le pic de ripples juste avant l'onde delta en N2 et N3, et enfin le pic de spindles juste avant et juste après l'onde delta en N2 et N3. c- Cross-corrélogramme entre les ripples et onde delta au moment du premier pic de spindles (carré bleu clair) et du 2^{ème} (carré bleu foncé). Un filtre dans la bande 10-16Hz indique que les ripples interviennent au rythme des spindles principalement dans la première fenêtre de temps, à la fois pour N2 et N3. Noter en revanche une intervention accrue des ripples au rythme des spindles en N3.

IV-2-c. Coordinations des rythmes

Les spindles, ripples, et ondes delta arrivent de manière coordonnée, et il est intéressant de regarder si cette coordination dépend des stades de sommeil que nous avons déterminés ici.

Cross-Corrélogrammes entre spindles, onde delta et ripples

L'observation des enregistrements conjoints dans l'hippocampe et le cortex préfrontal dévoile une coordination entre les rythmes du sommeil. Notamment le pattern ripples, puis onde delta, puis spindles est fréquent (figure 4.26a). Cependant la littérature présente également une coordination entre les spindles et les ripples, les ripples intervenant aux creux des cycles de la spindle.

Afin de quantifier ces phénomènes, nous avons calculé les cross-corrélogrammes entre ces 3 types de rythmes.

La superposition des cross-corrélogrammes entre Ripples et onde delta d'une part, et spindles et onde delta d'autre part, montre qu'il y a deux types de coordination (Figure 4.26b). Un léger pic de spindles avant l'onde delta est associé à une très forte occurrence de ripples. Un second pic de spindles intervient après l'onde delta, et cette fois n'est pas associé à une élévation de ripples, ce qui correspondrait au pattern ripples-delta-spindles.

La comparaison du cross-corrélogramme entre ripples et delta pour ces deux pics (Figure 4.26c) dévoile que les ripples interviennent à un rythme 10-16Hz correspondant au spindles et à la tendance des ripples d'apparaître aux creux des spindles. Cette coordination est plus forte avant une onde delta qu'après.

Ainsi la coordination entre ripples et spindles interviendrait principalement avant l'onde delta. En effet on observe un pic de spindles à la suite de l'onde delta, et pourtant les ripples qui interviennent à ce moment sont légèrement moins coordonnées avec ces spindles.

A quoi correspondent ces différents patterns de coordination en terme d'activité neuronale dans le cortex préfrontal ?

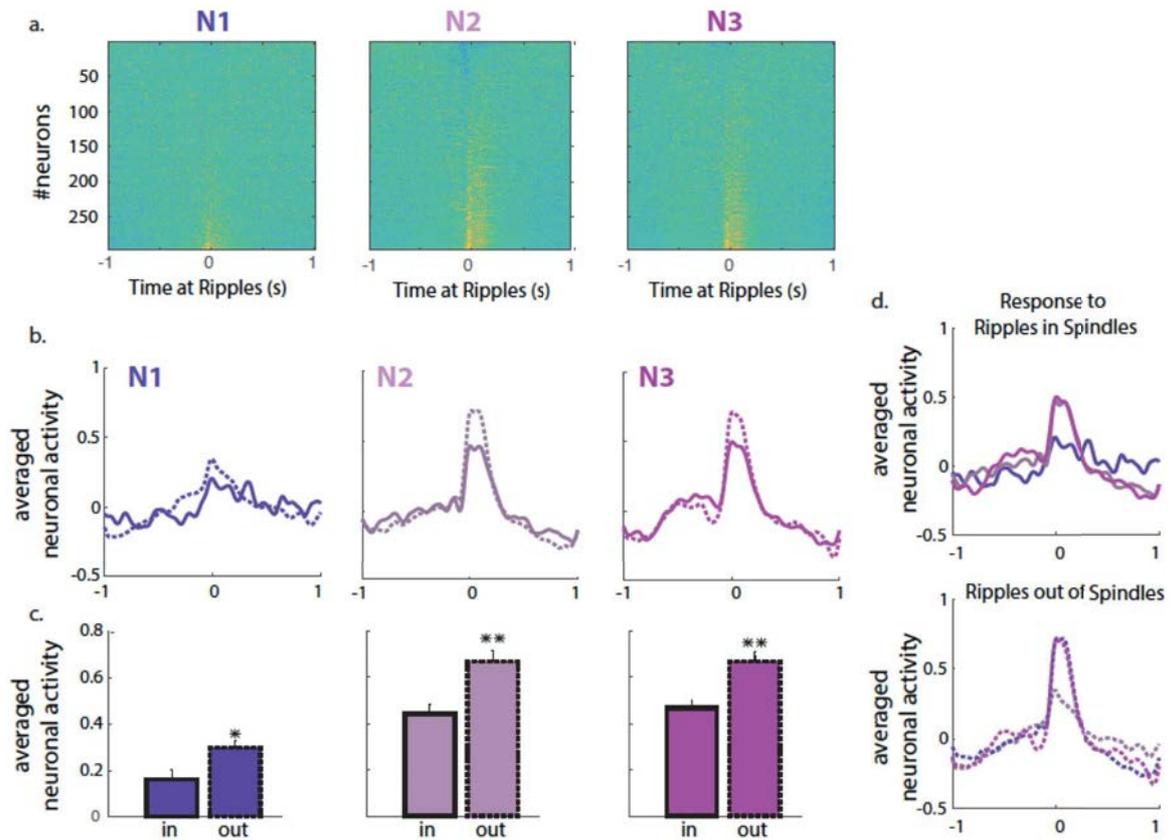


Figure 4.27: Communication hippocampo-corticale durant N1, N2, N3.

a- réponse des neurones du PFCx aux ripples de l'hippocampe. Chaque ligne correspond à un neurone ($n=256$, $N=3$), le temps zéro correspondant au pic de la ripples. Noter la présence de neurones inhibés par les ripples de l'hippocampe, particulièrement visible en N2. b- moyenne de la réponse neuronale corticale aux ripples en N1, N2 et N3, lorsque les ripples interviennent au sein d'une spindles, ou en dehors (hachuré). c- quantification de cette réponse. d- superposition des courbes en N1, N2, N3 présentées en b, selon le lien avec les spindles. Noter la similarité des profils N2 et N3. Noter également la diminution de la réponse corticale lorsque les ripples interviennent durant les spindles.

IV-2-d. Communication entre hippocampe et cortex préfrontal

Il y aurait donc deux types de patterns oscillatoires : des ripples non coordonnées avec des spindles, et des ripples coordonnées. Ces dernières auraient tendance à intervenir avant une onde delta, un silence neuronal. Nous allons voir alors si ces deux catégories de ripples entraînent une réponse différentielle dans le cortex préfrontal (Peyrache *et al.*, 2011), et étudier la modulation de cette réponse par les sous-stades de NREM.

Nous avons alors quantifié l'activité neuronale, à partir de 256 neurones, en réponse aux ripples de l'hippocampe, suivant les sous-stades de sommeil NREM (Figure 4.27). Bien que le profil ne soit pas différent entre N2 et N3, il apparaît que les ripples intervenant hors des spindles, entraînent une réponse corticale significativement plus élevée.

Ce résultat est en accord avec l'idée que le cortex préfrontal serait momentanément déafféré de l'input de l'hippocampe au moment des spindles (Peyrache *et al.*, 2011).

De manière intéressante, la réponse du préfrontal durant le N1 est beaucoup moins piquée que durant le N2 et le N3. Bien qu'il y ait moins de ripples durant ce stade léger de sommeil, il semblerait que celles-ci entraînent une réponse significativement moins grande que durant le N2 et le N3, même au moment des spindles.

Ainsi le N1 serait-il associé à une diminution de la communication hippocampo-corticale, qui augmenterait dans les stades plus profonds de sommeil N2-N3.

Dans cette partie nous avons décrit différentes implications de la sous-catégorisation du NREM en N1, N2 et N3. Tout d'abord, le N2 serait spécifiquement impliqué dans les phénomènes d'homéostasie du REM ; puis la décroissance des oscillations lentes au cours du sommeil serait accompagnée d'une évolution de l'activité de neurones spécifiquement recrutés dans certaines phases du NREM. Enfin, la coordination des rythmes semble légèrement différer entre N2 et N3, mais la réponse corticale aux ripples de l'hippocampe est, quant à elle, très dépendante de la profondeur du sommeil et de la présence de spindles.

Résultats

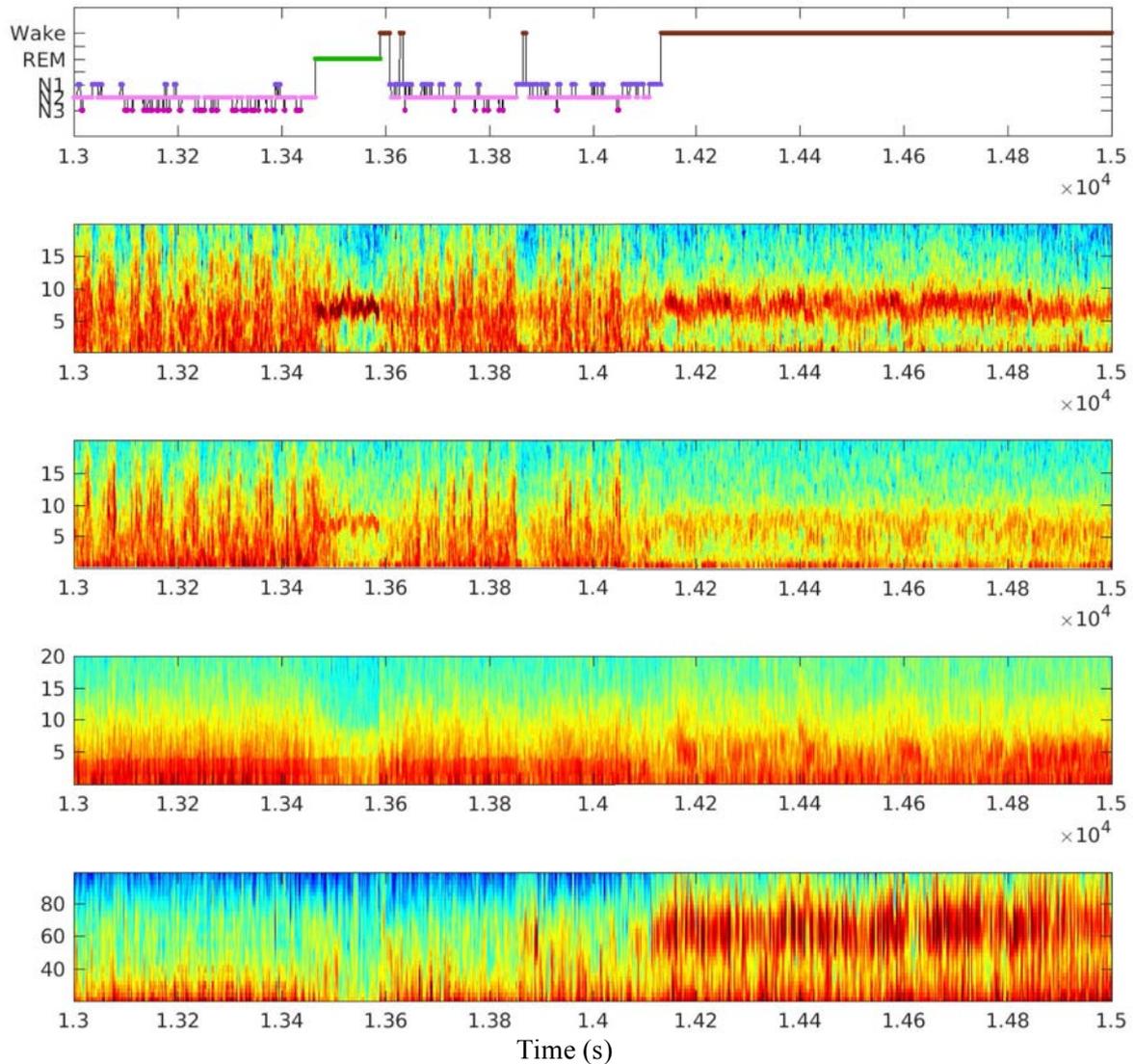


Figure 4.28: Spectres de puissance dans les basses fréquences.

Exemple (n=1) de spectres de puissance calculés entre 0.1 et 20Hz à partir des LFPs enregistrés durant le sommeil et l'éveil (hypnogramme, haut) dans l'hippocampe, le cortex préfrontal, le bulbe olfactif dans cet ordre, et spectre de puissance dans les hautes fréquences (20-100Hz) du bulbe olfactif. Noter l'alternance dans l'hippocampe entre des périodes de fort θ (5-10Hz) durant le REM et l'éveil, et une puissance élevée dans tout le spectre bas (0-15Hz) lors du NREM. La très forte oscillation vers 3Hz dans le bulbe olfactif, et une plus légère oscillation delta (2-4Hz) dans le cortex préfrontal sont aussi visible durant le NREM. Le spectre haut du bulbe montre une puissance élevée dans le gamma (40-80Hz) durant les périodes d'éveil uniquement.

IV-3 Lien entre Bulbe Olfactif et Sommeil

Tout au long de la nuit, le rythme respiratoire est maintenu à une fréquence de 3Hz chez la souris, et vers 0.3Hz chez l'homme. Or les neurones du bulbe olfactif chez la souris répondent à l'arrivée cyclique de l'air, même en l'absence de molécule odorante. La respiration entraîne donc l'activité du bulbe olfactif dans une oscillation lente tout au long du sommeil. Le rythme respiratoire, très proche du rythme delta observé durant le NREM pourrait-il être lié avec les processus du sommeil ?

Cette sous-partie s'attache à démontrer que le bulbe olfactif pourrait avoir un lien privilégié avec les processus du sommeil. Dans un premier temps, les rythmes présents dans le bulbe olfactif (BO) sont décrits, et une nouvelle méthode de scoring du sommeil basé sur ces rythmes sera présentée. Cette méthode permet de distinguer éveil et sommeil de manière automatisée et présente de nombreux avantages par rapport aux méthodes classiques utilisant l'électromyogramme. L'oscillation en lien avec la respiration sera ensuite présentée.

IV-3-a Détecter les états de vigilance à partir du Bulbe Olfactif

Afin d'approcher qualitativement l'activité du BO au cours des différents états de vigilance nous avons tout d'abord mis en perspective les spectres de l'hippocampe et du cortex préfrontal pour les bandes de fréquence classiquement étudiées dans le sommeil (1-20Hz), avec le spectre de puissance provenant de l'enregistrement dans le BO (Figure 4.28).

Le rythme gamma : différence éveil - sommeil

Une première observation met tout de suite en évidence que le spectre de hautes fréquence (20-200Hz) varie grandement entre éveil et sommeil : les oscillations dans la gamme de fréquence gamma (30-90Hz) semblent disparaître lorsque l'animal est endormi.

La quantification du spectre de puissance moyen dans cette gamme de fréquence révèle à quel point ce phénomène est important (Figure 4.29), les oscillations gamma semblant présentes uniquement durant l'éveil. Bien que l'écart soit minime, on peut également noter une différence significative en test apparié entre le REM et le NREM.

Ces résultats suggèrent que l'absence de gamma est un processus caractéristique de tout le sommeil. Pourrait-on différencier l'état de vigilance de la souris, éveillée ou endormie, en quantifiant le gamma du bulbe olfactif ?

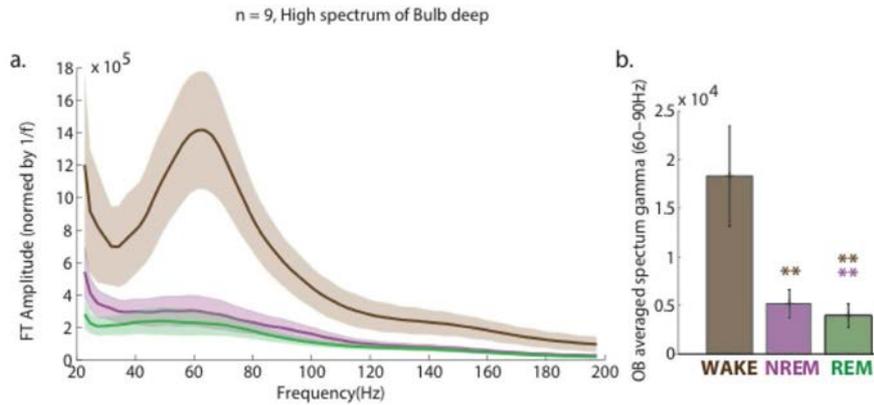


Figure 4.29: Spectre de puissance moyen du BO selon l'état de vigilance

a- Spectre de puissance entre 20 et 200Hz du LFP enregistré dans le BO, moyenné sur les périodes d'éveil, de REM ou de NREM. Les traits pleins indiquent la moyenne de chaque état et les aires de couleurs la SEM (n=9). b- Quantification de la moyenne du spectre dans le haut gamma 60-90Hz. Test ranksum par paire d'état de vigilance, n=9, ** p<0.01.

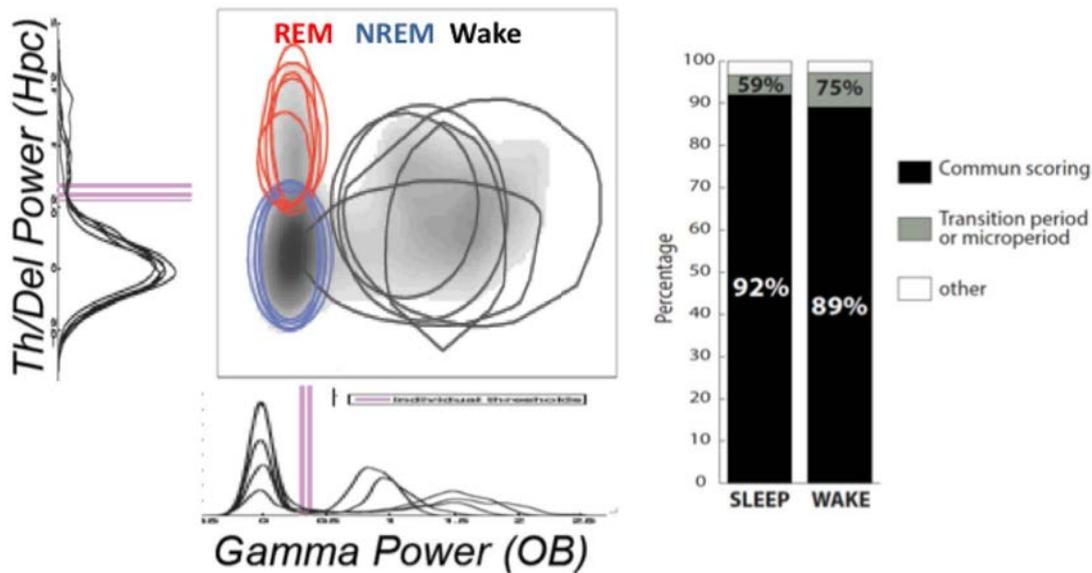


Figure 4.30: Reproductibilité et fiabilité de la méthode.

a. distributions du thêta/delta ratio de l'hippocampe (tracé noir à gauche) et de la puissance en gamma dans le BO (tracé noir en bas). Les seuils utilisés pour séparer le sommeil de l'éveil, et le REM du NREM, sont indiqués en violet. Les aires définies pour chacun des états de vigilance dans cet espace à 2 dimensions, sont représentées par des cercles de couleur, chaque cercle représentant une souris (n=5). b. comparaison entre les scores de sommeil obtenus par cette méthode et un scoring classique basé sur le mouvement. Le pourcentage indiqué en noir correspond au nombre de période avec des scoring similaires, en gris les périodes classées différemment mais dont les valeurs de gamma sont proches du seuil éveil/sommeil et donc catégorisées comme « transition », et en blanc les différences de scoring en dehors des transitions.

Méthode de scoring du sommeil

Partant de cette observation, Sophie Bagur en thèse dans le laboratoire, a mis au point une méthode automatique de scoring du sommeil à partir de nos enregistrements. Cette méthode consiste à filtrer le LFP du BO dans la bande gamma, et d'appliquer un seuil sur la distribution de l'ensemble des valeurs de ce signal filtré. Comme présenté sur la figure 4.30 (gamma power). La distribution de la puissance gamma du BO prend systématiquement un caractère bimodal : un premier pic de valeurs faibles correspondant au sommeil, l'autre avec des valeurs fortes correspondant à l'éveil.

La suite de la méthode de scoring consiste à séparer classiquement REM et NREM selon le ratio θ/δ comme expliqué dans la partie précédente (Résultats IV-1). Cela permet de construire un espace à deux dimensions (Figure 4.30), des zones très distinctes correspondant à l'éveil, au NREM et au REM pouvant être facilement identifiées.

Avantages de la méthode

Tout d'abord cette méthode donne des résultats très semblables au scoring du sommeil basé sur l'analyse de la quantité de mouvement ou de l'EMG.

Dans une première approche pour quantifier cette similarité, 92% des épisodes classés en sommeil avec la méthode classique sont classés aussi en sommeil avec la méthode reposant sur le gamma du BO (figure 4.30 droite). Pour l'éveil, c'est 89% des épisodes. Ces valeurs de similarité sont de l'ordre de la comparaison entre deux scoreurs humains indiquant manuellement et par fenêtre de temps, l'état dans lequel se trouve l'animal. Ces différences sont notamment dues aux périodes intermédiaires clairement identifiées comme ambiguës avec la méthode du BO, mais cette variabilité n'est pas différente de celle obtenue entre scoring de deux experts différents.

Il est important de souligner que cette méthode est extrêmement reproductible d'un animal à l'autre. En effet l'espace à deux dimensions créé à partir des signaux enregistrés dans le BO et l'hippocampe est similaire pour l'ensemble des animaux enregistrés, et les seuils séparant les différents états de vigilance sont conservés (figure 4.30).

Exemples d'application de cette méthode

En plus de sa simplicité et de sa fiabilité, cette méthode permet de lever l'ambiguïté dans des situations particulières telles que la narcolepsie, où l'atonie musculaire entraîne une diminution de l'EMG semblable à celle du sommeil. On pourrait alors imaginer que le gamma serait maintenu dans le BO dans certains modèles de narcolepsie chez le rongeur. Nous présentons ici deux autres situations d'ambiguïté : le N1 définit lors de la première partie de ce chapitre, et le comportement de freezing.

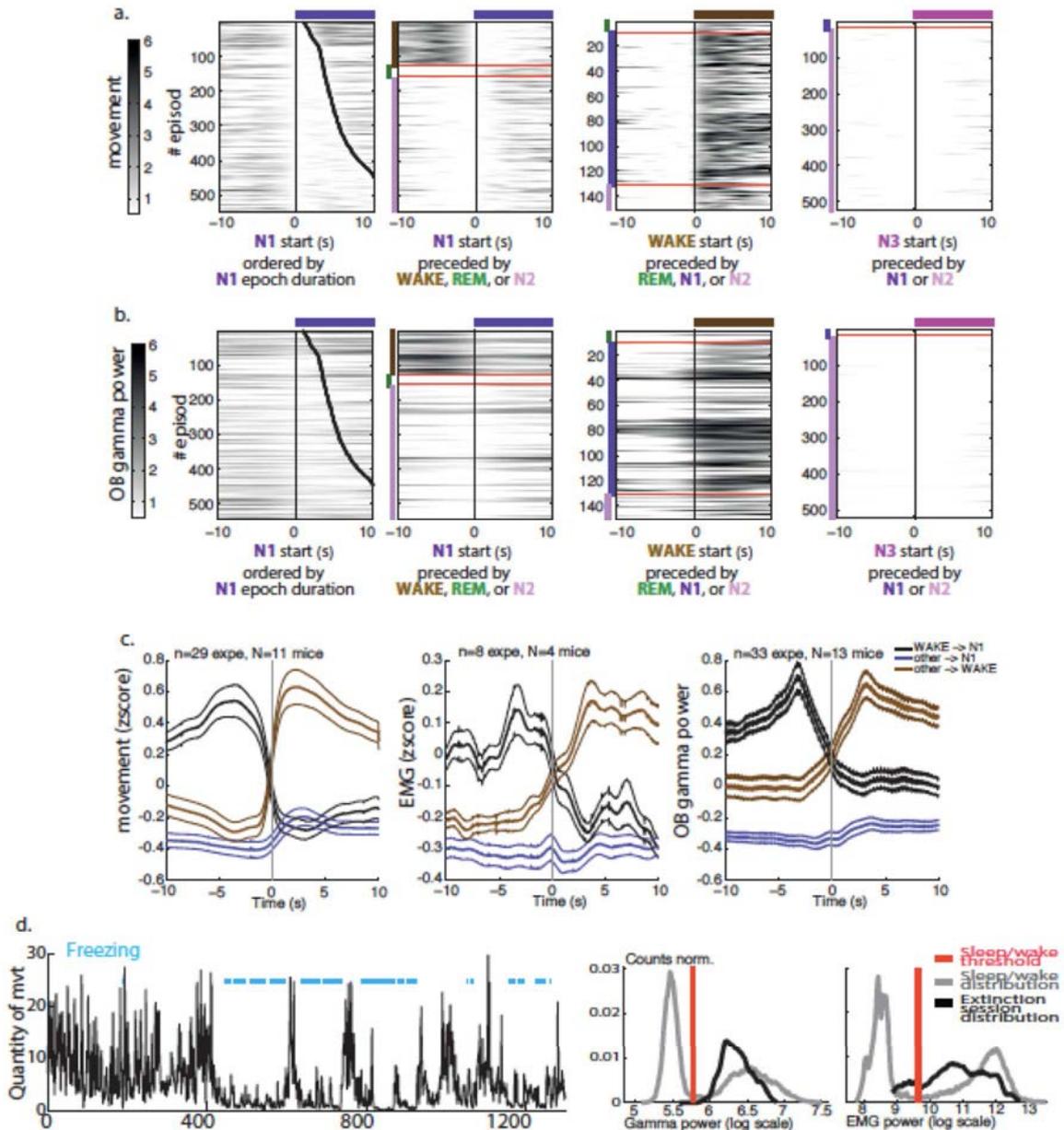


Figure 4.31: Application de la méthode de détection du sommeil par le gamma du BO

a. Exemple de quantité de mouvement sur le début de tous les épisodes de N1, d'éveil et de N3 (n=1). Les épisodes sont ordonnés selon la durée de l'épisode de N1 (panel gauche, point noir correspondant à la fin de l'épisode) ou selon la nature de l'épisode précédent le N1, l'éveil ou le N3 respectivement. Unité arbitraire, le noir correspondant à de fortes valeurs. Noter l'absence de mouvement en N3 (contrôle négatif), le mouvement systématique pour les épisodes d'éveil (contrôle positif) et la quasi absence de mouvement au sein des épisodes de N1. B- même analyse pour le gamma du BO. c- Moyenne du mouvement, du gamma du BO et de l'EMG pour les transitions vers N1 ou vers l'éveil, et le cas particulier de l'éveil vers N1. Mouvement (n=29, N=11) et EMG (n=8, N=4) sont normalisés par zscore sur l'ensemble de chaque enregistrement. d- *gauche* Quantité de mouvement en phase de test après conditionnement de peur indicé. La présentation du son conditionné entraine une réaction de peur durant laquelle l'animal arrête de bouger (freezing, période bleue). *Droite* Distribution des valeurs du gamma et de l'EMG en basal (gris) et durant le test après conditionnement de peur (noir). Noter que durant le freezing, l'EMG passe sous le seuil défini pour séparer l'éveil du sommeil (rouge), ce qui n'est pas le cas pour le gamma.

Le stade léger de sommeil N1

Nous avons identifié une situation d'ambiguïté concernant les épisodes de N1, ne sachant pas s'il s'agissait d'éveil calme. Bien que l'ambiguïté ait été levée grâce à l'analyse de l'activité neuronale, nous pouvons étudier ce cas par la méthode du gamma du BO.

Nous avons donc comparé le gamma dans le BO triggé sur le début des épisodes de N1, avec la quantité de mouvement déjà présentée en Figure 4.15 (Figure 4.31a-b). Il apparaît dans cet exemple que la grande majorité des épisodes de N1 sont associés à un gamma faible. Lorsque l'on regarde ces transitions moyennées sur tous les animaux (Figure 4.31c), il apparaît que le passage vers N1 est associé à une grande diminution du gamma du BO, et inversement le passage du N1 vers l'éveil à une augmentation symétrique. Il y a donc bien une différence très nette entre le N1 et l'éveil.

Cependant nous pouvons remarquer une différence entre les transition éveil-N1 et sommeil-N1, ces dernières ayant un gamma encore plus faible. Une possibilité est que certains épisodes de N1 portent encore une ambiguïté quant à la catégorisation en micro-éveil. La méthode présentée ici permettrait alors d'affiner encore le scoring du sommeil.

Le comportement de freezing

Un exemple de situation ambiguë que nous avons pu tester dans le laboratoire, est le comportement de freezing. Lors d'un conditionnement de peur indicé, la souris entend deux sons : l'un est suivi d'un choc électrique (CS+), l'autre non (CS-). Après répétition de ces sons, l'animal apprend à associer le CS+ à l'arrivée du choc électrique et cela se traduit par un comportement d'inhibition appelé freezing durant lequel la souris arrête tout mouvement.

En observant uniquement le mouvement ou même l'EMG (figure 4.31d), on pourrait facilement conclure que l'animal dort, le seuil utilisé pour définir le sommeil étant franchi. Or il n'en n'est rien et le gamma du bulbe en est la preuve puisque tout au long de la période de freezing celui-ci reste élevé.

Bien sûr lorsque le test de peur est effectué, le contexte exclu le plus souvent la possibilité que l'animal s'endorme, mais cette preuve de concept indique que cette méthode a un potentiel d'application concrète.

Dans cette première partie nous avons vu que les oscillations de la bande gamma (30-90Hz) du bulbe olfactif n'étaient présentes que durant l'éveil et non durant le sommeil. Cette caractéristique électrophysiologique permet d'utiliser le BO comme marqueur de l'état de vigilance chez la souris et a permis le développement une nouvelle méthode de scoring du sommeil. Celle-ci permettrait de lever des ambiguïtés dans certains cas particuliers tels que le freezing lié à la peur.

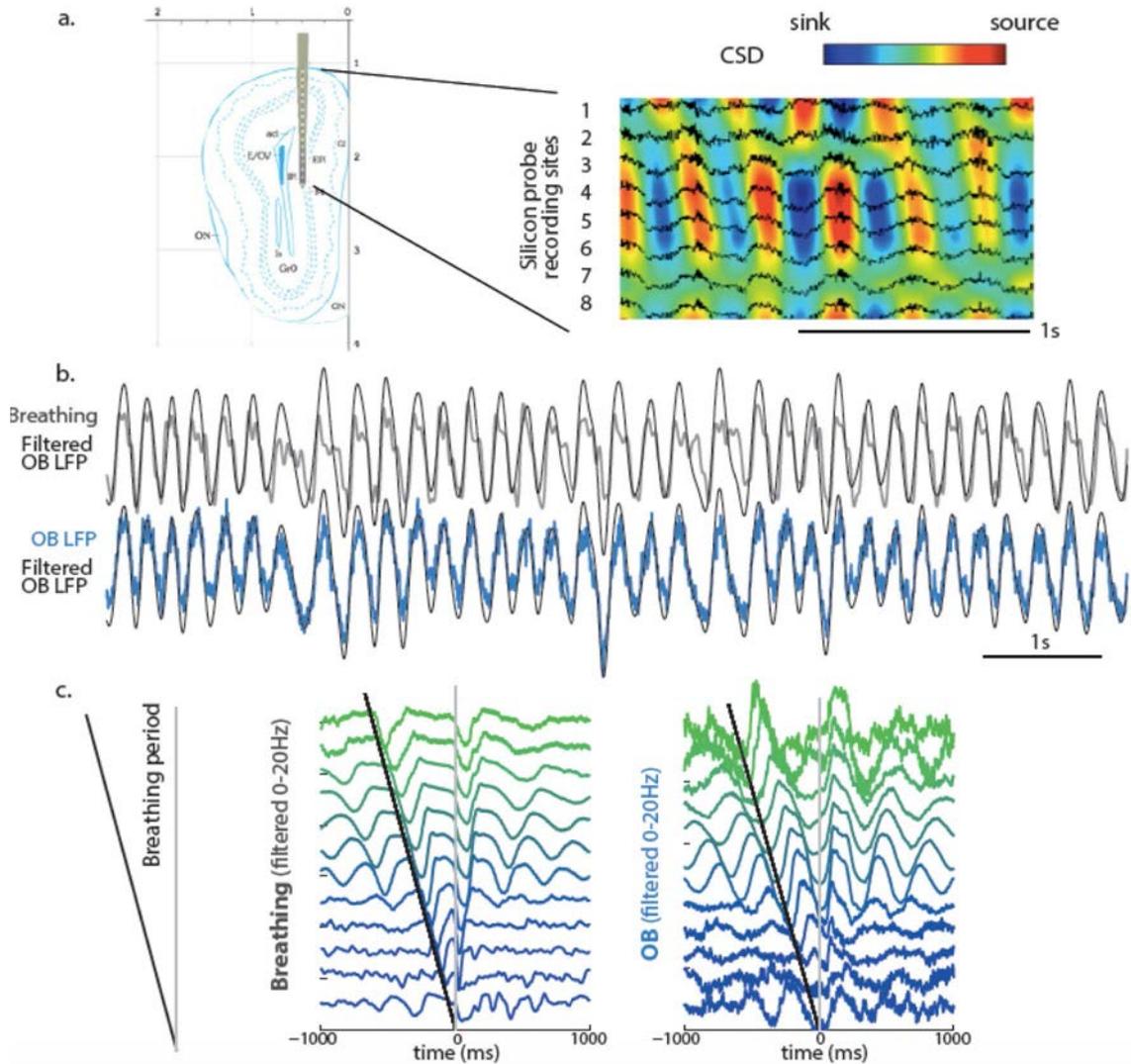


Figure 4.32: Le rythme respiratoire dans le bulbe olfactif.

a- enregistrement en CSD grâce à une silicone probe implantée dans le BO de souris, durant le sommeil. Noter la présence de source et de puits indiquant que les oscillations vers 3Hz sont générées localement. Mi : couche mitrale.

b- Comparaison entre le signal de respiration obtenu par le plethysmographe (gris, inspiration vers le haut), et le LFP du Bulbe Olfactif (bleu) durant le sommeil (n=1). Pour une meilleure comparaison le LFP du BO a été filtré dans la bande 0.1-10Hz et surimposé aux deux précédents tracés (noir).

c- Fréquence de résonance dans le BO tout état de vigilance confondus. Les temps d'inspiration (gris) sont calculés à partir du signal de respiration enregistré par le plethysmographe, et séparés en fonction du temps de la dernière inspiration (noir). Plus la période entre ces deux inspirations est grande (vert clair), plus la fréquence de respiration est faible (ici entre 2 et 20Hz). Le signal de respiration (gauche) et le LFP dans le BO (droite) sont moyennés pour une gamme de périodes inter-inspiration (ZAP) (n=5). Noter l'oscillation maintenue sur plusieurs cycles pour les périodes proches de 300ms (3Hz) dans le signal de respiration et le LFP du BO.

IV-3-b Le rythme respiratoire du Bulbe olfactif et les états de vigilance

En plus de la différence flagrante entre éveil et sommeil dans la bande gamma, l'observation du spectre de puissance du LFP enregistré dans le BO montre une puissance importante dans la bande delta (2-4Hz, Figure 4.28), proche des oscillations lentes corticales du sommeil. Nous allons ici décrire cette oscillation lente qui est bien connue dans la littérature, et décrire finement ses liens avec la respiration dans les différents états de vigilance.

Le rythme respiratoire du Bulbe Olfactif

L'enregistrement du LFP dans le BO durant le sommeil montre une oscillation persistante et de grande amplitude autour de 3Hz (Figure 4.32a et spectre Figure 4.28). Cette oscillation est générée au sein du BO, comme le montre la présence de sources et de puits en analyse en CSD.

Or, les neurones de l'épithélium olfactif répondent à l'input mécanique de l'air (Grosmaître *et al.*, 2007). Au rythme de la respiration, ces neurones s'activent ensemble, et activent alors massivement les neurones du bulbe olfactif (BO) sur lesquels ils projettent.

La Figure 4.32b montre un exemple d'enregistrements conjoints de la respiration mesuré à l'aide d'un plethysmographe (voir V- Matériel et Méthodes) et du LFP dans le BO : les deux tracés se suivent infailliblement dénotant à quel point l'activité électrique du BO est conduite par cette arrivée mécanique.

Afin de comprendre la relation entre la fréquence de respiration et l'amplitude des oscillations mesurées dans le BO, nous avons réalisé une analyse ZAP, moyennant le LFP pour différentes vitesses de respiration (Figure 4.32c).

Il apparaît tout d'abord que l'oscillation mesurée dans le BO (droite) est toujours totalement en rythme avec la respiration (gauche), pour toutes les fréquences de respiration mesurées.

En revanche, l'amplitude de l'oscillation peut différer. Notamment, plus la respiration est rapide, moins le LFP semble résonner autour de cette fréquence ; à l'inverse, la respiration vers 3Hz entraîne le LFP du BO dans une oscillation persistante visible sur le LFP moyenné.

Ainsi le BO est caractérisé par un rythme dont la fréquence est déterminée par la respiration. Cette analyse ZAP est réalisée sur l'ensemble des états de vigilance ; mais pour détailler le lien entre les processus du sommeil et l'activité du BO nous allons à présent comparer l'interdépendance respiration-LFP du BO pour les différents stades de sommeil.

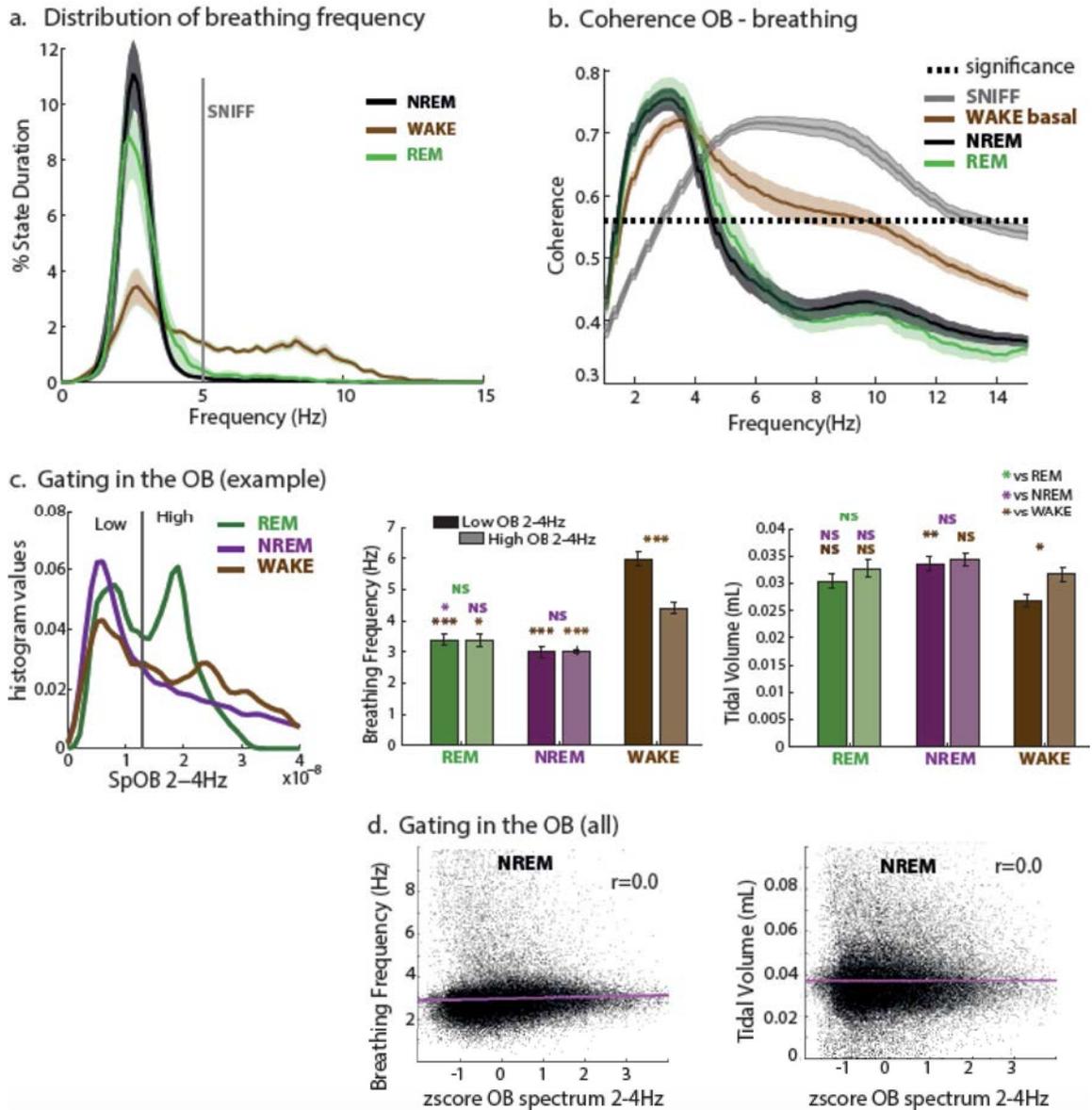


Figure 4.33: L'activité du BO durant le sommeil peut varier indépendamment de la respiration

a- Distribution des fréquences de respiration durant l'éveil, le REM et le NREM. Moyennes (ligne) et SEM (aire de couleur), N=8. Noter la présence de respiration rapide (>5Hz, sniff) durant l'éveil. Test de Cramer : REM vs NREM $p=0.747$, REM vs WAKE et NREM vs WAKE $p<0.0001$. b. cohérence entre le signal de respiration et le LFP du BO dans les différents états de vigilance, dont l'éveil calme et l'éveil avec sniff. Le seuil de significativité est indiqué en pointillé.

b- distribution de la puissance delta du BO en REM, éveil et NREM pour un exemple (n=1). Noter l'étendue de la gamme des valeurs prises par le spectre. La distribution du REM est bimodale, ce qui permet d'établir un seuil objectif entre des amplitudes faibles (low) et fortes (high). La comparaison des paramètres de respiration selon l'amplitude du BO est indiquée à droite.

e- Corrélation entre la puissance du spectre enregistré dans le BO et la fréquence ou le volume de la respiration durant le NREM. Pour chaque temps d'inspiration, la moyenne dans la bande 2-4Hz est calculée et normalisée par zscore pour chaque enregistrement (n=10). Noter l'absence de corrélation.

La respiration au cours des états de vigilance et gating

Le rythme respiratoire peut varier au cours de l'éveil, notamment lors d'épisode de « sniff » où la souris échantillonne son environnement olfactif en respirant entre 10 et 15Hz. Mais en dehors de ce mode de sniff, durant l'éveil ou durant le sommeil, la souris respire à une fréquence de 3Hz (Figure 4.33a) : la bande delta.

L'analyse ZAP a montré que le BO suivait la respiration pour toutes les gammes de fréquence de respiration. Une analyse permettant de compléter ce résultat consiste à mesurer la cohérence entre la respiration et le BO. Il apparaît que durant le sniff de l'éveil, cette cohérence est significative entre 3 et 12Hz ; pour l'éveil basal, le NREM et le REM, la cohérence dépasse le seuil de significativité entre 1.5 et 4Hz, soulignant à nouveau que l'oscillation mesurée dans le BO est liée à la respiration, et ce indépendamment des différents états de vigilance.

Ainsi le BO oscille au rythme de la respiration. Cependant l'observation du spectre de puissance (Figure 4.28), montre que la puissance dans la bande delta change au cours du temps. Ces variations se retrouvent dans la distribution de la puissance dans la bande 2-4Hz en fonction de l'état de vigilance (exemple Figure 4.33c). Ces changements sont-ils liés à des changements respiratoires ? Afin de répondre à cette question nous avons comparé les paramètres de respiration (voir V- Matériel et Méthodes) entre des périodes de faibles et de fortes amplitudes d'oscillation delta dans le BO, dans les 3 principaux états de vigilance (Figure 4.33c). Ceci est particulièrement visible pour le REM. Il apparaît qu'au sein du REM et du NREM respectivement, aucune différence de respiration n'accompagne ces variations d'amplitude. En revanche, les fortes puissances en delta observées durant l'éveil sont associées à une diminution de la fréquence de respiration et une augmentation du volume tidal.

Il est ainsi possible qu'il existe un phénomène de *gating* variant selon les états de vigilance, induisant une réponse diminuée du BO alors que l'input respiratoire reste identique.

Cette analyse est renforcée par une quantification de la corrélation entre les paramètres de respiration et la puissance en delta du BO sur l'ensemble des animaux enregistrés dans le pléthysmographe durant le NREM (Figure 4.33d). Il n'y a aucune corrélation entre la puissance 2-4Hz enregistrée dans le BO et les paramètres de respiration, et ceci est également vrai pour le REM (fréquence : $r=0.0$, $p=0.143$, volume : $r=0.0$, $p=0.312$). En revanche, on retrouve bien une corrélation négative durant l'éveil entre la fréquence de respiration et la puissance 2-4Hz dans le BO, corrélation positive pour le volume de respiration (fréquence : $r=-0.3$, $p<0.001$, volume : $r=0.1$, $p<0.001$).

Il y aurait donc bien un gating entre la respiration et l'oscillation lente mesurée dans le BO durant le REM et le NREM.

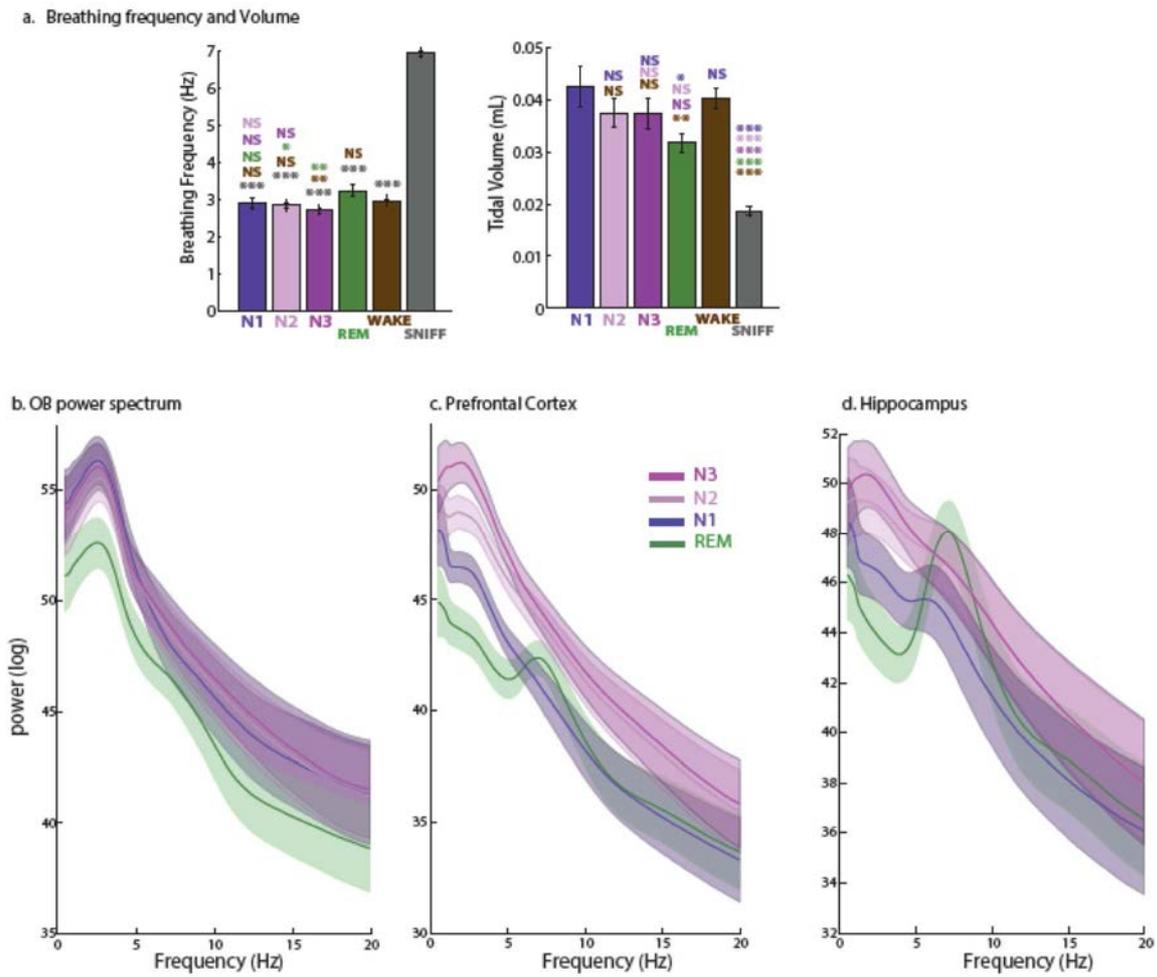


Figure 4.34: caractéristique de la respiration et des oscillations du BO dans les différents sous-stades

a- Fréquence (gauche) et amplitude (droite) de respiration sur différents états de vigilance. Test apparié de Wilcoxon, $n > 16$, $N = 10$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, NS non significatif.

b- spectre de puissance moyen dans le bulbe olfactif (OB), le cortex préfrontal et l'hippocampe au cours des différents stades de sommeil

Sous-stades de NREM et oscillations lentes dans le BO

L'oscillation de respiration du bulbe olfactif est donc modulée durant le sommeil, malgré une respiration stable. Cette modulation serait-elle dépendante des sous-stades de NREM ?

En appliquant la méthode de scoring développée dans la partie précédente, nous avons pu quantifier la respiration dans les sous-stades de NREM. Aucune différence de fréquence et de volume de respiration n'est détectée entre N1, N2 et N3 (Figure 4.34a). Nous pouvons cependant noter que la fréquence moyenne de respiration semble légèrement augmenter durant le REM, s'associant à une diminution de l'amplitude de respiration. Ces modifications pourraient être dues à l'activation phasique du système nerveux autonome présente durant le REM. En revanche le NREM semble bel et bien un stade homogène en terme de respiration.

Qu'en est-il alors pour l'oscillation de respiration présente dans le BO ? Afin de comparer l'activité du BO dans les différents états de vigilance, le spectre de puissance moyen dans les fréquences basses (0.1-20Hz) est calculé (figure 4.34b). La puissance dans la bande delta (2-4Hz) est particulièrement élevée dans le BO, et cette bande correspond à la fréquence de respiration visible dans ces différents états. Bien que marquée également durant le REM, la puissance moyenne dans la bande delta est diminuée dans cette phase de sommeil.

En revanche, il n'y a pas de différence entre les sous-stades de NREM. Pour rappel, les spectres correspondant au cortex préfrontal et à l'hippocampe sont également présentés (Figure 4.34c-d), et l'on peut observer une différence dans la bande delta entre les stades N1, N2 et N3.

En plus des oscillations gamma, l'activité du BO est caractérisée par une oscillation lente (2-4Hz) et de très grande amplitude induite par l'arrivée mécanique de l'air. Ce rythme respiratoire a la même fréquence que le rythme delta du cortex préfrontal caractéristique du NREM et nous allons à présent tenter de relier ces deux patterns.

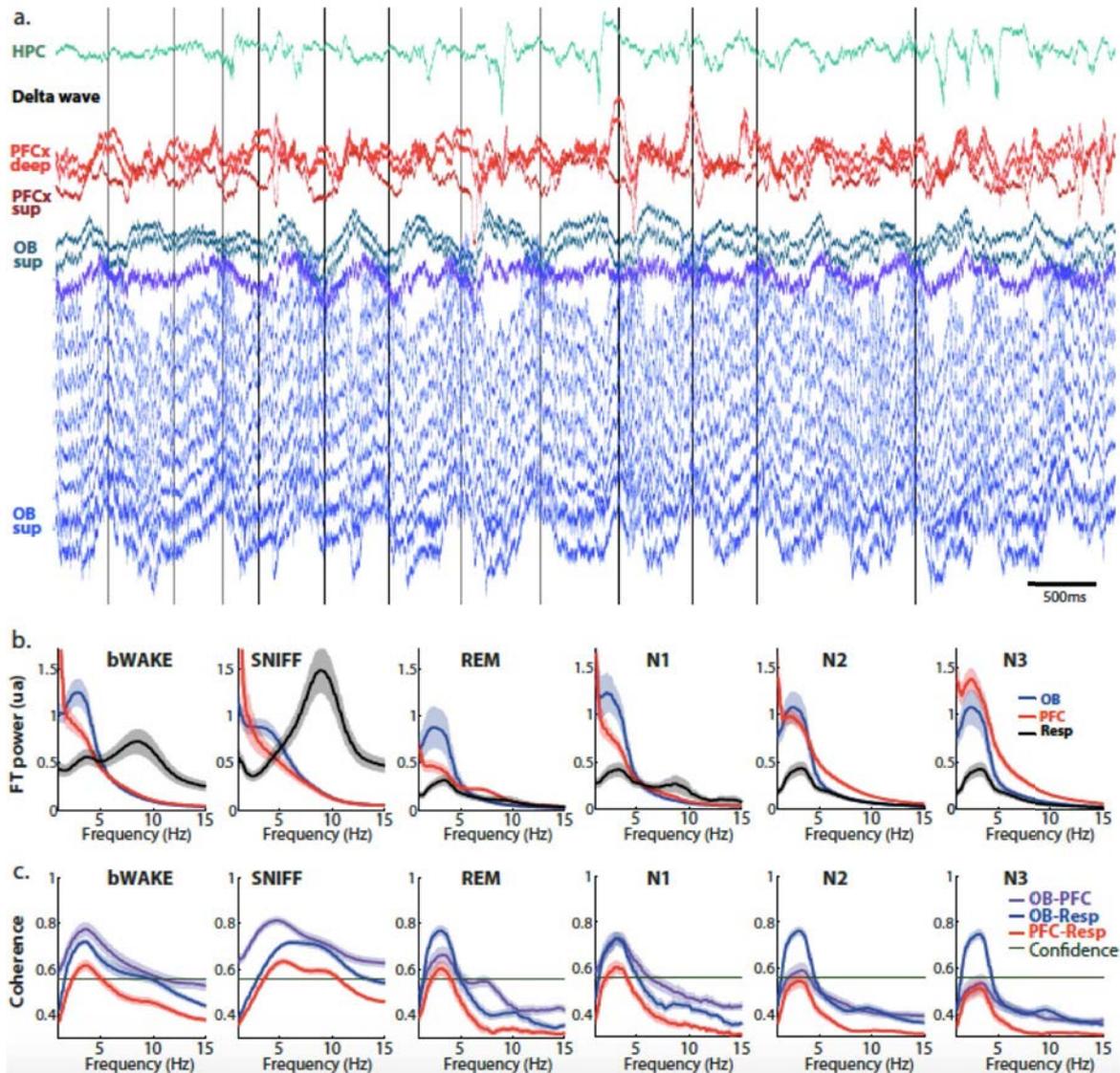


Figure 4.35: Cohérence entre la respiration, le BO et le cortex préfrontal durant le sommeil

a- Exemple d'enregistrement LFP dans le cortex préfrontal (PFCx, rouge), le bulbe olfactif (OB, bleu) et l'hippocampe (HPC, vert) durant 8s de sommeil (n=1). Noter l'oscillation lente (2-4Hz) en phase dans les deux structures, et les ondes delta -définies comme une inversion entre les voies superficielles et profondes du PFCx- survenant aux creux de l'oscillation mesurée sur les voies superficielles du BO. b- spectre de puissance moyen pour le BO, le cortex préfrontal et le signal de respiration dans les différents états de vigilance (n=9). Noter la forte relation entre les pics de puissance du BO, du PFC et de la respiration durant les phases de REM, N1, N2 et N3. c- Cohérence entre le BO et le signal de respiration (bleu), entre le cortex préfrontal et la respiration (rouge) et entre le BO et le cortex préfrontal (violet). Noter la diminution de la cohérence entre BO et préfrontal (mais aussi entre respiration et préfrontal) avec la profondeur de sommeil.

IV-3-c La cohérence entre BO et Cortex au rythme delta

Comme indiqué précédemment, le BO et le cortex oscillent tous deux au rythme delta durant le sommeil, et cela est visible sur la comparaison des spectres de puissance enregistrés dans ces deux structures (Figure 4.28). Nous avons tenté ici de quantifier les liens entre les oscillations du BO et du cortex préfrontal. Comme l'activité du BO est majoritairement induite par la respiration, le lien entre respiration et activité du cortex préfrontal est également décrit.

Modulation du cortex préfrontal par le LFP du BO

L'observation des signaux enregistrés conjointement dans le cortex préfrontal et le BO, montre que ces deux structures oscillent de façon similaire durant le sommeil (Figure 4.35a). Bien que parfois non coordonnées, les oscillations de basse fréquence et grande amplitude sont majoritairement en phase.

Ce qui frappe également, c'est la coordination entre le LFP du BO et les ondes delta générées dans le cortex préfrontal. Ces ondes delta définies comme une inversion entre les voies superficielles et profondes du cortex préfrontal sont générées au sein du cortex, et l'inversion présente ici entre les voies superficielles et profondes du BO attestent également de la localité des phénomènes en jeu. Nous reviendrons sur les ondes delta en partie IV-4-a.

Cohérence entre respiration, BO et cortex

La coordination de l'activité du BO et du cortex préfrontal se retrouve sur le spectre de puissance, où l'oscillation de respiration dans le BO et l'oscillation delta dans le cortex sont présentes simultanément (Figure 4.35). Celle-ci est-elle dépendante des états de vigilance ?

Nous avons analysé la cohérence entre la respiration mesurée dans le pléthysmographe, le bulbe olfactif et le cortex préfrontal (Figure 4.35b-c). Il apparaît que le BO et la respiration sont toujours cohérents de manière significative, la fréquence concernée variant cependant entre le sommeil et l'éveil. Notamment au sein du N1-N2-N3, le spectre de puissance moyen du BO ne varie pas, contrairement au spectre du préfrontal dont l'amplitude en 2-4Hz augmente avec la profondeur de sommeil comme attendu (Figure 4.35b). En dépit de ces changements, la cohérence entre BO et respiration reste inchangée durant les phases de sommeil.

En revanche, il apparaît une diminution progressive de la cohérence entre le BO et le préfrontal, ainsi qu'entre la respiration et le préfrontal, à mesure que le sommeil devient plus profond.

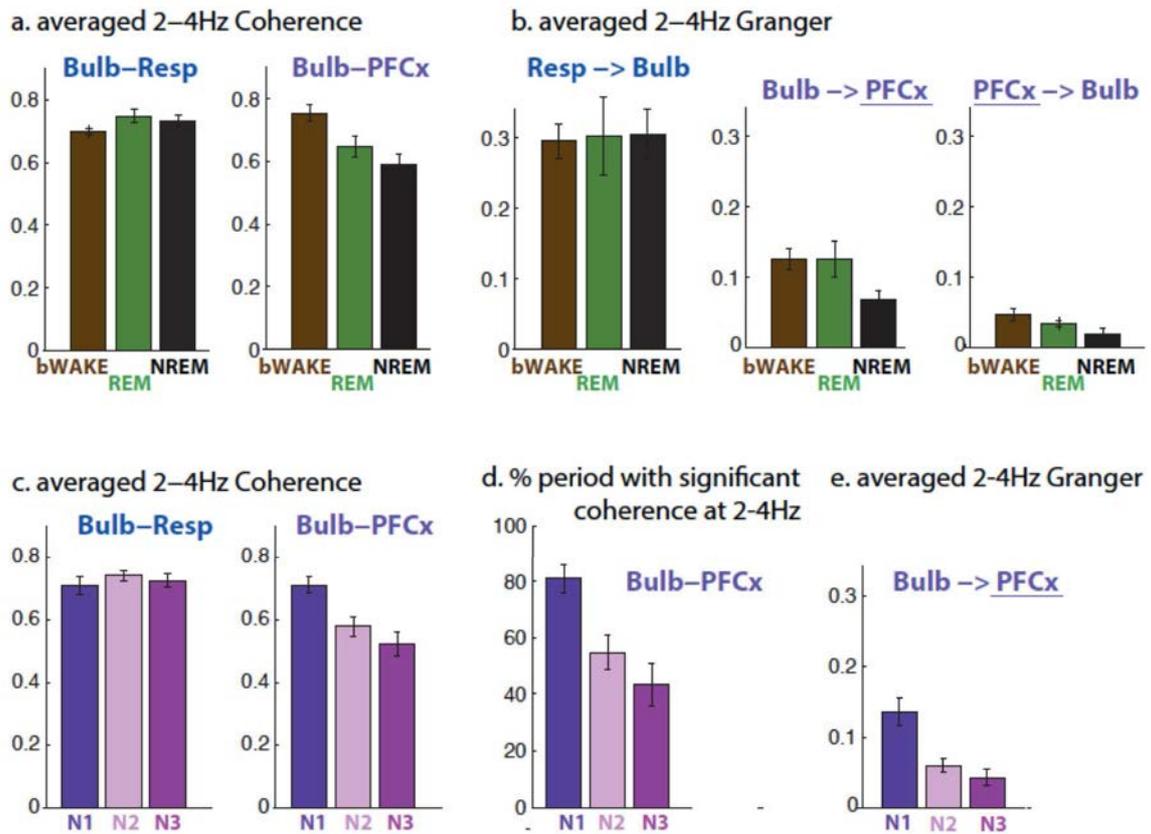


Figure 4.36: Diminution de l’entrainement du PFCx par le BO avec la profondeur de sommeil

a-b Quantification de la cohérence moyenne dans la bande 2-4Hz (a) et causalité de granger (b) dans le sens Bulb-PFCx ou PFCx-Bulb, comparé au sens respiration vers Bulb pour les 3 principaux états de vigilance. Noter que la causalité de Granger indique une plus probable directionalité entre Respiration->BO et BO-PFCx (n=9).

c-d-e même analyse pour les sous-stades de NREM (c et e), à laquelle s’ajout le pourcentage de temps avec une cohérence significative (d).

Causalité de Granger

Lorsque l'on quantifie cet effet sur la bande 2-4Hz, une diminution de la cohérence est en effet observée entre les stades N1, N2 et N3 (Figure 4.36c). Cette diminution est expliquée par une diminution du pourcentage de temps avec une cohérence significative entre BO et préfrontal (Figure 4.36d). Il semblerait qu'un second gating ait donc lieu entre le BO et le cortex en fonction de la profondeur de sommeil : bien que l'oscillation du BO reste inchangée entre N1, N2 et N3 (Figure 4.36), le LFP cortical dépend moins de cet input putatif. La dynamique interne au cortex durant les périodes de sommeil profond N3 pourrait-être responsable de la diminution de la réponse aux inputs du BO.

Il faut cependant noter que l'on ne peut pas affirmer que l'input indirect du BO sur le cortex préfrontal soit responsable de la cohérence observée. Il faudrait pour cela inhiber ou léser la structure en amont (le BO) ou la structure relais (le cortex piriforme) et vérifier que la cohérence disparaît en aval. De plus, le cortex préfrontal est impliqué dans le contrôle actif de la respiration, et il est intéressant de comprendre la relation de causalité entre ces LFP cohérents.

La causalité de Granger permet de donner une indication quant au signal qui entraîne l'autre, lorsque deux signaux sont cohérents. Il apparaît comme attendu que la respiration entraîne le BO (Figure 4.36b), mais cette analyse montre aussi que le BO entraîne le préfrontal. Notamment la causalité de Granger est la plus forte en N1, reflétant le résultat observé sur la cohérence, à savoir que le BO influencerait de moins en moins le cortex, au cours de l'approfondissement du sommeil.

Ces analyses de cohérence et de causalité donnent une première indication quant à la réalité physiologique de la communication du bulb olfactif vers le cortex préfrontal, mais le meilleur argument serait de pouvoir relier l'activité neuronale du cortex préfrontal à l'oscillation de respiration présente dans le BO au cours du sommeil. Nous allons donc maintenant quantifier le lien entre le BO et l'activité neuronale corticale.

IV-4. Implication du BO dans les processus du sommeil

IV-4-a Le BO comme moteur de l'activité neuronale corticale

Nous allons donc ici étudier le lien entre l'activité neuronale corticale et le BO durant les différents stades de sommeil.

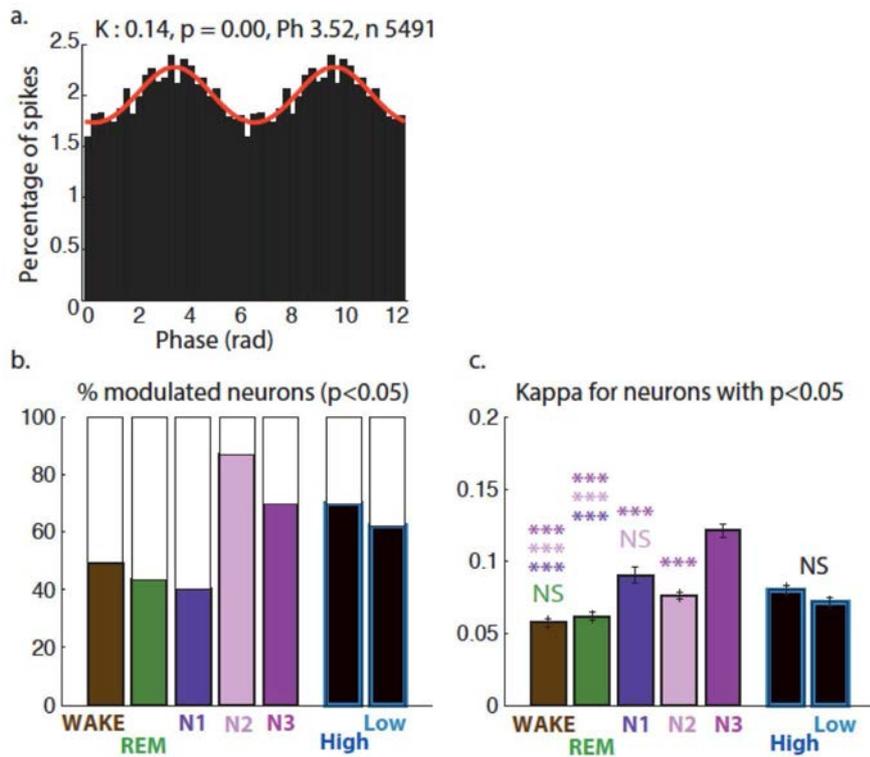


Figure 4.37 Modulation des neurones du cortex préfrontal par le BO durant le NREM.

a- Exemple d'un histogramme de phases d'un neurone du cortex (n=1). Le LFP du BO est filtré dans la bande delta (2-4Hz, rouge) et la phase à laquelle intervient chaque spike est calculée à partir de cette oscillation. Deux cycles d'oscillation sont représentés ici (0-4 π). Noter l'augmentation du nombre de spike corticaux au pic de l'oscillation du BO.

b- pourcentage de neurones significativement modulés dans les différents états de vigilance et durant les périodes de fortes (High) ou faible (Low) amplitude d'oscillations dans le BO comme décrit en Figure 5.9 (n=256 neurones, N=3 animaux). Noter le maximum de neurones corticaux modulés par le BO durant la phase N2, le minimum étant durant la phase N1.

c- Quantification de la valeur Kappa, représentant la force de la modulation, pour l'ensemble des neurones enregistrés. Test apparié de Wilcoxon sur les neurones modulés (n correspond au pourcentage de neurones modulés parmi les 256 neurones enregistrés, N=9 expérience sur 3 souris), *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, NS non significatif.

Modulation des neurones du cortex préfrontal par le BO

L'enregistrement simultané de neurones uniques du cortex préfrontal par des tétrodes et du LFP dans le bulbe olfactif permet de quantifier la modulation de l'activité de ces neurones par le rythme lent du BO (Matériel et Méthode).

Notamment, comme les ondes delta corticales ne sont pas présentes durant le REM alors même que le BO continue d'osciller au rythme de la respiration, la modulation neuronale présente durant cette phase de sommeil nous assurerait qu'il s'agisse bien d'un phénomène spécifique.

Un exemple d'une telle modulation durant le REM est présenté Figure 4.37a. La force de la modulation est importante, ce neurone du cortex préfrontal déchargeant le plus au moment du pic de l'oscillation enregistrée dans le BO (couche profonde).

La présence de cette modulation, alors même que le cortex n'oscille pas au rythme delta, suggère qu'il y a bien une communication entre le BO et le cortex préfrontal, et qu'il n'y aurait pas de tierce oscillateur à l'origine de la cohérence observée entre ces deux structures.

Pour comparer ce phénomène dans les différentes phases de sommeil, le pourcentage de neurones significativement modulés par l'oscillation respiratoire du BO (Figure 4.37b), ainsi que la force de cette modulation (Figure 4.37c) sont quantifiés. Aussi, il est intéressant de comprendre si la modulation des neurones corticaux dépend directement de la force des oscillations du BO. Nous avons décrit plus haut l'existence de différents modes oscillatoires du BO, avec des fortes ou faibles puissances en 2-4Hz pour une respiration similaire : ces deux états particuliers ont également été inclus dans l'analyse (Figure 4.37b-c). Il apparaît que peu de différence n'existe entre ce deux sous-états, bien qu'une légère augmentation du pourcentage de neurones modulés et de la force de modulation soient visibles pour les périodes de fortes oscillations dans le BO.

En revanche, il apparaît que le pourcentage de neurones modulés est maximal en N2, intermédiaire en N3 et faible en N1.

Or nous avons vu que la cohérence entre BO et préfrontal était inversement proportionnelle à la profondeur du sommeil. Tentons d'expliquer cette disparité. Il est possible que durant le N1 le cortex soit peu actif et la majorité de l'oscillation mesurée provient alors de l'influence du BO, d'où la forte cohérence alors même que les neurones ne sont pas tant modulés. En revanche durant le N2 beaucoup de neurones sont moyennement modulés, alors même que des phénomènes spécifiques au cortex (spindles, ondes delta) se mettent en place expliquant la cohérence moyenne. Enfin durant le N3, moins de neurones sont modulés, mais ceux-ci sont très fortement modulés, ils pourraient alors être responsables de processus spécifiques aux N3 comme l'oscillation lente.

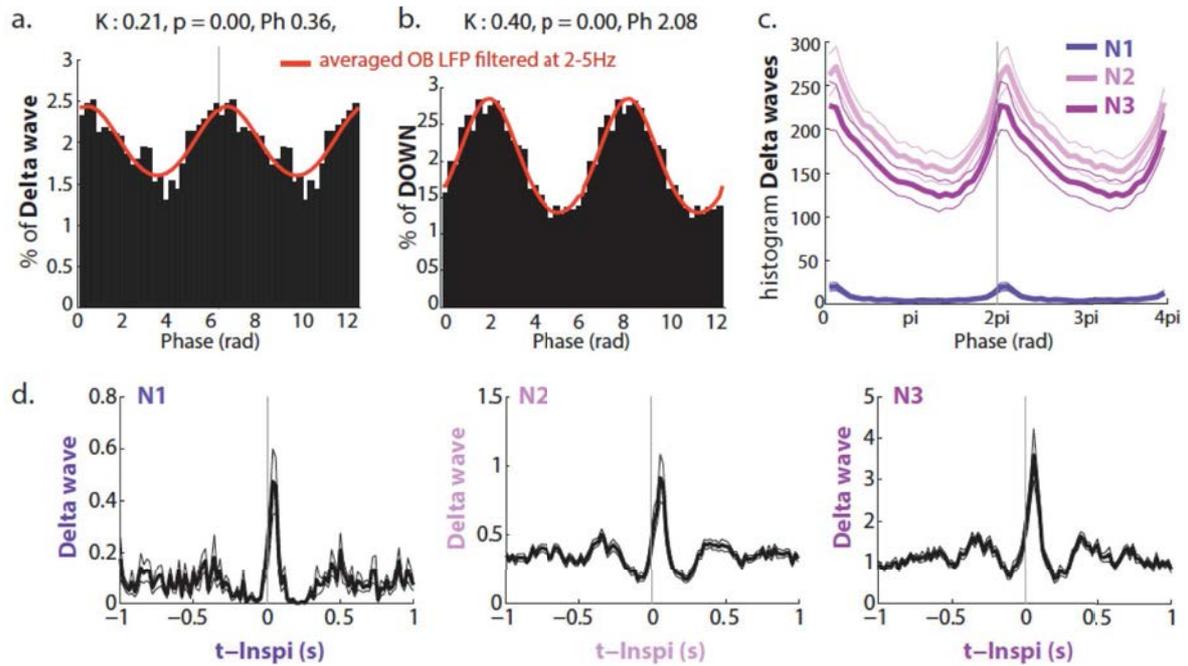


Figure 4.38 Modulation des ondes delta et des états down par le BO

a- Exemple d'un histogramme de phases des ondes delta du cortex (n=1). Le LFP du BO est filtré dans la bande delta (2-5Hz, rouge) et la phase à laquelle intervient chaque onde delta est calculée à partir de cette oscillation. b- même analyse pour les états Down d'une souris avec suffisamment de neurones clusterisés pour permettre une bonne détection de ces temps de silences. Noter la très forte modulation de ces événements corticaux par le BO. c- histogramme de phase des ondes delta en fonction de l'oscillation du BO, moyenné sur l'ensemble des animaux (n=9), en séparant les ondes delta intervenant durant le N1, le N2 ou le N3. Noter la très faible occurrence des ondes delta dans le N1, intervenant quand même au pic de l'oscillation du BO. d- cross-corrélogramme entre les ondes delta, et les temps d'inspiration mesuré par le pléthysmographe restreint à N1, N2 ou N3.

Modulation des ondes delta et états Down par le LFP du BO

Puisque certains neurones du cortex préfrontal sont modulés par le rythme respiratoire du BO, il est intéressant de comprendre si les phénomènes qui se déroulent dans le BO interagissent avec les processus du sommeil classiquement étudiés dans le cortex. Afin d'interroger la relation entre les rythmes du sommeil et le BO nous avons quantifié la modulation des événements uniques que sont les ondes delta, par l'oscillation respiratoire du BO (Figure 4.38a). Dans cet exemple, il apparaît que les ondes delta sont très fortement modulées par le BO.

Nous avons ensuite voulu comprendre si les ondes delta mesurées dans le cortex préfrontal étaient directement modulées par la respiration. Le cross-corrélogramme entre les moments d'inspiration mesurés par le plethysmographe et les temps du pic de l'onde delta montre qu'effectivement ces rythmes interviennent précisément après le temps d'inspiration.

Afin de vérifier la spécificité de ce résultat, nous avons fait la même analyse avec les états Down, déterminés comme des silences dans l'activité neuronale et donc liés à l'activité très locale du cortex préfrontal (Figure 4.38b). Il apparaît dans cet exemple que les états Down sont très fortement modulés par l'oscillation de respiration du BO.

En moyennant ces histogrammes sur l'ensemble des animaux, nous observons que la modulation des ondes delta est très forte en N2 et N3 (Figure 4.38c-d), mais reste présente en N1 malgré une faible occurrence de delta. Ce résultat indique que le BO serait responsable de la modulation des ondes lentes durant le sommeil chez la souris.

Il semblerait donc que la respiration puisse initier des ondes delta dans le cortex préfrontal, via le bulbe olfactif. Pour confirmer cette hypothèse, il faudrait vérifier qu'en absence de BO le couplage entre la respiration et les ondes delta est aboli, excluant le fait que ces deux phénomènes sont coordonnés par un tiers acteur.

Dans cette dernière partie, le bulbe olfactif apparaît comme un oscillateur à part entière du sommeil, qui influence l'activité du cortex préfrontal en terme de LFP et d'activité neuronale. En plus de la cohérence des oscillations lentes de ces deux structures, les rythmes corticaux spécifiques du sommeil que sont les ondes delta et les spindles semblent intervenir à des moments particuliers de l'activité du BO. L'ensemble de ces arguments est en faveur soit d'un lien causal entre le BO et l'activité corticale du sommeil, soit en faveur d'un mécanisme commun à la régulation de l'activité de ces deux structures.

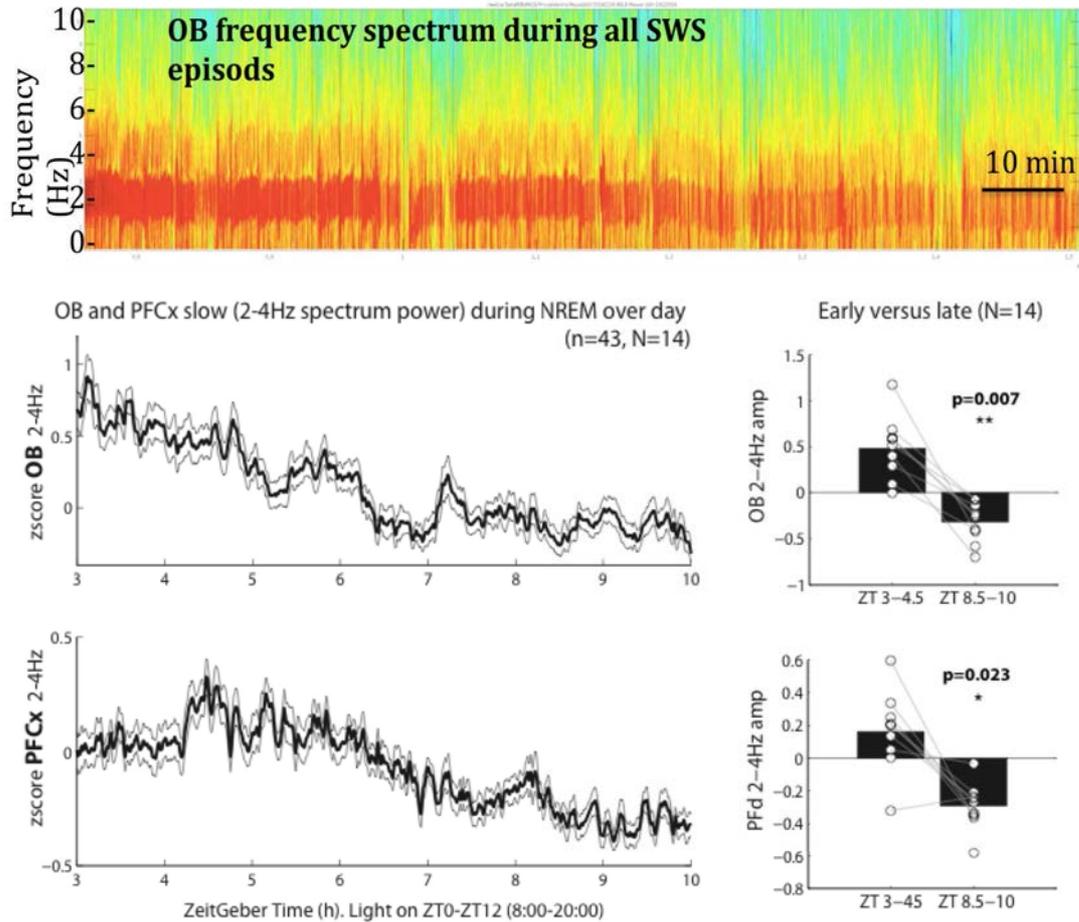


Figure 4.39: Décroissance des oscillations lentes du BO au cours du NREM.

haut Exemple d'un spectre de puissance pour les fréquences 0-10Hz dans le BO au cours du NREM (n=1). Les différents épisodes de NREM ont été concaténés. Noter la diminution progressive de la puissance entre 1.5 et 4Hz (bande delta) au cours du temps. *milieu*- Quantification de la puissance delta du BO (haut) et du cortex préfrontal (bas) dans le NREM au cours du temps de la journée (11h à 18h). Moyenne (noir) et SEM (gris) sont calculées pour n=43 expériences de N=14 animaux. *bas*- Comparaison de la puissance delta du BO (haut) et du cortex préfrontal (bas) entre le début (11h-12h30) et la fin (16h30-18h) de la période de sommeil. N=14, test de Wilcoxon-Mann-Whitney avec valeur de significativité indiquées.

IV-4-b Homéostasie des oscillations delta du BO

Décroissance des oscillations lentes du BO durant le sommeil

Au cours de la nuit, les oscillations lentes du cortex se font de moins en moins importantes. Selon l'hypothèse de l'homéostasie du sommeil soutenue par Tononi et Cirelli (Tononi & Cirelli, 2003), les oscillations lentes refléteraient l'excitabilité neuronale : plus la force des connexions synaptiques entre neurones du réseau est élevée, plus le recrutement du réseau lors de ces oscillations est important et plus l'amplitude des oscillations lentes est grande, elles seraient donc un marqueur de la pression de sommeil.

Les oscillations lentes serviraient également à diminuer la force des connexions synaptiques dans le réseau (synaptic downscaling). Il en résulte qu'au cours du sommeil, l'amplitude des oscillations lentes diminue à mesure de l'intervention de ces oscillations, cette fois comme agents de l'homéostasie du sommeil. Ce phénomène a lieu dans le cortex, et notamment le cortex préfrontal. Le bulbe olfactif présentant également une oscillation lente, existe-t-il alors des phénomènes similaires au niveau de cette structure ? sont-ils en lien avec les phénomènes corticaux ?

Afin d'étudier les oscillations lentes du bulbe olfactif, nous avons quantifié le spectre de puissance du signal LFP enregistré dans le BO dans la bande 2-4Hz (V- Matériels et Méthodes). Cette bande de fréquence inclut le rythme respiratoire dont nous avons parlé plus haut. Son évolution est étudiée ici au cours du sommeil.

Lorsque le spectre de puissance est restreint aux seules périodes de NREM, on peut observer immédiatement que la puissance du rythme delta diminue au cours du sommeil (Figure 4.39*haut*). La quantification de cette diminution sur l'ensemble des souris incluses dans ce protocole dénote l'importance et la reproductibilité de ce phénomène sommeil (Figure 4.39*milieu*).

Pour comparer ce phénomène à la décroissance des oscillations lentes qui se déroule dans le cortex durant le NREM, nous avons fait la même quantification à partir du signal enregistré dans le cortex préfrontal. Cette décroissance des ondes lentes corticales semble avoir une dynamique similaire, bien qu'apparemment de moins grande magnitude, et il est intéressant de comprendre si ces deux phénomènes sont liés ou indépendants au cours du sommeil. Notamment nous allons aborder ici la différence entre les sous-stades de NREM.

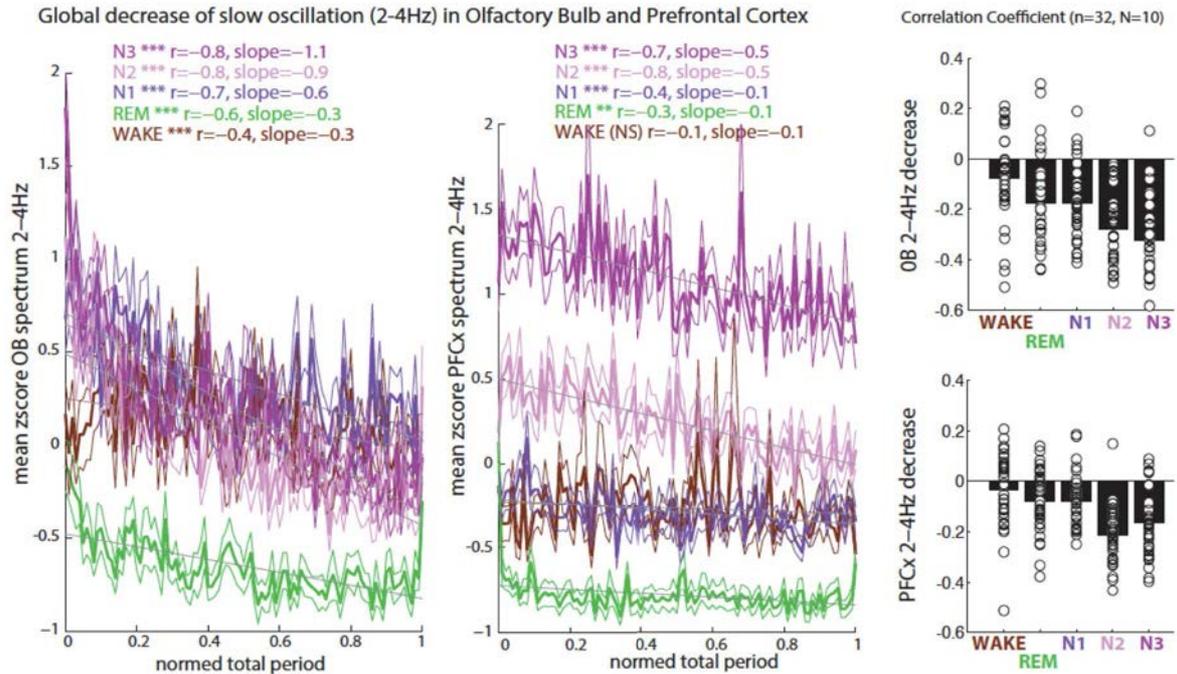


Figure 4.40: Décroissance des oscillations lentes du BO et état de vigilance.

a-b Puissance de la bande delta du BO (a) et du cortex préfrontal (b) au cours de du temps. La puissance a été normalisée pour chaque souris (n=33, N=10), par un zscore sur l'ensemble de l'enregistrement, et non par état de vigilance afin de permettre la comparaison des états entre eux. Le temps d'enregistrement de chaque souris est normalisé entre 0 et 1. Les informations de régression linéaire sont indiquées au dessus de chaque graphe. Noter la faible puissance delta dans le BO et le cortex pendant le REM, et la différence de puissance entre N1, N2 et N3 dans le cortex uniquement. c-d quantification de la pente de la régression linéaire effectuée sur la décroissance de la bande delta du BO (c) et du cortex préfrontal (d) pour chacun des états de vigilance. e- Distribution des valeurs 2-4Hz du BO en N1, N2 et N3. Noter que les valeurs sont shiftées vers les faibles puissances de BO à la fin de la période de sommeil.

Lien entre homéostasie des oscillations lentes et sous-états de NREM

Afin de comprendre l'origine de la décroissance des oscillations lentes du bulbe olfactif, une régression linéaire faite sur leur évolution au sein de chaque expérience a permis de déterminer la pente de ce phénomène de décroissance, dans chacun des sous stades de NREM (Figure 4.40.a).

La puissance delta (2-4Hz) est normalisée pour chaque enregistrement (zscore) et l'évolution est analysée en fonction de l'heure de la journée.

Il apparaît que la décroissance est présente principalement durant le NREM mais elle est également significative dans le REM et l'éveil. De plus, nous pouvons remarquer que la puissance des oscillations delta du BO dépend plus de l'heure de la journée que du sous-stade de NREM, le N1, N2 et N3 ayant des décroissances similaires et un niveau de base assez homogène. Pour comparaison, l'évolution du spectre de puissance delta du préfrontal montre bien la différence entre les sous-stades de NREM.

Afin d'affiner cette analyse, nous avons voulu quantifier la distribution des valeurs de puissance en 2-4Hz dans le BO au cours des différents états de vigilance, comparant début et fin de période de sommeil (Figure Annexe A1). En effet, un spectre moyen de plus faible amplitude peut être expliqué par deux choses : soit une diminution globale de l'amplitude des oscillations, soit une diminution du nombre de période avec de fortes amplitudes au profit des faibles amplitudes. L'analyse des distributions indique qu'il y a un shift global des valeurs vers les basses amplitudes et non une diminution de la fréquence d'apparition des fortes oscillations du BO au cours du sommeil. Ces valeurs sont particulièrement basses durant le REM en fin de période de sommeil.

Le phénomène de décroissance des oscillations lentes observé dans le BO au cours du sommeil suggère que le bulbe serait sujet à une homéostasie synaptique similaire à celle intervenant dans le néocortex. La respiration pourrait alors être le moteur de ce phénomène.

Aussi, la non dépendance du BO aux variations selon les phases de sommeil NREM, en fait un meilleur prédicteur de la pression de sommeil, que le préfrontal.

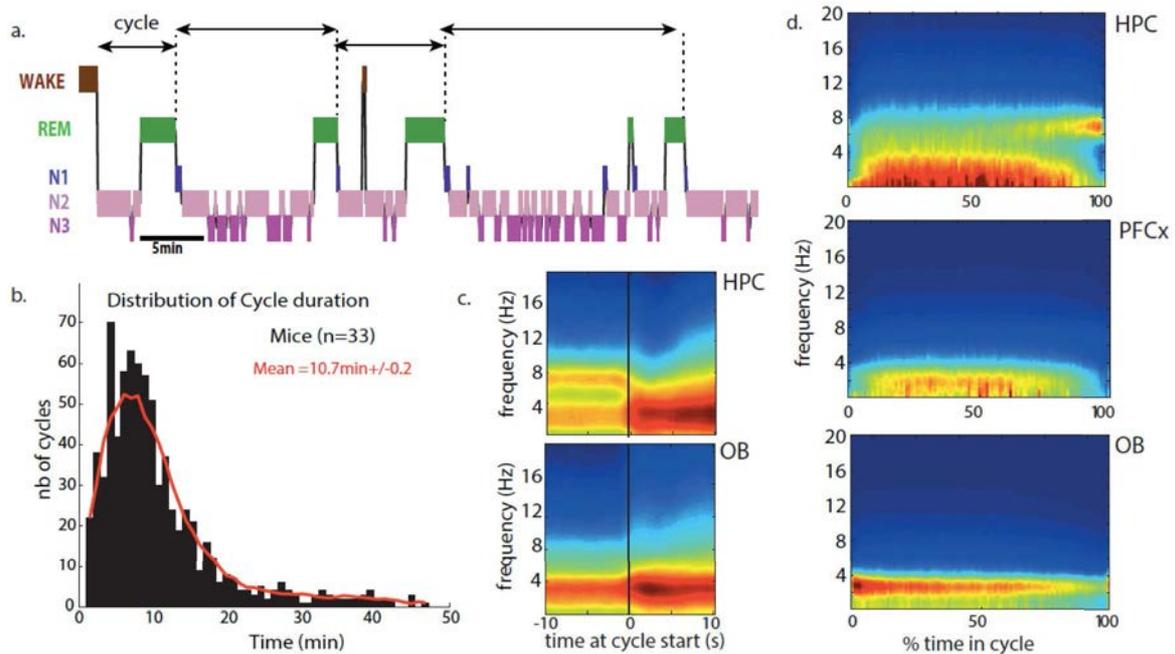


Figure 4.41: Définition d'un cycle de sommeil, et spectre de puissance

a- Hypnogramme obtenu chez la souris durant environ 1h de sommeil à partir de la méthode de différenciation des sous-états de sommeil, et ajusté pour illustrer la détermination des cycles de sommeil. Un cycle correspond à la période séparant deux fin de REM, ou séparant le début de l'endormissement après une longue période d'éveil, et la fin du REM suivant (1^{er} cycle sur l'illustration). Les REM très courts (<1min), et proche d'une période de REM (<5min d'intervalle) ne sont pas considéré comme sur le dernier cycle de cet exemple. b- distribution des durées de cycle pour l'ensemble des souris considérées dans l'analyse des cycles de sommeil (n=33). c- spectre de puissance moyennés sur les 30 premiers cycles de sommeil, pour l'hippocampe (HPC), le cortex préfrontal (PFCx) et le bulbe olfactif (OB). Noter l'apparition du thêta dans l'hippocampe caractéristique du REM en fin de cycle. Noter également la décroissance des oscillations lentes du BO au sein d'un cycle de sommeil. d- spectre de puissance dans le BO moyenné sur transition entre cycle. Noter le l'augmentation très forte des oscillations delta dès le début du cycle.

IV-4-c Cycles du sommeil et oscillations du BO

Nous avons jusqu'ici étudié la macrostructure du sommeil, et observé que les oscillations lentes du préfrontal mais aussi le rythme respiratoire dans le BO, diminuaient globalement au cours du sommeil. Mais le sommeil est également organisé en cycles de sommeil, définis par l'arrivée successive des épisodes de REM. Chez l'homme et chez l'animal, la fin d'un cycle est défini comme la fin d'un épisode de REM, le début du cycle correspond alors soit à la fin du REM précédent, soit au début du sommeil après une longue période d'éveil (Figure 4.41a). Bien que décrit dans des études anciennes, ce processus n'est que peu pris en compte dans la littérature actuelle. Nous avons donc étudié l'évolution des oscillations lentes du BO et du cortex préfrontal lors d'un cycle de sommeil.

Décroissance de l'amplitude des oscillations du BO au sein d'un cycle de sommeil

Nous avons tout d'abord analysé la distribution de la durée des cycles (Figure 4.41b). On observe une accumulation de valeurs autour de 6-10min, avec une moyenne de 10.7min, correspondant aux valeurs de la littérature. Noter que les très longues valeurs de durée de cycle peuvent venir de courts épisodes de REM non détectés.

Nous avons alors observé les profils des spectrogrammes au début du cycle de sommeil (Figure 4.41c). On observe comme attendu une disparition de la bande thêta dans le spectre de l'hippocampe puisque le début du cycle correspond à la fin du REM. Mais plus important, et moins attendu, on observe une forte augmentation de la puissance 2-4Hz du BO au début du cycle de sommeil.

Nous avons donc analysé les spectres de puissance du BO, du cortex préfrontal et de l'hippocampe moyenné sur les cycles de sommeil (Figure 4.41c). Il apparaît comme attendu une forte oscillation thêta dans le spectre de l'hippocampe avant la fin du cycle.

Dans le cortex préfrontal, une forte oscillation delta est présente durant le cycle, mais est absente en début et fin de cycle. La fin du cycle s'explique par la disparition du delta durant le REM, mais le début du cycle est plus difficile à interpréter. Chez l'homme, le début d'un cycle de sommeil est souvent constitué de N1, un sommeil duquel les oscillations lentes sont absentes, et il serait intéressant de comprendre si cette même microstructure est retrouvée chez la souris. Nous aborderons ce point dans la dernière partie de ce chapitre.

Cette dynamique des ondes delta du préfrontal est très différente de ce qui est observé dans le BO. Il est frappant de voir que l'oscillation 2-4Hz dans le BO décroît de manière très régulière au sein du cycle de sommeil. Nous avons observé que le REM était associé à une puissance moins élevée dans le BO, et nous voyons ici que cet effet pourrait être dû à une décroissance locale des oscillations du BO, au sein de chaque cycle. En revanche le début du cycle suivant est associé à une ré-augmentation des oscillations delta (Figure 4.41d), rapide et forte.

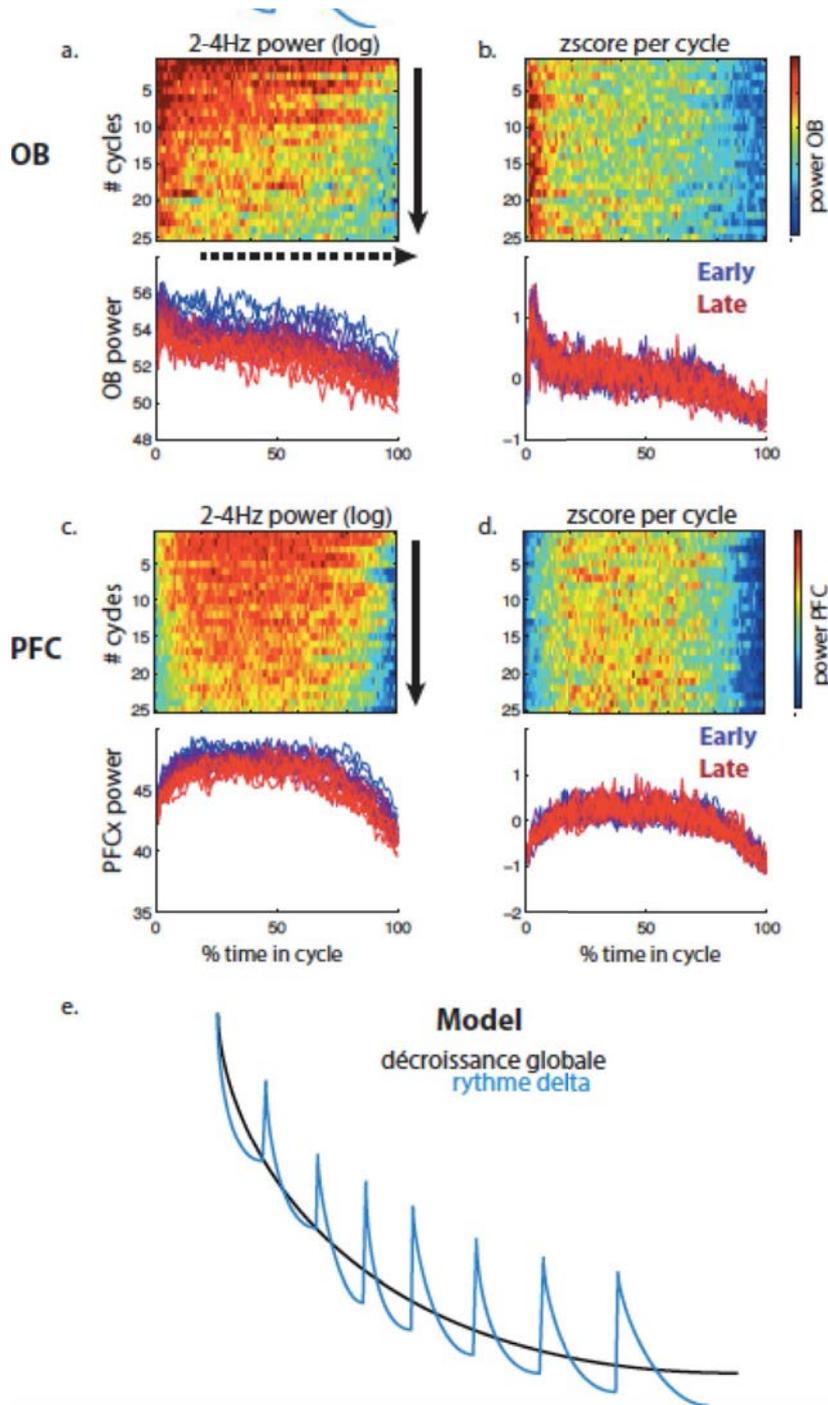


Figure 4.42. Décroissance locale et globale des oscillations delta

a- spectre moyen dans la bande 2-4Hz moyenné sur toutes les souris, pour leurs 25 premiers cycles de sommeil (haut), et spectre de puissance moyen au court des différents cycles avec un dégradé de couleur pour marquer l'évolution du temps, bleu pour les premiers cycles et rouge pour les derniers. Une décroissance est visible sur chaque cycle (flèche pointillé), et globalement, les oscillations lentes du BO sont de moins en moins forte signe de la décroissance globale (flèche pleine). b- la même analyse normalisé (zscore) sur chaque cycle montre que la décroissance est aussi importante en début qu'en fin de nuit, seul le niveau de base à partir duquel commence le cycle explique la différence entre les premiers et deniers cycles. c-d même analyse que a-b pour le cortex préfrontal. La décroissance globale est également observée (flèche), mais sans décroissance au sein d'un cycle. e- modèle récapitulatif de la décroissance des oscillations lentes dans le BO et le cortex préfrontal au cours de la nuit.

Décroissance locale et décroissance globale

La décroissance globale des oscillations lentes du BO au cours du sommeil se retrouve donc à l'échelle du cycle de sommeil (Figure 4.42a-b). Nous avons donc regardé ce phénomène sur les successions de cycle obtenue lors du sommeil de nos souris. Au sein de chaque cycle, la puissance 2-4Hz du BO diminue. Au début d'un cycle, le niveau est à nouveau élevé, mais légèrement moins fort qu'au début du cycle précédent, etc. Il faut également remarquer que la décroissance normalisée est identique en début et fin de nuit. Seul le niveau de base est donc changé (Figure 4.42b). Un exemple d'enregistrement dans le bulbe olfactif présentant cet effet est présenté en annexe (Figure A6).

Ce phénomène en dent de scie expliquerait la décroissance globale par un phénomène local au cycle.

En revanche, cette dynamique n'est pas retrouvée dans le cortex préfrontal. En effet si l'on retrouve la décroissance globale avec la diminution de la bande delta au cours des cycles (Figure 4.42c), la présence des oscillations delta préfrontales forme une courbe en cloche : une faible puissance en début de cycle et en fin de cycle, qui diminue au cours du sommeil (Figure 4.42d).

Ainsi il semble que la décroissance des oscillations de respiration dans le BO soit un phénomène local dans le temps et qu'il soit lié à l'unité de temps du cycle de sommeil. Ces résultats sont résumés dans un modèle comparé de la décroissance dans le BO et le cortex préfrontal (Figure 4.42e). Au sein de chaque cycle de sommeil, le rythme delta présent dans le BO décroît, et la vitesse de décroissance entre les cycles est toujours équivalente. Mais au début du cycle suivant, l'oscillation delta est brusquement réaugmentée, mais à un niveau inférieur que le cycle précédent, de sorte qu'une décroissance globale soit observée au cours du sommeil. Dans le cortex préfrontal, le rythme delta diminue également de manière globale mais son amplitude semble plus dépendre de l'organisation des phases de sommeil au sein d'un cycle que du cycle lui-même.

Dans cette dernière partie, un phénomène de décroissance globale de l'amplitude des oscillations lentes du BO au cours du NREM a été décrit. Cette décroissance ressemble au phénomène observé pour le rythme delta cortical et s'apparenterait à une homéostasie du niveau de l'excitabilité du BO. À un niveau plus local au sein d'un cycle de sommeil, les oscillations lentes du BO diminuent également progressivement. Les différences de mode oscillatoires du BO ne semblent pas influencer le passage d'une phase à l'autre au sein du cycle.

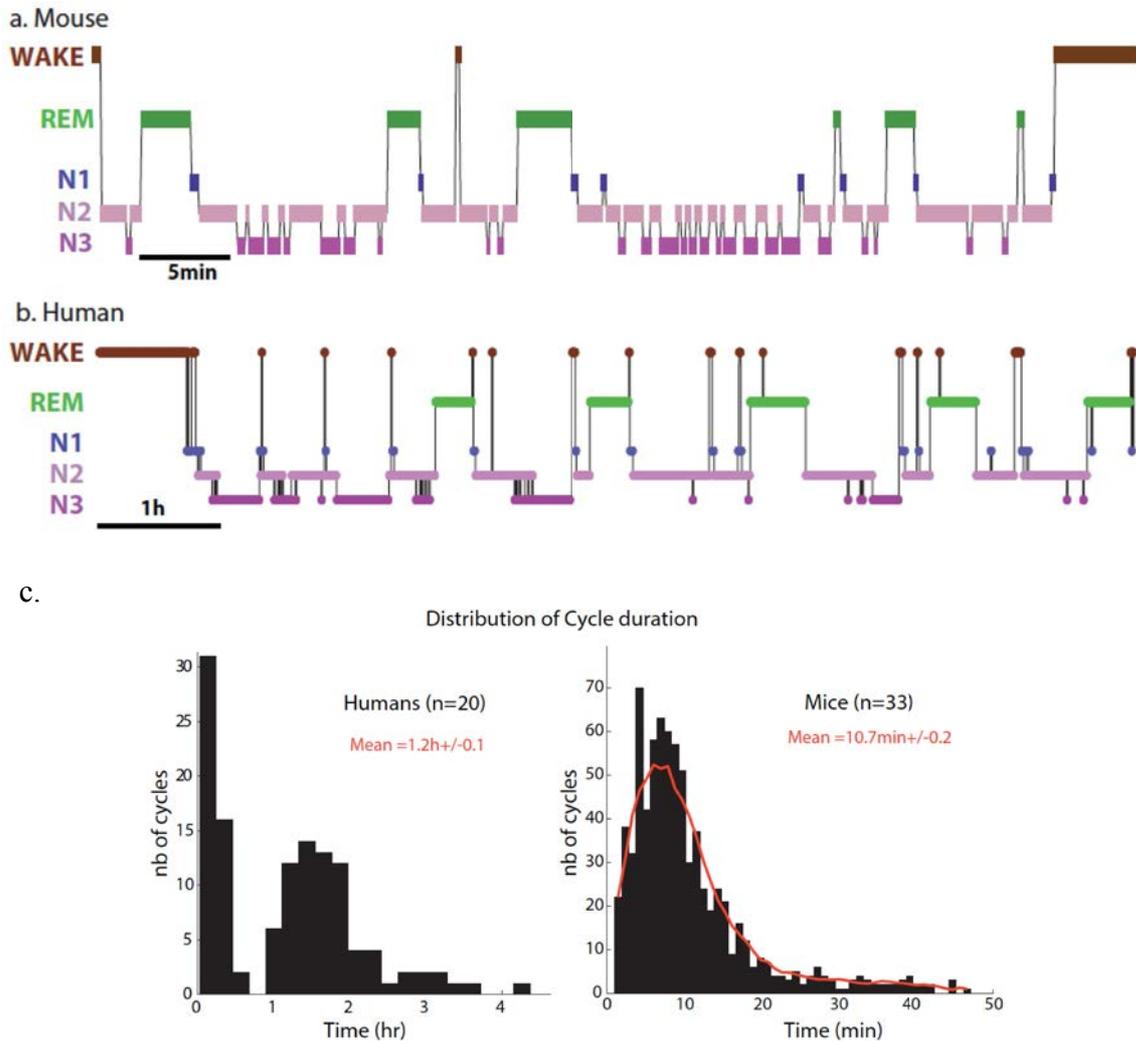


Figure 4.43: Polysomnographie comparée homme - souris.

a- Hypnogramme obtenu chez la souris à partir de la méthode de différenciation des sous-états de sommeil décrite dans ce chapitre. b- Hypnogramme d'un sujet de la base de donnée *DREAMS* présentant cinq cycles de sommeil (environ 8h de sommeil) chacun constitué de NREM puis de REM. Les phases de NREM sont dégradées en début de cycle, du plus léger (N1) au plus profond (N3), et progressives en fin de cycle. La durée du N3 diminue au cours de la nuit tandis que la durée de REM augmente. c. comparaison des distributions de la durée des cycles de sommeil chez l'homme (n=20 sujets) et chez la souris (n=33 expériences, N=13).

IV-5 Cycles de sommeil, comparaison à l'homme

Les différents sous-stades de NREM que nous avons caractérisés ici sont inspirés des sous-stades de NREM chez l'homme puisqu'ils reposent sur des marqueurs électrophysiologiques communs à nos deux espèces. La nécessité de différencier les sous-stades de sommeil chez l'animal afin de décrire plus finement les processus en action durant le sommeil serait confortée par une similarité des caractéristiques de la macrostructure et de la microstructure des phases de sommeil entre l'homme et l'animal. Il est intéressant alors de comparer les caractéristiques des phases de sommeil et la dynamique du sommeil entre le scoring classique chez l'homme et notre méthode appliquée au sommeil du rongeur.

IV-5-a conservation de l'organisation globale des cycles de sommeil

Un exemple de comparaison des hypnogrammes obtenu chez la souris avec notre méthode et obtenu chez l'homme avec des méthodes classiques est présenté Figure 4.43. Une similarité entre ceux-ci, bien que l'échelle de temps étant 10 fois plus petite pour la souris, suggère que certains phénomènes sont conservés entre l'homme et le rongeur, en particulier la présence de cycles de sommeil.

Evolution globale des phases de sommeil

Chez l'homme il est classiquement observé que la quantité de N3 est importante en début de nuit et faible en fin de nuit, alors que la durée du REM suit une courbe inverse. Sur l'exemple d'hypnogramme chez l'homme (Figure 4.43), le N3 est présent majoritairement durant les deux premiers cycles, et quasi absent lors des derniers, alors que la durée des épisodes de REM s'allonge au cours des cycles. Les résultats présentés précédemment sur l'évolution globale des sous-stades de sommeil au cours du temps (IV-3-a, Figure 4.22) retrouvent ce même pattern pour le REM, classiquement décrit dans la littérature chez le rongeur, mais aussi pour notre stade N3. Ce résultat souligne la potentielle conservation des processus impliqués dans la régulation des différents stades, et en particulier des différents sous-stades de NREM que nous avons définis ici. Ainsi l'architecture globale du sommeil semble conservée entre l'homme et le rongeur et cela renforce la réalité physiologique de notre classification.

Des cycles de sommeil

Le sommeil chez l'homme est décomposé en cycle, défini par l'apparition de REM toute les 90min environ. Chez le rongeur, nous pouvons également observés des cycles, mais d'une durée beaucoup plus courte : 10min en moyenne (Figure 4.43c).

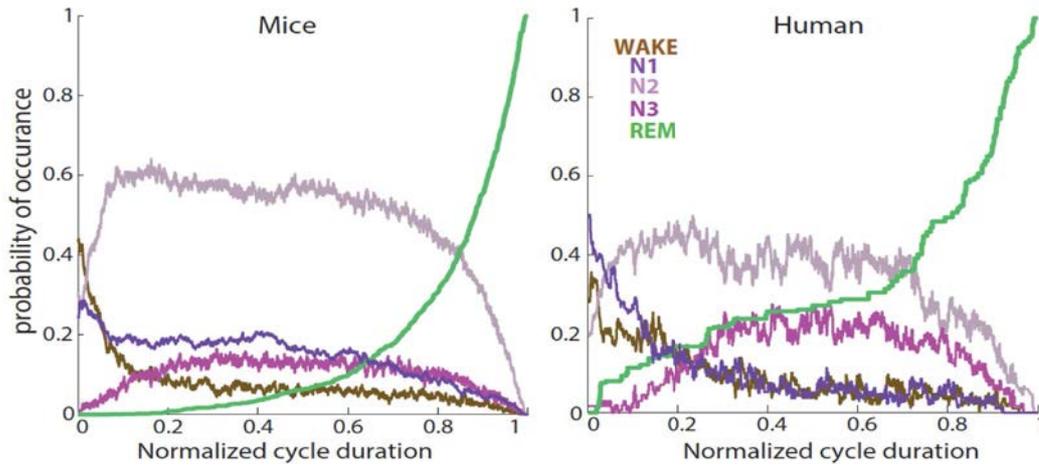


Figure 4.44: microstructure du sommeil : les phases du cycle

Comparaison de l'évolution des différentes phases de sommeil et d'éveil au cours d'un cycle entre l'homme (n=20) et la souris (n=33, N=13). Noter la similarité des dynamiques de chacune de ces phases. Noter la plus grande proportion de N2 chez la souris en comparaison avec l'homme.

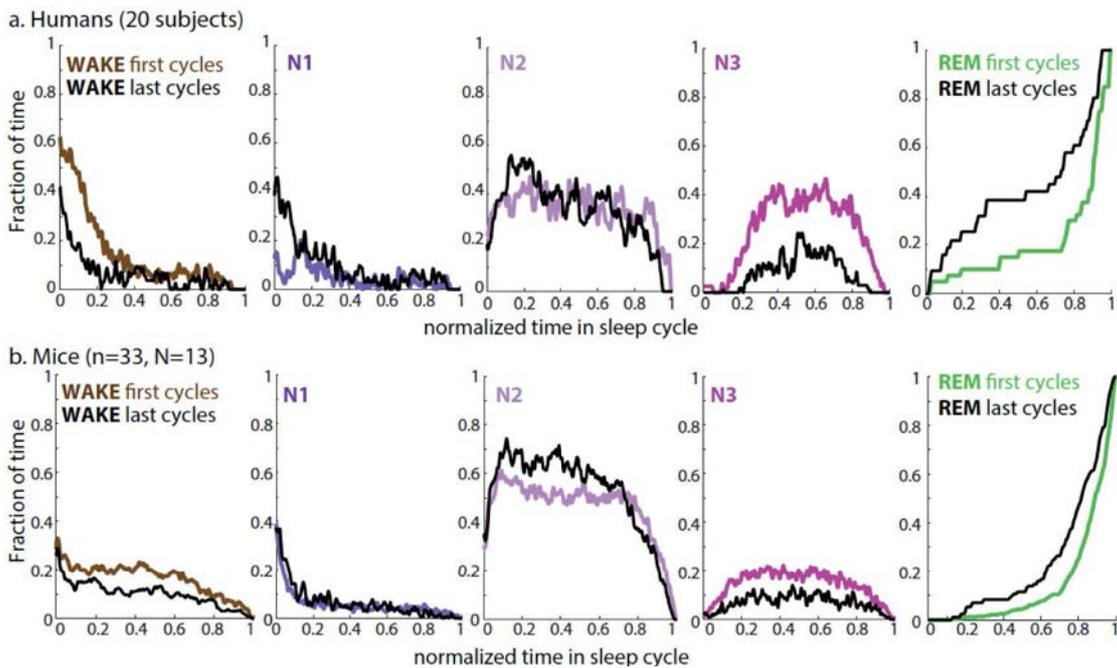


Figure 4.45: La microstructure est différente entre les premiers et derniers cycles d'une nuit de sommeil

Comparaison de l'évolution des différentes phases de sommeil et d'éveil au cours d'un cycle entre l'homme (n=20) et la souris (n=33, N=13), pour les premiers cycles (couleur) et les derniers cycles (noir).

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

Retrouve-t-on la même microstructure que chez l'homme ?

Nous avons comparé l'organisation des différentes phases de sommeil au sein d'un cycle de sommeil entre l'homme et la souris (Figure 4.44). La proportion occupée par chaque état de vigilance –éveil, REM, N1, N2 et N3- à chaque temps du cycle de sommeil est moyennée pour les 20 sujets d'une part et pour nos souris d'autre part. Il apparaît que la dynamique du REM est très similaire, avec une augmentation exponentielle au cours du cycle de sommeil. Notamment la valeur à 1 à la fin d'un cycle est attendu car la fin du REM est le critère utilisé pour définir un cycle de sommeil.

Concernant le N3, on observe que le N3 suit une courbe en cloche : peu présent au début cycle, il augmente progressivement, puis rediminue en fin de cycle avant de laisser sa place au REM. Cette dynamique n'est pas sans rappeler l'évolution du rythme delta dans le préfrontal au cours des cycles de sommeil dans nos enregistrements chez la souris (Figure 4.42c-d). Ainsi la dynamique du N3, liée par définition à la dynamique des oscillations lentes du cortex, est-elle conservée entre l'homme et l'animal.

Evolution des cycles au cours de la nuit de sommeil

Nous pouvons à nouveau interroger l'évolution globale du sommeil, mais cette fois en prenant en compte la dynamique des cycles. La figure 4.45 présente la dynamique des différentes phases de sommeil et de l'éveil au cours des premiers cycles de la nuit, comparés aux derniers. Il apparaît, comme dit précédemment que la durée de REM est augmentée sur les derniers cycles, la durée de N3 étant quant à elle très diminuée. La dynamique en cloche est cependant conservée, bien que globalement moins importante, rappelant encore une fois l'évolution des oscillations delta que nous mesurons dans le cortex préfrontal (Figure 4.42c-d).

Il est important de noter que le N1 que nous enregistrons, a une dynamique très similaire au N1 définit chez l'homme, avec une durée importante en début de cycle et qui décroît rapidement. Cette similarité nous conforte également dans nos critères de détermination du N1 puisqu'il partage les caractéristiques du sommeil léger chez l'homme. Notamment, peu d'évolution est à noter entre les premiers et les derniers cycles de sommeil.

Ce résultat se retrouve également pour N2 qui semble assez peu évoluer au cours du sommeil global mais dont la dynamique interne au cycle est très proche du sommeil chez l'homme (en lien avec l'évolution des stades précédents). Une augmentation rapide au début de cycle puis une décroissance légère avant une chute brutale lors de la fin du cycle, laissant place au REM.

Ainsi la macrostructure et la microstructure du sommeil obtenu par notre méthode de scoring chez la souris semble présenter une conservation des caractéristiques présentes chez l'homme.

Comme nous pouvons le voir sur les hypnogrammes (Figure 4.43), une dynamique est également présente au sein même des cycles de sommeil. Cette dynamique est-elle semblable entre nos deux espèces ?

Résultats

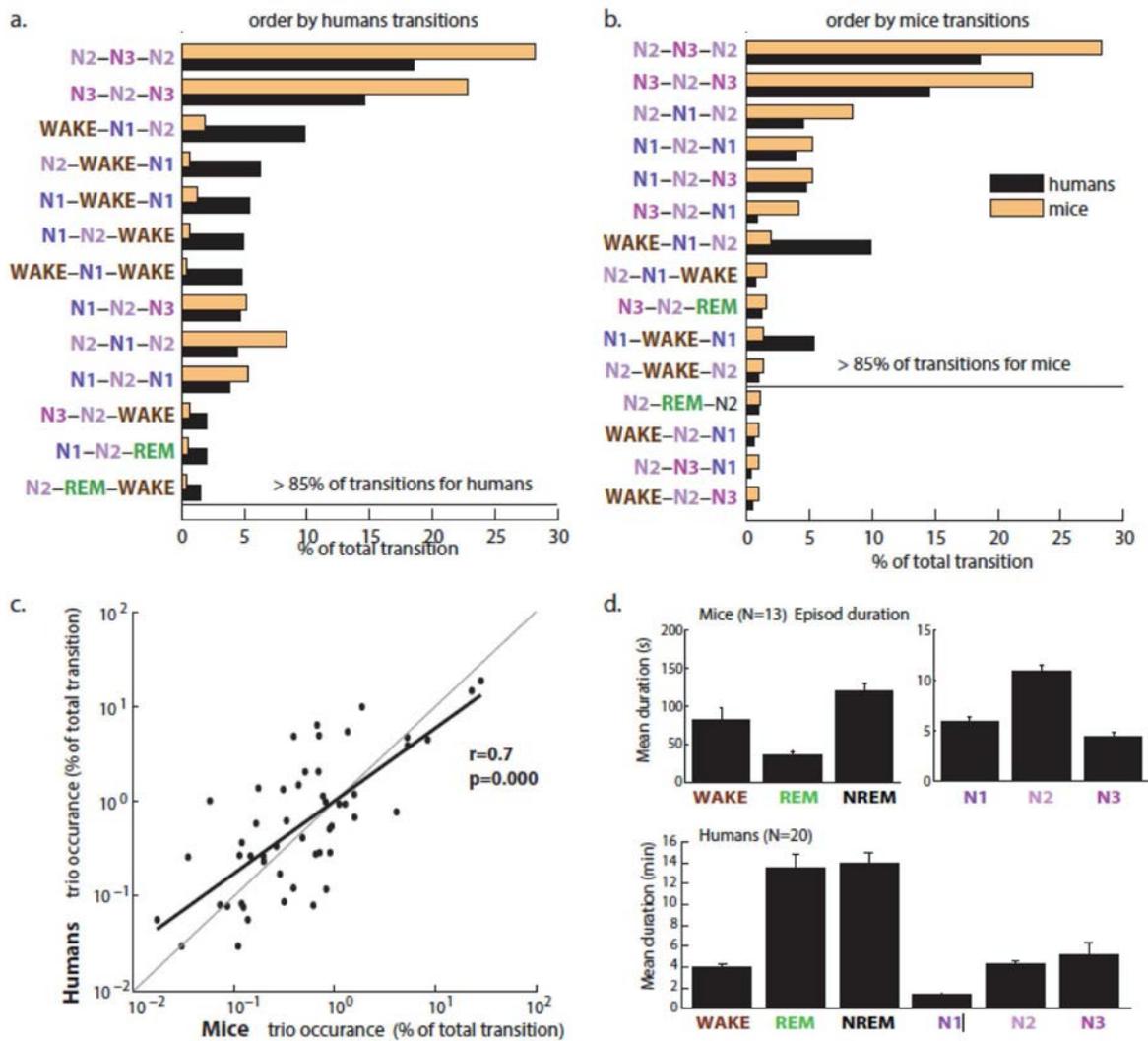


Figure 4.46: Polysomnographie comparée homme - souris.

a-b Pourcentage des transitions occupées par les trios de phases les plus fréquemment observés dans le sommeil chez l'homme (ordonné en a-) et chez la souris (ordonnés en b-). 80 transitions possibles existent, mais nous avons choisi de montrer ici les transitions contribuant en cumulé à 85% des transitions totales. Le reste est donné pour information en Annexe A3. c- Corrélation entre les pourcentage de transitions chez la souris et l'homme. La régression linéaire donne un coefficient de 0.7 significatif ($p < 0.001$). d- comparaison de la durée des phases de sommeil et d'éveil chez l'homme et la souris. Noter le changement d'échelle pour les sous-stades de NREM chez la souris, dénotant la labilité de ces phases de sommeil ($n=20$ sujets vs $n=33$ enregistrements obtenus chez 13 souris).

IV-5-b conservation de la dynamique de changement de phase

Sur l'hypnogramme humain Figure 4.46.b, nous voyons qu'après un épisode d'éveil, le sujet passe d'abord en sommeil léger N1, puis en sommeil N2. Le passage en sommeil profond N3 n'est jamais direct et passe par le N2. Cette continuité entre les profondeurs du sommeil est également retrouvée en fin de cycle : avant de passer en REM, le sujet repasse par des stades plus légers N2.

L'ensemble des hypnogrammes chez l'homme utilisés dans le reste de cette analyse (20 sujets) sont présentés en annexe (Figure A2).

Afin de quantifier cette dynamique, nous avons calculé les pourcentages des transitions qui impliquent chaque trio d'état de vigilance possible. Avec l'éveil, le REM, et N1, N2, N3 nous avons 80 transitions possibles (Figure 4.46a). Certaines sont cependant beaucoup plus fréquentes que d'autres.

Notamment les sous-stades que nous avons identifiés chez la souris sont de bien plus courtes durées que chez l'homme (Figure 4.46d), les animaux passant rapidement des stades N1 à N2 et entre les stades N2 et N3 (transition). Ainsi les transitions entre N2 et N3 ainsi qu'entre N1 et N2 occupent-elles une grande partie du nombre de transitions (Figure 4.46b). Cependant cette dynamique rapide entre les sous-stades de NREM est également présente chez l'homme. En effet les alternances entre N1-N2 ou N2-N3 font partie des transitions les plus fréquentes.

Chez la souris, les transitions qui interviennent également fréquemment sont les transitions dégressives, vers une profondeur de sommeil, à savoir N1-N2-N3 et WAKE-N1-N2. Ces deux types de transitions sont également parmi les plus fréquentes chez l'homme. Ainsi la dynamique d'endormissement semble conservée entre l'homme et l'animal.

De la même façon, les transitions progressives vers le REM N3-N2-REM et N2-REM sont semblables entre la souris et l'homme. De manière intéressante, l'allègement du sommeil avant le REM ne repasse pas en N1, et le REM intervient majoritairement après le N2. Ce résultat nous indique également que notre classification correspond à une réalité physiologique.

D'autres transitions progressives, vers un allègement du sommeil ou vers l'éveil, comme N2-N1-WAKE sont importantes chez l'animal alors qu'elles ne sont pas présentes chez l'homme, qui transite directement depuis le N2. Cela pourrait être dû à la plus grande fragmentation du sommeil chez la souris qui est associé à des éveils plus fréquents. Mais à part ce type de transitions, la conservation entre l'homme et l'animal est frappante.

Globalement nous retrouvons donc chez la souris la progression entre les différentes phases : à l'endormissement, le sommeil est d'abord léger N1, puis plus profond en N2, et alterne ensuite entre N3 et N2. Avant le REM, un retour vers les stades plus légers N2 est systématique.

Ainsi la relation antinomique entre le N3 et le REM chez la souris est proche de ce qui est trouvé chez l'homme, ce qui appuie la pertinence de notre approche, et ses potentielles applications dans l'étude fine du sommeil.

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

Afin d'inclure toutes les transitions possibles (Annexe A3), notamment les transitions très peu fréquentes, la corrélation entre le pourcentage de transition chez l'homme versus chez l'animal pour les 80 trio de transitions est présenté (Figure 4.46c). La corrélation est très significative avec un coefficient de 0.7 indiquant que la dynamique du sommeil chez le rongeur est extrêmement conservée par rapport au sommeil chez l'homme.

Les transitions étant conservées, on observe donc que la principale différence entre la souris et l'homme est dans la durée de chaque cycle. Ils sont très courts chez la souris avec une grande fragmentation. On pourrait alors imaginer que les transitions et la maintenance des états seraient sous-tendues par des mécanismes différents et que seuls les premiers sont très conservés entre la souris et l'homme.

Dans cette partie nous avons comparé les caractéristiques du sommeil chez l'animal obtenu avec notre nouvelle méthode de scoring des sous-stades de NREM, avec le sommeil chez l'homme. Nous observons que la macrostructure et la microstructure du sommeil sont extrêmement bien conservées entre nos deux espèces, renforçant le bienfondé de la méthode que nous avons développée. De plus cette conservation des processus liés au sommeil encourage la recherche transversale sur le rongeur et ouvre la possibilité d'étudier les mécanismes fins de la régulation homéostatique du sommeil, mais aussi les mécanismes liés à la consolidation de la mémoire.

Discussion

Discussion

Nous avons détaillé ici une nouvelle méthode de scoring du sommeil chez la souris, reposant sur des critères électrophysiologiques inspirés de ce qui existe chez l'homme. La justification de cette approche réside dans l'existence de nombreux patterns oscillatoires communs à l'homme et à l'animal : les ondes delta corticales et les spindles du réseau thalamo-cortical, caractéristiques du NREM chez nos deux espèces.

Cette méthode permet de subdiviser de manière objective le NREM en trois sous-stades N1, N2 et N3. À notre grande surprise, beaucoup des propriétés existant pour ces différentes phases chez l'homme, sont retrouvées chez la souris. Ces propriétés se placent à 3 échelles de temps différentes : 1) l'échelle de la journée et la pression globale de sommeil 2) l'échelle du cycle de sommeil, et 3) à l'échelle de la dynamique rapide de switch entre les différentes phases au sein d'un cycle de sommeil. Ces 3 échelles de temps, font sans doute appel à des processus homéostatiques distincts, rendant l'étude du sommeil d'autant plus complexe. Mais la conservation chez le rongeur des caractéristiques du sommeil observées chez l'homme, au niveau de ces 3 échelles, permet de donner du sens à la recherche translationnelle sur le sommeil.

L'homéostasie globale du sommeil (macroarchitecture)

Pour commencer à l'échelle de la pression de sommeil globale, nous avons décrit pour le stade N3 et pour le REM une évolution similaire à celle trouvée chez l'homme au cours du temps de sommeil. En effet le N3 est plus présent au début de la période de sommeil, et moins à la fin, le REM ayant l'évolution inverse. Ce premier résultat est directement en accord avec la littérature pour ce qui est du REM ; et indirectement pour le N3 puisque les oscillations lentes du NREM sont connues pour diminuer au cours du temps de sommeil. Or nous définissons N3 sur le critère de la fréquence d'onde delta et notre observation correspond donc à la pression de sommeil à ondes lentes classiquement observée. Nous retrouvons en effet la décroissance globale des oscillations delta enregistrées dans le spectre de puissance. Cette diminution progressive au cours du temps de sommeil est particulièrement présente durant les phases de N2 et de N3. La question est alors de savoir si cette diminution correspond à une diminution de l'amplitude du rythme, ou à une diminution de l'apparition de ce rythme. Des analyses réalisées dans le laboratoire par Gaetan de Lavilléon ont révélé que l'amplitude des ondes delta n'est pas modifiée au cours du sommeil, mais leur fréquence d'occurrence est diminuée de sorte que l'on observe globalement la décroissance du rythme delta. Nous pouvons d'ailleurs émettre l'hypothèse qu'une privation de sommeil entrainerait une augmentation spécifique de la durée de notre stade de N3 durant le sommeil de rebond. Ce résultat serait en accord avec le two-process model (Borbely, 1982) et l'accumulation d'un facteur hypnogènes durant l'éveil formant une pression qui se relâche durant le sommeil, probablement durant N3.

Discussion

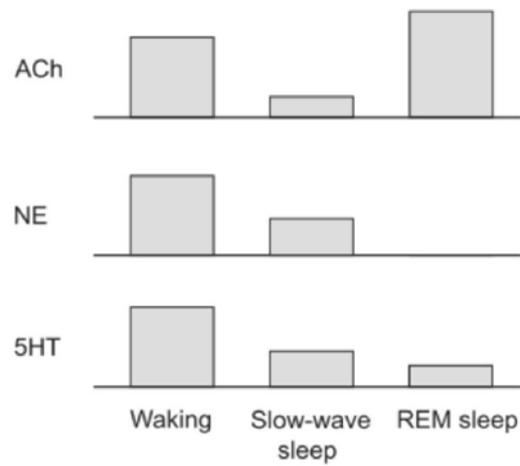


Figure 1 : Modification de la neuro-modulation corticale par les états de vigilance (Hasselmo, 1999). Evolution des concentrations des neuromodulateurs acétylcholine, NorAdrénaline et sérotonine au cours des états de vigilance (normalisé par les concentration de l'éveil).

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

Si une augmentation du pourcentage de sommeil occupé par le N3 est observée lors du rebond de sommeil après privation, nous pouvons nous demander si cette augmentation se ferait au dépend du N2 ou de N1. En effet, nous avons montré que le N1 est associé à une diminution de la communication hippocampo-corticale et ce stade ne serait alors pas permissif au transfert de l'information vers le cortex sous-jacent à la consolidation systémique. L'effet des privations de sommeil pourrait alors modifier l'organisation de la macrostructure du sommeil et induire un défaut de consolidation mnésique.

De plus, nous avons pu décrire à cette échelle, une seconde caractéristique issue du scoring des différents stades de NREM, à savoir que la durée totale de N2 est plus corrélée à la durée de REM, que ne le sont les durées de N1, de N3 ou de NREM total. Notamment, les durées de N2 et de REM ont une augmentation similaire au cours du temps sommeil, peu présents en début de nuit et très présents en fin de nuit. Ce résultat suggère que la pression de REM pourrait être liée spécifiquement au stade de sommeil N2. Ainsi la distinction des sous-stades de sommeil nous apporte t-elle une nouvelle clé de lecture des processus d'homéostasie globale, comme ceci a déjà été suggéré dans la littérature chez le chat où le sommeil est mieux caractérisé (Ursin, 1968).

Enfin, nous avons pu observé un phénomène d'homéostasie globale dans une structure qui n'est pas classiquement étudiée dans le sommeil : le bulbe olfactif. Celui-ci présente une oscillation delta bien à lui : le rythme respiratoire. La respiration de la souris entre 2 et 4Hz entraine l'activité du bulbe olfactif dans cette gamme de fréquence durant toute la durée de la nuit et nous avons montré que cette oscillation est également sujette à une homéostasie globale. En effet l'amplitude de la réponse du bulbe olfactif à l'input constant de la respiration se fait de moins en moins importante au cours du sommeil. Cette diminution de la réponse pourrait être due à la modulation de l'activité du bulbe olfactif par des neuromodulateurs ou facteurs hypnogènes responsables de l'homéostasie globale du sommeil (Figure 1). **Le bulbe serait alors un marqueur de l'état cérébral en lien avec l'homéostasie du sommeil.** Une deuxième hypothèse, compatible avec la première, est que le rythme delta présent dans le bulbe, entraine lui-même une dépotentialisation des synapses, à la manière des ondes lentes corticales qui sont à la fois un marqueur et un agent de l'homéostasie. On peut toutefois s'interroger sur la capacité du rythme respiratoire à induire cette diminution des forces synaptiques. De manière intéressante, les cellules mitrales de bulbe olfactif isolé oscillent spontanément entre des états Up et Down (Roux *et al.*, 2015), à la manière du thalamus ou du cortex isolé. Le bulbe olfactif pourrait alors être un modèle de choix pour l'étude des facteurs hypnogènes, de leurs modes d'action, et de la dynamique de cette modulation.

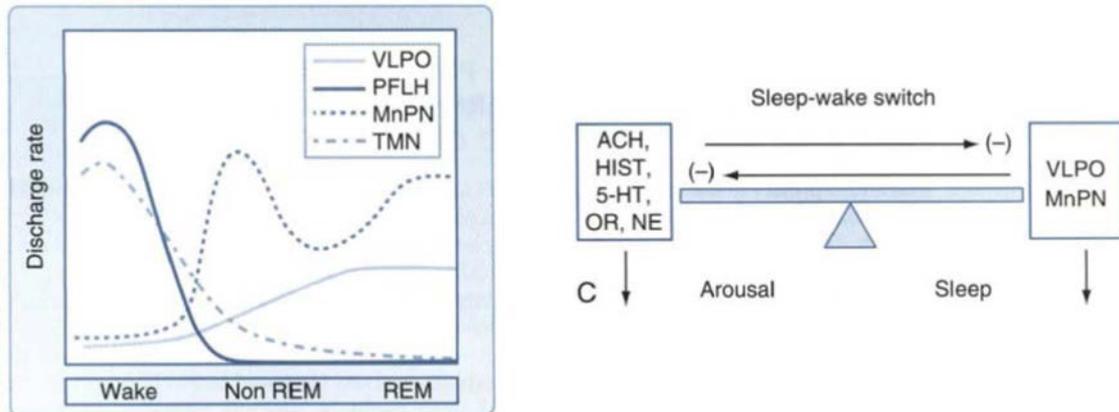
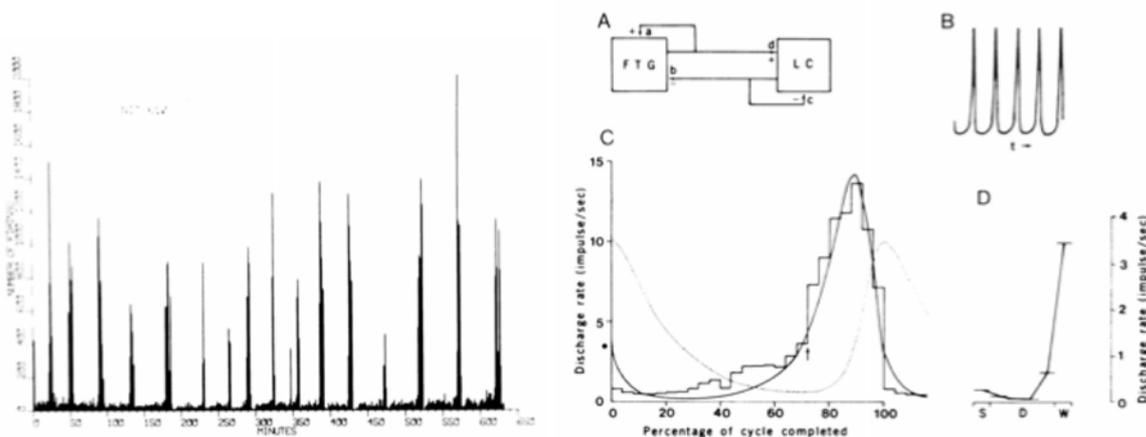


Figure 2 : Les mécanismes de régulation du sommeil chez les mammifères (McGinty & Szymusiak, 2005). Evolution de l'activité des centres de régulation du sommeil entre éveil, NREM et REM.



Figures 3 : Des neurones impliqués dans les cycles de sommeil (McCarley & Hobson, 1975)
Gauche Evolution de la décharge des neurones du FTG (pontine gigantocellular tegmental field) au cours de plusieurs cycles de sommeil. Le pic d'activité correspond aux périodes de REM. L'activité du neurone augmente doucement au cours du cycle avant de piquer au moment du REM puis de s'arrêter brusquement à l'éveil ou à la reprise du NREM.
Droite modèle d'interaction entre le FTG et le Locus Cœruleus (LC) au cours d'un cycle de sommeil.

L'homéostasie locale du sommeil (cycle de sommeil)

Pour reprendre la comparaison homme-rongeur, à l'échelle du cycle de sommeil cette fois, nous avons observé une similitude frappante de l'évolution des sous-stades de NREM au sein d'un cycle chez la souris avec l'évolution des sous-stades chez l'homme. La fin d'un cycle étant défini par la fin d'un épisode de REM, les cycles de sommeil sont classiquement décrits chez l'animal et utilisé pour qualifier le sommeil entre les espèces, reposant sur l'évolution de l'activité des centres de régulation du sommeil (Figure 2). Notamment, la souris présente des cycles courts et séparés par de longues périodes d'éveil fragmentant son sommeil alors que le sommeil chez l'homme est consolidé. On retrouve malgré tout chez la souris le fait que le sommeil présente une organisation fractale avec une structure similaire au niveau global et à l'intérieur de chaque cycle. En effet tout comme la probabilité de passer en REM croît au cours de la nuit (global), la probabilité de l'occurrence de REM croît au cours du cycle selon la définition même d'un cycle. Mais de manière moins triviale, on retrouve la présence de N3 au début d'un cycle de sommeil, qui diminue avec le temps du cycle.

Un des résultats les plus marquants de cette échelle, est la conservation de la dynamique de chacun des sous-stades au sein du cycle. Notamment le sommeil léger N1 est présent particulièrement au début du cycle, puis le N2 devient prépondérant, et enfin le N3 montre une courbe en cloche. Le fait que cette dynamique soit à ce point similaire entre l'homme et l'animal nous suggère que les critères physiologiques choisis reflètent des phénomènes similaires à ce qui est observé chez l'homme en polysomnographie. De plus cela suggère la conservation des mécanismes responsable du drive de sommeil cyclique.

Enfin, nous avons décrit le rythme respiratoire du bulbe comme un marqueur du cycle de sommeil. L'amplitude des oscillations delta enregistrées dans le bulbe olfactif décroît au sein du cycle, et ce de manière très reproductible d'un animal à l'autre, et d'un cycle à l'autre. L'amplitude de ce rythme pourrait, encore une fois être un marqueur de l'homéostasie à l'échelle d'un cycle de sommeil, et la question est de savoir s'il pourrait en être un agent. Notamment, l'évolution de l'activité de neurones spécifiques au cours du cycle pourrait influencer l'activité du bulbe olfactif et du cerveau en général, au cours de ces cycles (Figure 3).

L'homéostasie ultrarapide (switch)

Enfin, nous retrouvons chez le rongeur, les mêmes fréquences de transitions que chez l'homme, suggérant que des mécanismes de switch seraient conservés. En revanche la dynamique beaucoup plus rapide chez le rongeur, avec des switches rapides entre des phases de quelques secondes, suggère que les mécanismes responsables du maintien seraient différents chez l'animal.

Discussion

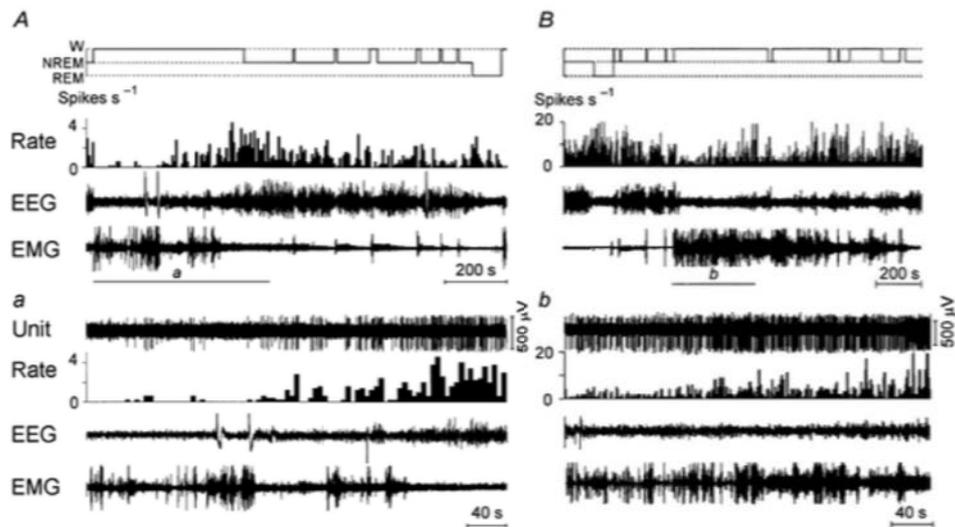


Figure 4. The discharge pattern of NREM/REM sleep-related neurons exhibiting gradual increase in their firing rate prior to sleep onset

A and B, recordings showing the discharge of NREM/REM sleep-related neurons across the sleep-waking cycle. *a* and *b*, expanded tracing from the section shown by bars in A and B showing changes of neurons' activity during W and on transition to NREM sleep. Note that during W, the neuron shown in panel A was silent during periods with locomotor activity (phasic bursts in EMG channel), then exhibited an increase of firing rate during periods with decreased muscle tone, and had a maximal firing rate during the 15 s period prior to NREM sleep onset. However, in general, the changes of cell activity across the sleep-waking cycle were not correlated with alterations in muscle tone level. The neuron shown in B exhibited a gradual increase in firing rate during a sustained period of W with no correlation with changes in muscle tone. Note that in panel A the histogram of discharge rate shows the mean firing rate within 5 s bins.

Figure 4 : Pattern de décharge de neurones en lien avec le REM ou le NREM (Suntsova *et al.*, 2002)

Evolution de l'activité d'un neurone s'activant à la transition éveil-sommeil (haut) et durant le REM (bas).

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

Ainsi les règles de transition sont conservées mais le drive qui maintient certaines phases comme N3 par exemple, *s'essoufflerait* beaucoup plus vite et l'animal repasserait en N2 plus rapidement. De ce point de vue, nous pouvons imaginer la présence d'un facteur lié à la fatigue neuronale qui s'accumule plus vite chez l'animal, mais disparaît également plus vite, sans doute en lien avec la taille du réseau neuronal. Une seconde explication est que nous sommes assez strict sur la manière de définir les sous-états, et que notre classification a une résolution 3s, contrairement au scoring qui est de l'ordre de 20s chez l'homme. Nous voulions en effet pouvoir retranscrire la dynamique à une échelle de temps courte afin de ne pas moyenniser différents phénomènes impliqués dans le sommeil. Il est en effet une réalité que le rongeur n'a pas de phases consolidées comme chez l'homme, et cela pourrait être une des raisons pour lesquelles aucun consensus ne se soit imposé pour la classification de sous-stades de NREM chez le rongeur. L'origine de ces changements rapides pourrait se trouver dans la décharge phasique de certains neurones cholinergiques ou noradrénergiques du tronc cérébral ou du télencéphale basal, qui favoriserait la transition d'un stade à l'autre, ou le maintien transitoire d'une phase. Ces neurotransmetteurs ont une activité globalement diminuée lors du sommeil mais leur activité locale reste variable (Figure 4). Nous pourrions alors supposer que le rongeur ayant un nombre plus restreints de neurones, une petite variation du taux de décharge d'un neurone a plus de poids que chez l'homme et pourrait initier une transition. Les facteurs qui régulent l'activité de ces neurones restent alors à déterminer.

Quoiqu'il en soit, les transitions de type dégressive éveil-N1-N2-N3 ou progressive N3-N2-N1-éveil ou N3-N2-REM-éveil sont présentes de manière comparable chez l'homme et chez l'animal. Ainsi il apparaît que la progression de la profondeur du sommeil soit la même chez le rongeur, ce qui est attendu. Notamment l'hyperpolarisation progressive des cellules thalamiques permettrait le passage progressif vers le sommeil profond : dépolarisé durant l'éveil ou le N1, ils s'hyperpolarisent durant le N2 et peuvent générer des spindles, puis continuent de s'hyperpolariser jusqu'à former des ondes lentes. La sortie de la profondeur du sommeil pourrait s'expliquer à la fois par le relâchement d'une pression de sommeil et par un changement progressif de concentration en neuromodulateurs.

Ainsi il apparaît que les propriétés des phases de sommeil NREM sont très conservées de l'homme à l'animal, indiquant une conservation des mécanismes impliqués dans cette régulation à différentes échelles.

Différencier le sommeil pour étudier la consolidation mnésique

Notre approche nous a permis de tester différentes questions en lien avec les oscillations impliquées dans la consolidation mnésique et avec l'activité neuronale corticale.

Nous avons montré que certains neurones du cortex étaient particulièrement recrutés dans un sous-stade de sommeil. Sont-ils toujours recrutés de la sorte ? l'apprentissage modifierait-il ce recrutement et comment ces neurones seraient-ils alors taggés durant l'éveil pour pouvoir être recrutés durant le sommeil ? ont-ils un lien avec la régulation de la durée de ces sous-stades eux-mêmes ?

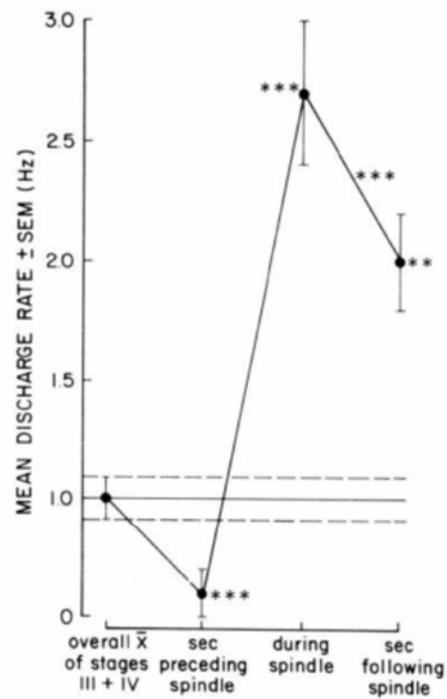


Figure 5 : Activité des des neurones du Locus Cœruleus en lien avec les spindles (Aston-Jones & Bloom, 1981)

Taux de décharge moyen des neurones du LC durant le sommeil à ondes lentes, juste avant la spindles, pendant la spindles et après la spindles.

IV- Microstructure du sommeil : sous-stades de NREM

Nous avons également pu retrouver l'idée que la communication hippocampo-corticale fonctionne par phase : toujours diminuée au moment des spindles en accord avec la littérature (Peyrache *et al.*, 2011), la réponse du cortex aux ripples de l'hippocampe est maximale en N2-N3 et très diminuée en N1. Le stade N1 ne serait donc pas permissif à la communication hippocampo-corticale, suggérant que ce stade ne permettrait pas le transfert de trace mnésique vers le cortex et s'opposerait donc au processus de consolidation systémique de la mémoire. Ces deux phénomènes, le N1 et la communication hippocampo-corticale, pourrait alors être tous deux en lien avec l'activité des neurones des centres de régulation du sommeil (Figure 5).

Il convient alors de repenser l'étude du rôle du sommeil dans la consolidation mnésique à travers la régulation de différents stades de sommeil : l'apprentissage modifierait-il les drives responsables du maintien des stades de sommeil, favorisant l'un ou l'autre ? et l'augmentation de la fréquence et de la coordination des rythmes avec l'apprentissage seraient-elles une conséquence de la régulation des phases de sommeil ?

Aussi, nous avons décrit un nouveau modulateur de l'activité corticale durant le sommeil : le bulbe olfactif. L'arrivée des ondes delta et des états down à des phases précises de l'oscillation de respiration et de la respiration elle-même, suggère que le drive provenant du bulbe olfactif peut entraîner les oscillations corticales particulièrement durant les stades légers de sommeil. Notamment il est connu qu'un input sensoriel puisse entraîner une onde delta : les K complexe chez l'homme peuvent être générés en réponse à un son par exemple. L'input de la respiration pourrait être un facteur responsable de l'induction d'une partie des ondes delta du sommeil. La question est de savoir si cette modulation a un rôle particulier. Notamment, le fait que le bulbe olfactif modifie son activité au cours du temps sommeil, et au cours du cycle de sommeil, pourrait-il influencer l'homéostasie des ondes lentes du cortex ? Il convient alors d'étudier plus en avant ce mécanisme en utilisant l'optogénétique pour inhiber le bulbe au moment du sommeil, ou l'activer en fin de cycle et voir les conséquences sur l'état cortical et le stade de sommeil. Notamment cela pourra permettre de vérifier que l'influence du bulbe est bien causale sur les oscillations corticales et non pas que ces deux phénomènes soient tous deux corrélés à la respiration par des mécanismes plus globaux.

La réalité du phénomène de modulation de l'activité corticale par la respiration durant le sommeil peut-elle être transférée à l'homme ? La respiration est responsable de l'activation rythmique du bulbe olfactif mais également du cortex somatosensoriel correspondant à la cage thoracique qui bouge au rythme de la respiration. La respiration pourrait également être un drive de l'activité corticale du sommeil, en passant également par d'autres voies que le système olfactif.

Enfin, la controverse entre les théories des réactivations neuronales lors du sommeil et la théorie de l'homéostasie synaptique, pourrait-elle être affinée par la prise en considération de différents stades de sommeil comme cela a été suggéré (Genzel *et al.*, 2014)..

Conclusion

Conclusion générale

Durant ma thèse, j'ai étudié les mécanismes impliqués dans la consolidation de la mémoire durant le sommeil de deux façons originales. La première consista à amener la preuve de concept qu'il est possible d'utiliser les réactivations des cellules de lieu pour créer un nouvel apprentissage spatial durant le sommeil, validant les prédictions quant à l'implication des cellules de lieu dans la navigation spatiale et l'importance de leurs réactivations durant le sommeil. Les cellules de lieu détiennent bien la même information spatiale durant la navigation et durant le sommeil et ont un rôle causal dans la navigation spatiale.

D'autre part, j'ai pu décrire différents sous-stades de sommeil chez l'animal, qui donnent un nouvel éclairage sur la dynamique des processus en action durant le sommeil. En effet, la transposition à l'homme des résultats obtenus chez le rongeur se heurte au fait qu'il n'existe pas de sous-stades de NREM clairement définis chez le rongeur, alors même que les oscillations en lien avec la mémoire et les réactivations associées apparaissent précisément pendant ce type de sommeil. Nous avons donc développé une nouvelle méthode pour différencier des sous-stades de non-REM chez la souris, permettant la description fine des interactions entre les oscillations cérébrales du sommeil impliquées dans la consolidation mnésique.

La conservation des caractéristiques de ces sous-stades entre la souris et l'homme, permet de mettre en évidence des caractéristiques conservées de processus de régulation du sommeil, et favoriserait peut-être à l'avenir les recherches translationnelles.

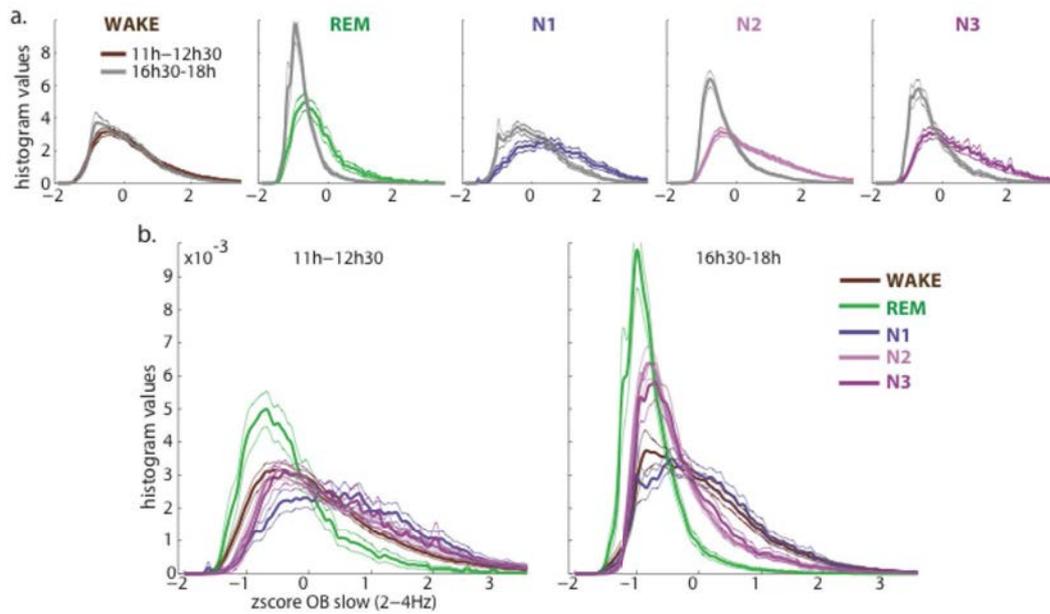
Annexe

Figure A1: **décroissance des oscillations du BO au cours du temps de sommeil.**

a- comparaison de la distribution des valeurs de puissance du BO dans la bande 2-4Hz entre le début (11h-12h30) et la fin (16h30-18h) du temps de sommeil, pour tous les états de vigilance. b- superposition des différents états pour les deux périodes. Moyenne (trait épais) et SEM, n=14.



Figure A2: Polysomnographie des 20 sujets inclus dans notre analyse
Voir Matériel et Méthode pour l'origine des données.

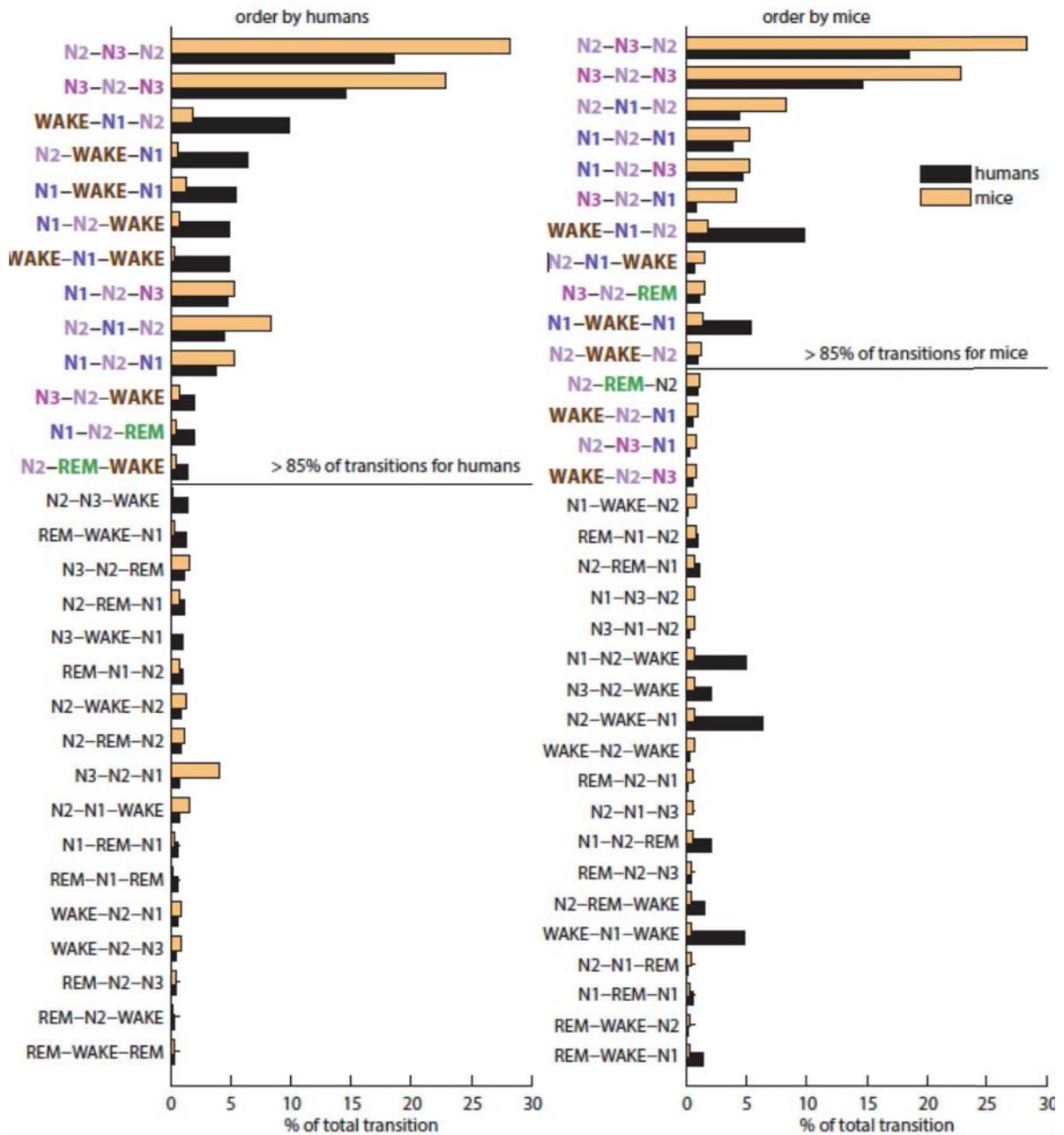
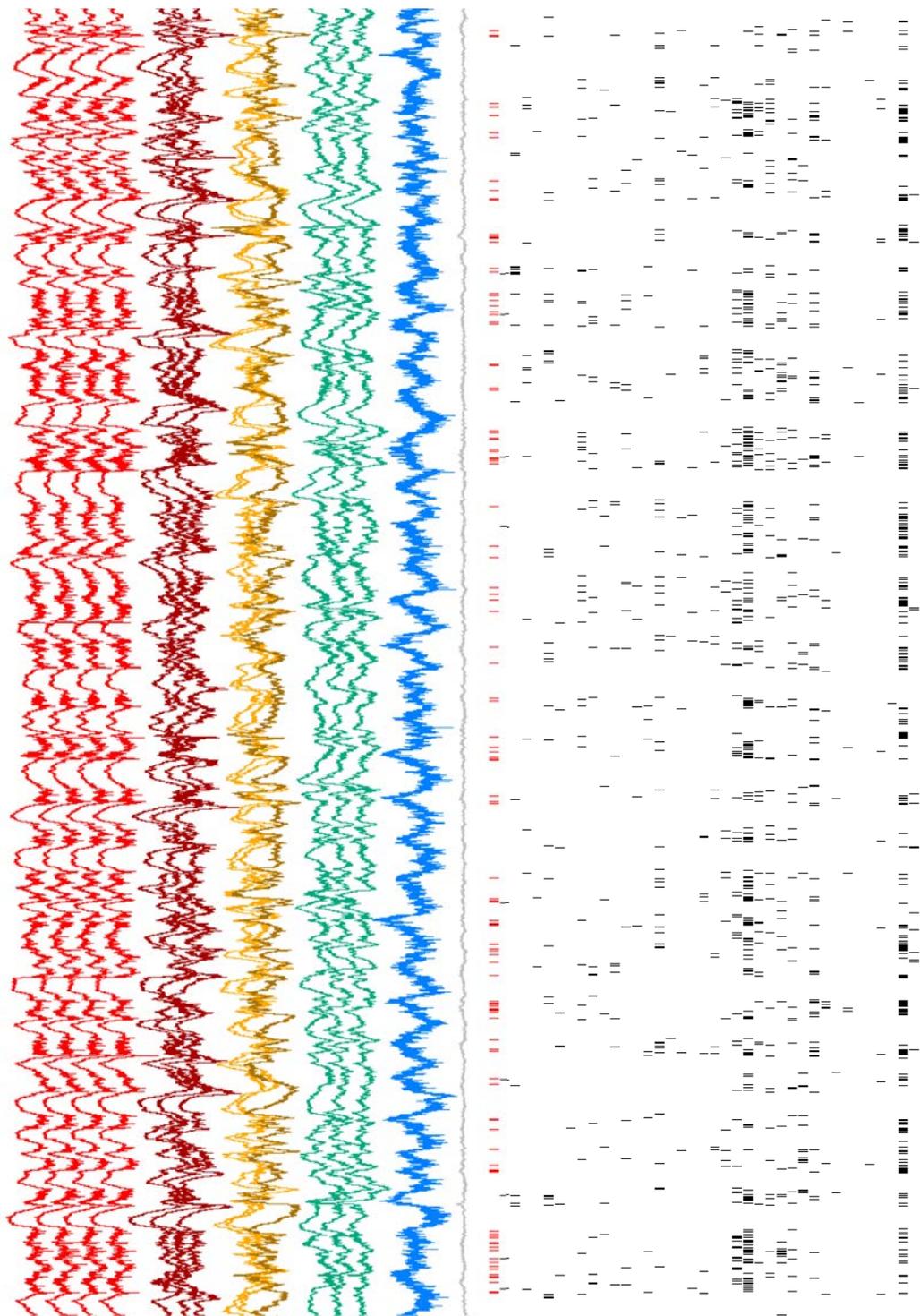


Figure A3: Transition comparée homme – souris pour les 80 trio de transitions possibles.



4 voies d'une tétrade dans le Cortex préfrontal
3 voies LFP dans le Cortex préfrontal
2 voies LFP dans le cortex pariétal (couche supérieure et profonde)
3 voies dans l'hippocampe
1 voie dans le Bulbe olfactif
 raster de neurones du cortex préfrontal (n=38)

Figure A4: Exemple d'un enregistrement en N3

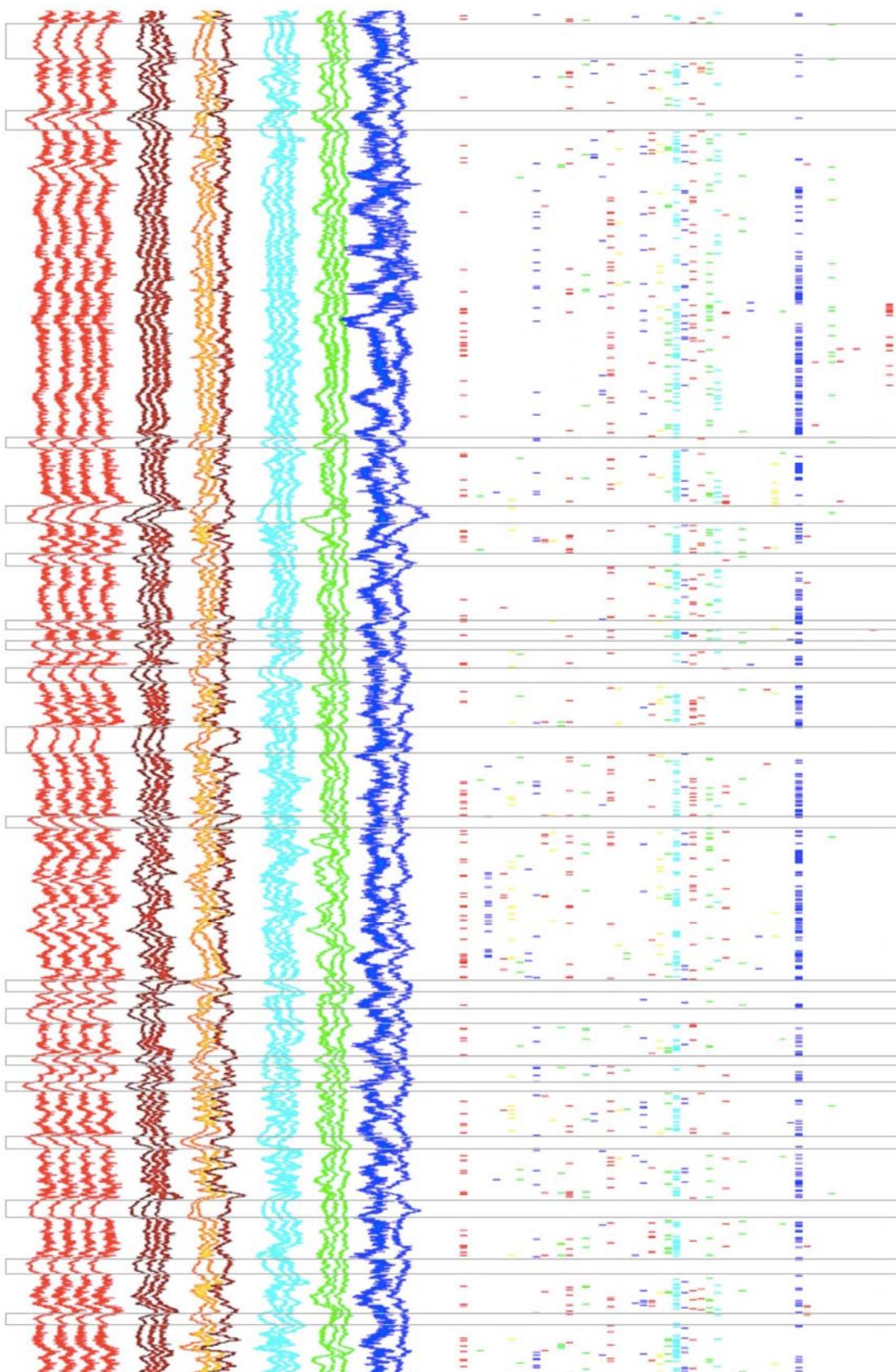


Figure A5: Exemple d'un enregistrement durant le NREM
Même légende que Figure A4. Les états down sont mis en valeur par des encadrés gris.

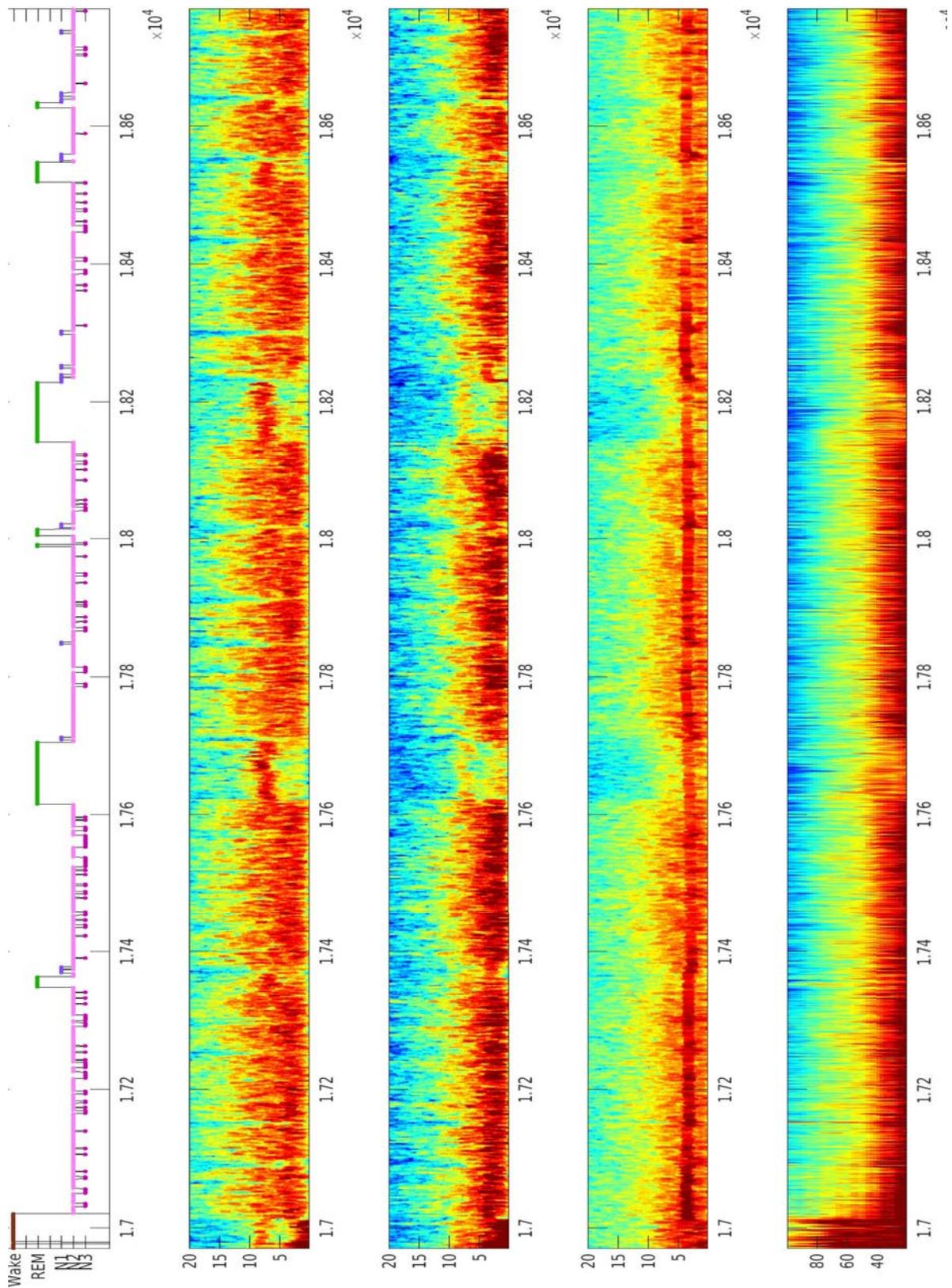


Figure A6: Exemple d'un polysomnographique

Dans l'ordre : hypnogramme, spectre 0.1-20Hz dans l'hippocampe, dans le cortex préfrontal, dans le bulbe olfactif, et spectre 20-100Hz dans le bulbe.

Article publié : l'organisation interne des cellules de direction de la tête

Lors de mon stage de master dans le laboratoire du professeur György Buzsáki, encadré par Adrien Peyrache, nous avons pu montrer que les cellules de direction de la tête maintenaient une organisation interne durant le sommeil, révélant un mécanisme par attracteur, modulé par les inputs externes lors de la navigation (Peyrache *et al.*, 2015).

ARTICLES

nature
neuroscience

Internally organized mechanisms of the head direction sense

Adrien Peyrache, Marie M Lacroix, Peter C Petersen & György Buzsáki

The head-direction (HD) system functions as a compass, with member neurons robustly increasing their firing rates when the animal's head points in a specific direction. HD neurons may be driven by peripheral sensors or, as computational models postulate, internally generated (attractor) mechanisms. We addressed the contributions of stimulus-driven and internally generated activity by recording ensembles of HD neurons in the antero-dorsal thalamic nucleus and the post-subiculum of mice by comparing their activity in various brain states. The temporal correlation structure of HD neurons was preserved during sleep, characterized by a 60°-wide correlated neuronal firing (activity packet), both within and across these two brain structures. During rapid eye movement sleep, the spontaneous drift of the activity packet was similar to that observed during waking and accelerated tenfold during slow-wave sleep. These findings demonstrate that peripheral inputs impinge on an internally organized network, which provides amplification and enhanced precision of the HD signal.

The relationship between stimulus-driven and internally generated activity is a recurring topic in neuroscience. Yet, the manner in which feed-forward sensory signals in subcortical, thalamic and cortical networks interact with internally organized (self-generated or 'spontaneous') activity is not well-understood, largely as a result of the high dimensionality of sensory signal attributes^{1–4}. In contrast, the one-dimensional HD sense offers an opportunity to explore such interactions experimentally. HD neurons fire robustly when the animal's head points in a specific direction^{5–8}. The HD system encompasses multiple, serially connected brain networks, including the brainstem, mammillary bodies, anterodorsal thalamic nucleus (ADn), post-subiculum (PoS) and entorhinal cortex^{6–13}. Neurons in the PoS provide feedback projections to neurons in the ADn and mammillary bodies⁷.

Similar to other sensory systems that pass through the thalamus, the HD sense has been tacitly assumed to be largely controlled by peripheral inputs, mainly the vestibular and ancillary afferents^{7,8}, as firing rates of HD cells are affected by both HD and the angular velocity of head rotation in the exploring rodent^{9,14}. Visual inputs can also influence the HD signal^{6,9,10} via reciprocal connections of the PoS with visual areas^{7,8}, but visual inputs are not sufficient to drive HD cells in the PoS after lesioning the ADn¹⁴. The HD network is a key part of the brain's navigational system and HD information is believed to be critical for the emergence of grid cells in the entorhinal cortex^{12,13,15–17}.

Computational models have assumed that HD cells with similar preferred directions fire together and that the temporally correlated group of HD neurons (activity packet) moves on a virtual ring as the animal turns its head (Supplementary Movie 1). Although members of the activity packet rotate on the ring, neighboring neurons are suppressed by lateral inhibition^{18–23}. Experimental demonstration of the existence of internally organized neuronal populations endowed

with such properties, often referred to as attractor networks^{22,24–26}, requires monitoring populations of HD neurons simultaneously and demonstrating that the activity packet remains temporally organized even in the absence of vestibular and other peripheral signals. We therefore reasoned that the postulated attractor dynamic can be revealed by comparing the population activity of HD cells during sleep and in the waking brain^{27,28}.

RESULTS

Ensembles of HD neurons from ADn (8.4 ± 5.1 s.d. units per session) and PoS (5 ± 2.8 s.d.) were recorded by multi-site silicon probes (Fig. 1a and Supplementary Fig. 1) in seven mice foraging for food in an open environment (42 sessions) and in their home cages during sleep (Supplementary Table 1). In three mice (21 sessions), ADn and PoS recordings were performed simultaneously. HD cell ensembles covered the full span of HDs (Fig. 1b–d). ADn and HD cells were characterized by a uniform bell-shaped tuning curve (Fig. 1b and Supplementary Fig. 2a). ADn neurons exhibited peak rates almost threefold higher than those of PoS cells ($P < 10^{-10}$, Mann-Whitney *U* test, $n = 242$ ADn and $n = 111$ PoS HD cells; Supplementary Fig. 2b) and conveyed 30% more HD information than PoS cells (1.44 versus 1.11 bits per spike, $P < 10^{-6}$, Mann-Whitney *U* test; Online Methods and Supplementary Fig. 2c), firing more consistently with the HD.

Under the hypothesis of an internally organized HD system, one expects that the temporal relationship of HD cells should persist in different brain states. To this end, we monitored neuronal ensembles during sleep sessions ($5 \text{ h} \pm 1 \text{ s.d.}$), before and/or after active exploration in the open field. Sleep stages were classified as slow-wave sleep (SWS) or rapid eye movement (REM) sleep based on the animal's movement and time-resolved spectra of the local field potential recorded from the hippocampus or PoS (Fig. 1c and Online Methods). During sleep, individual neurons formed robustly similar sequential

© 2015 Nature America, Inc. All rights reserved.



The Neuroscience Institute, School of Medicine and Center for Neural Science, New York University, New York, New York, USA. Correspondence should be addressed to G. B. (gyorgy.buzsaki@nyumc.org).

Received 20 October 2014; accepted 1 February 2015; published online 2 March 2015; corrected online 10 March 2015 (details online); doi:10.1038/nn.3968

ARTICLES

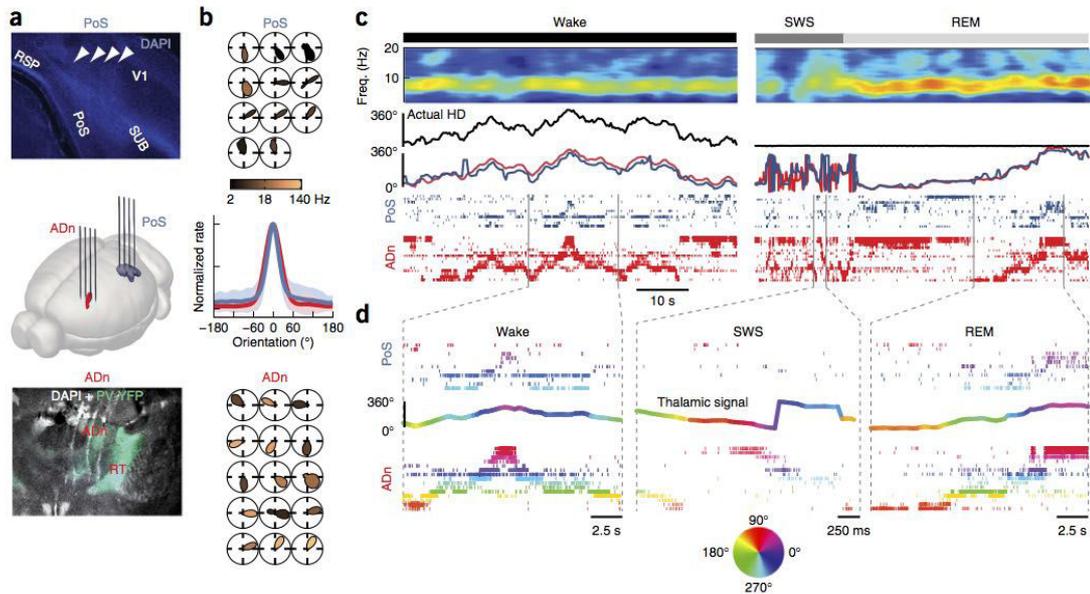


Figure 1 Persistence of information content during wake and sleep in the thalamo-cortical HD circuit. **(a)** Dual site recording of cell ensembles in the ADn and the PoS. Shown is 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) staining of a coronal section through the PoS (top, arrowheads indicate tracks) and ADn (bottom, DAPI combined with parvalbumin yellow fluorescent protein, PV-YFP). RT, reticular nucleus; SUB, subiculum; RSP, retrosplenial cortex; V1, primary visual cortex. Recording shank tracks are 200 μm from each other. **(b)** Tuning curves of simultaneously recorded HD cells in the ADn and the PoS. Polar plots indicate average firing rates as a function of the animals' HD. Colors encode peak firing rate. Middle, average normalized tuning curves (\pm s.d.) in Cartesian coordinates. **(c)** Activity of HD cell ensembles during wake, SWS and REM sleep. Top, PoS LFP spectrograms; middle, actual (black line) and reconstructed HD signal using Bayesian decoding of ADn (red) or PoS (blue) cells; bottom, raster plots of PoS (blue) and ADn (red) cell spike times. Cells were ordered according to their preferred HD during waking. **(d)** Magnified samples from **c**. Raster plots of neurons are colored according to their preferred HD during waking. Curves show the reconstructed HD signal from ADn HD cells. Circular y values are shifted for the sake of visibility, but color indicates true decoded HD information.

patterns as in the waking state. Using a Bayesian-based decoding of the HD signal from the population of HD cells (Online Methods) and the animal's actual head orientation (Fig. 1c), we could infer a 'virtual gaze'—that is, which direction the mouse was 'looking'—during sleep (Fig. 1c,d, Supplementary Fig. 3 and Supplementary Movie 1). Quantitative brain state comparisons of firing patterns revealed three important features of the ongoing network dynamics. First, the firing rates of HD neurons remained strongly correlated across brain states (Fig. 2a). Second, the pairwise correlations between HD neuron pairs both within and across structures were robustly similar across states (Fig. 2b), indicating the preservation of a coherent representation. Third, the rate of change of the virtual gaze differed between brain states. The angular velocity of the internal HD signal, either estimated by a Bayesian decoder or from the temporal profile of pairwise cross-correlograms (Fig. 2c–e, Online Methods and Supplementary Fig. 4), was approximately tenfold faster during SWS than during waking (Fig. 2e,f), similar to the temporal 'compression' of unit correlations observed in the hippocampus^{29–31} and neocortex^{32,33}. Angular velocity of the internal HD signal was similar during waking and REM sleep (Fig. 2e,f).

Models of attractor networks suggest that only a subset of cells fire at any given time, referred to as the activity packet, and the subset shifts at a predictable velocity^{8,12,18,19,23,25,26}. The distribution of the magnitude of temporal correlations between discharge activities of HD cell pairs at time zero revealed a bell-shaped packet. Pairs of neurons with $<60^\circ$ offset showed positive correlations, pairs with $>60^\circ$

offset showed negative correlations and pairs with approximately 60° offset were uncorrelated (Fig. 3a). The relationship between the 0-lag correlation and the preferred angular direction was preserved across brain states for cell pairs recorded in a structure (ADn-ADn and PoS-PoS) and between structures (ADn-PoS) ($P < 10^{-6}$ for all brain states and conditions, Pearson's test, $n = 907$ ADn-ADn pairs, $n = 92$ PoS-PoS pairs; Fig. 3a). HD signal was more strongly preserved in the ADn than in the PoS, as shown by the stronger pairwise correlations in any brain state ($P < 10^{-5}$, Mann-Whitney U test for all pairs closer than 60° in all brain states, $n = 345$ ADn-ADn pairs, $n = 55$ PoS-PoS pairs), and this difference was independent of firing rate differences between the two structures (Supplementary Fig. 5). The actual activity packets, both in the ADn and the PoS, and across brain states, were highly similar to the predictions given by the signal decoded from a Bayesian estimator (Fig. 3b) in waking, REM sleep and SWS, thereby demonstrating the self-consistency of HD representations³⁴. Thus, at any time, the activity packet corresponded to a bounded probabilistic representation of the HD (Supplementary Movie 1).

In the waking animal, HD cell dynamics can be explained by inputs arriving from the peripheral sensors^{7,8}. Under this hypothesis, HD neurons in ADn and PoS inherit their directional information from upstream neurons and respond independently of each other. However, correlations expected from independent rate-coded neurons could not fully account for the observed pairwise correlations of HD cells (Fig. 4a). 'Noise' correlations³⁵ were observed for neuron pairs with

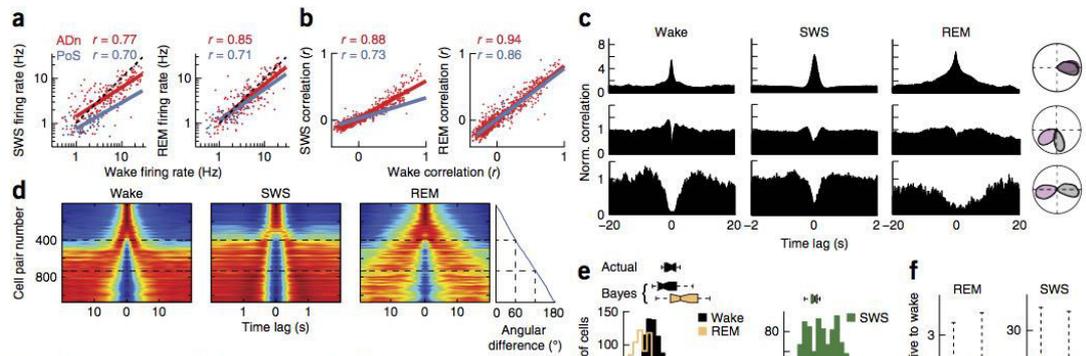


Figure 2 Brain state-dependent dynamics of the HD signal.

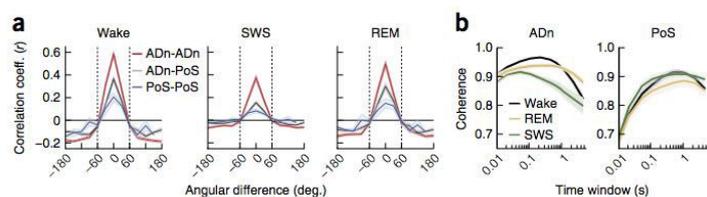
(a) Firing rates during SWS (left) and REM sleep (right) plotted against waking firing rates for ADn cells (red, $n = 215$) and PoS cells (blue, $n = 62$). Insets, Pearson correlation r values. (b) Data are presented as in a for pairwise correlations (ADn pairs, $n = 970$; PoS pairs, $n = 92$). (c) Examples of cross-correlations for three HD cell pairs during waking, SWS and REM sleep.

Normalized histograms with 1 representing chance. Polar plots display HD fields of the pairs. (d) Data are presented as in c for all ADn HD cell pairs, sorted by the magnitude of difference between waking preferred directions (far right). Each cross-correlogram was normalized between their minimum (dark blue) and maximum (dark red) values. Cell identity order is the same in each panel. (e) Left, histogram of average angular velocity estimated from individual cross-correlograms during wake (black) and REM (yellow). Higher angular speed results in more compressed cross-correlograms. Their temporal profiles were therefore used to quantify the average drifting speed (Online Methods). Top, distribution of actual or Bayesian estimates of HD angular speed during wake (black) and Bayesian estimates during REM (yellow). Right, data are presented as at left for SWS. Top, box plot indicates the distribution of Bayesian estimates of HD angular speed. (f) Distribution of ratios between sleep and wake-estimated angular velocities for ADn-ADn and PoS-PoS HD cell pairs. In e and f, box edges show the 25th and the 75th percentiles of the distributions, and whiskers cover 99.3% of the data when normally distributed.

overlapping fields ($0 \pm 15^\circ$), with a marked negative signal correlation at $60 \pm 15^\circ$ offset (Fig. 4b,c), and the expected correlations became similar to the observed ones only for pairs with larger angular differences. These signal correlations were stronger for ADn than PoS neurons ($P < 10^{-9}$, Kruskal-Wallis one-way analysis of variance; ADn-ADn pairs: $n = 96$ and 200, for 0° and 60° signal correlation values respectively; ADn-PoS pairs: $n = 77$ and 157; PoS-PoS pairs: $n = 29$ and 57). Notably, noise correlations could further improve the decoding of the HD signal. Optimal linear estimates (OLEs, Online Methods) of the HD were enhanced when using spike train covariances (that is, including noise correlation) instead of the tuning curve covariances (that is, signal correlation only). Estimate of HD solely on the basis of the actual covariance of the spike trains almost reached the performance of a nonlinear Bayesian decoder (Fig. 4d,e). In the ADn, where noise correlations were highest for overlapping HD cells, the covariance-based OLE was approximately 50% better than the signal-based OLE (Fig. 4d,e), and was significantly stronger than in the PoS ($P < 0.05$, Mann-Whitney's U test, $n = 20$ ADn and 8 PoS cell ensembles, respectively; Fig. 4e).

To gain insight into the direction of the interactions between the ADn and PoS components of this thalamo-cortical loop, we examined whether HD cells preserved their tuning curves during sleep on the basis of the internal HD signal of the reciprocal area. To this end, we used the decoded HD signals during sleep from either the ADn or PoS assemblies to compute the HD tuning curves in their target PoS or ADn neurons, respectively. Consistent with the preservation of the activity packet across brain states (Fig. 3a,b), tuning curves during sleep were markedly similar to those during waking (Fig. 5a,b and Supplementary Movie 1). However, the HD signal extracted from ADn assemblies resulted in tuning curves more similar to actual HD fields than the HD signal decoded from PoS assemblies, in all brain states (Mann-Whitney U test; wake, $P < 10^{-10}$; SWS, $P = 0.018$; REM, $P = 3 \times 10^{-6}$; $n = 86$ and 62 PoS and ADn HD cells, respectively; Fig. 5b). Finally, to quantify how well ADn or PoS assemblies could predict the firing probability and timing of target cells in the PoS or ADn, respectively, we estimated the predictability of spike trains based on a generalized linear model of cell ensemble activity³⁶ (Online Methods) at different timescales (Fig. 5c-e). ADn assemblies predicted PoS

Figure 3 Width and coherence of the correlated population activity packet. (a) Pearson's correlation coefficients of binned spike trains as a function of HD preferred direction offset for ADn-ADn (red), ADn-PoS (gray) and PoS-PoS (blue) cell pairs (300-ms bins during wake and REM, 50-ms bins during SWS). Note 0 correlation at $\pm 60^\circ$ (dashed lines). (b) Ensemble coherence of the activity packet (Online Methods) in the ADn (left) and the PoS (right) as a function of the smoothing time window. Activity packets were computed as the sum of tuning curves weighted by instantaneous firing rates and were compared to the expected activity packets at the HD reconstructed with a Bayesian decoder. The coherence was defined as the probability that the two packets were similar (as compared to a bootstrap distribution). Shaded regions represent \pm s.e.m.



ARTICLES

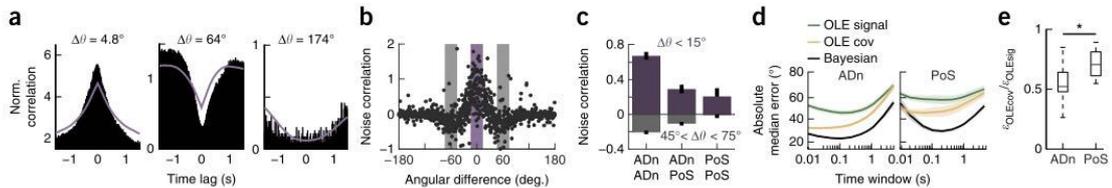


Figure 4 Noise correlation of HD cells improves linear decoding. (a) Further analysis of the waking cross-correlograms shown in **Figure 2c**. Superimposed purple curves display expected cross-correlation for independent rate-coding cells. (b) Difference between actual and expected pairwise cross-correlations (noise correlation³⁵) at 0 time lag as a function of difference between preferred HDs. Note excess at 0° (purple area) and dip at 60° (gray areas). (c) Signal correlation (\pm s.e.m.) for ADn-ADn pairs, ADn-PoS pairs and PoS-PoS pairs for angular difference at $0 \pm 15^\circ$ (purple) and at $60 \pm 15^\circ$ (gray). (d) Cross-validated median absolute error (\pm s.e.m.) of HD reconstruction from signal correlations in the ADn (left) and the PoS (right) using three different decoders. OLE is based on tuning curve signal correlations (signal, green) or actual pairwise correlations (covariance, cov, yellow) and compared with a nonlinear Bayesian decoder (black) as a function of smoothing time window. (e) Ratio of OLE absolute median error based on covariance (ϵ_{OLEcov}) or on tuning curves correlations (ϵ_{OLEsig}) taken at their minimal values (across temporal windows) in the ADn and the PoS (* $P = 0.009$). Data in box plots are displayed as in **Figure 2f**.

spike trains reliably in all brain states ($P < 10^{-10}$ in all brain states, Wilcoxon's signed rank test, $n = 86$; **Fig. 5d,e**). Optimal readout windows were similar between waking and REM (median = 123 ms and 133 ms, respectively) and shorter during SWS (median = 79 ms). In the reverse direction, PoS cell assemblies predicted spike trains of ADn neurons more weakly, especially during SWS (wake, $P = 3 \times 10^{-5}$; SWS, $P < 10^{-10}$; REM, $P = 1.1 \times 10^{-6}$; Mann-Whitney U test; $n = 86$ and 62 PoS and ADn neurons, respectively; **Fig. 5d,e**).

Finally, we examined the fine timescale dynamics of HD neurons within and across structures. Spectral analysis of cross-correlation functions between pairs of HD cells in the ADn revealed strong oscillatory spiking dynamics activity in windows of approximately 1–5 ms (**Fig. 6a**). The degree of synchrony decreased with the magnitude of difference between the preferred HDs of the neurons ($P < 10^{-10}$, Kruskal-Wallis test, $n = 970$ ADn HD cell pairs; **Fig. 6b**) in all brain states (**Fig. 6c** and **Supplementary Fig. 6a**). The high degree of synchrony displayed by ADn neurons can contribute to the effective discharge of their target neurons in PoS. In support of this hypothesis, cross-correlation analyses between pairs of ADn-PoS neurons revealed putative synaptic connections in a fraction of the pairs (4.45% of 6,960 pairs from ADn to PoS, 0.35% from PoS to ADn; Online Methods, **Fig. 7a,b** and **Supplementary Fig. 6b**), which included both putative PoS pyramidal cells and interneurons (**Fig. 7a** and **Supplementary Fig. 7**). When only ADn and PoS pyramidal cell pairs were considered (3,394 pairs), we found putative synaptic connections in both directions

(**Supplementary Fig. 6b**), but the probability of feed-forward connections from the ADn to the PoS was twice as high as the PoS to ADn feedback direction (0.41% ADn-PoS pairs versus 0.18% PoS-ADn pairs, $P = 0.014$, binomial test). ADn cell spiking was associated with high-frequency local field potential (LFP) oscillations in the PoS (**Fig. 7c**), indicating that the fast synchronous oscillation of ADn assemblies was also transmitted to PoS. Furthermore, PoS HD cells that were postsynaptic to ADn HD cells shared the same preferred direction as their presynaptic neuron ($P = 0.68$, Rayleigh test followed by Wilcoxon's signed rank test, $n = 12$; **Fig. 7d**), suggesting direct forwarding of a 'copy' of the thalamic HD signal. Pyramidal neurons in PoS that were synaptically driven by ADn HD cells conveyed more HD information than PoS neurons for which a presynaptic cell could not be identified ($P = 0.011$, Mann-Whitney U test; **Fig. 7e**). No such difference in HD information was observed between ADn neurons and putative interneurons in PoS ($P = 0.38$; **Fig. 7e**). These findings demonstrate that ADn and PoS cell assemblies are strongly synchronous and establish effective reciprocal communication.

Figure 5 Transmission of HD information from the thalamus to the cortex. (a) Left, tuning curve of an example PoS HD cell. Right, tuning curves of the same PoS HD cell obtained from the Bayesian decoded HD signal from the ADn cell assembly during waking (black), REM sleep (yellow) and SWS (green). (b) Cumulative histogram of the correlation values between measured tuning curves and ADn decoded HD signal across brain states. (c,d) Cross-validated prediction of cell spiking from population activity, independent of HD tuning curves across brain states. (c) Examples of predicted firing rate of one PoS cell from ADn population activity learned during SWS (left) and REM (right) show high fidelity to actual spike train. Weights indicate the relative contribution of each ADn cell to the prediction. (d) Left, average PoS spike trains ($n = 86$) prediction (\pm s.e.m.) by cell assembly activity in the ADn for different readout time windows during waking, REM sleep and SWS. Right, ADn spike trains ($n = 62$) predicted by PoS HD cell assembly. (e) Maximal prediction average (at optimal readout windows) of PoS cells relative to ADn HD cell assemblies during waking, SWS and REM sleep (red bars) and information content of ADn HD cells extracted from PoS HD cell assemblies (blue bars). Note that ADn-to-PoS predictions were higher than PoS to ADn predictions in all brain states ($P < 10^{-5}$). Error bars display s.e.m.

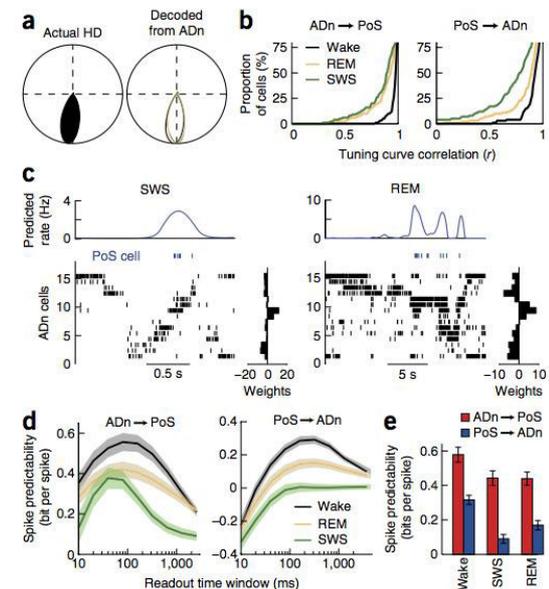
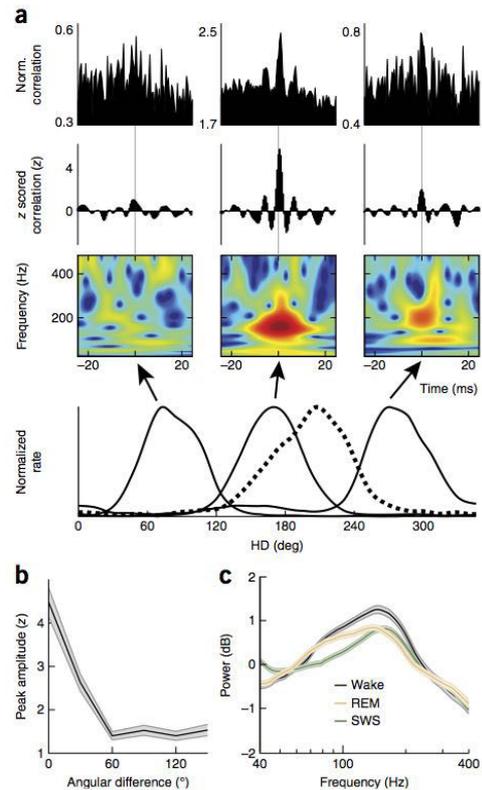


Figure 6 Fast synchronous oscillations in ADn HD cells. (a) Bottom, HD fields of the reference cell (dashed curve) and three other HD cells recorded on a different shank. Top, examples of spike cross-correlogram between the three ADn cell pairs and their normalized (equal to 1 when independent) and z scored cross-correlograms (number of s.d. from baseline obtained from 100 correlograms of spike trains jittered uniformly in ± 10 -ms windows). Middle, wavelet transforms of z-scored cross-correlograms, all normalized to the same scale from minimal power (dark blue) to maximal power (dark red). (b) Amplitude of pairwise synchrony (in z values from baseline \pm s.e.m.), as in a as a function of preferred direction difference ($P < 10^{-10}$). (c) Average power (\pm s.e.m.) of wavelet-transformed z-scored cross-correlograms across brain states.

DISCUSSION

We found that correlated activity of thalamic ADn and PoS HD neurons was preserved across different brain states. These empirical observations demonstrate similarities to HD models of one-dimensional attractors in which the activity packet moves on a ring^{8,18,19,22,25}. We hypothesize that, in the exploring animal, the exact tuning curves of HD neurons result from a combination of internal and external processes^{19,20,25,26,37} and can quickly rotate in response to environmental manipulations^{9,10} conveyed by vestibular and other peripheral inputs^{7,8}.

Our findings provide experimental support for the postulated ring-attractor hypothesis of HD system organization^{18–20,24,26}, although it remains to be clarified whether the HD attractor mechanism resides in the thalamus or is inherited from more upstream structures. We found that, during sleep, the drift of the attractor can be independent of sensory inputs³⁸ and the speed of the activity packet is determined by brain state dynamics. An expected advantage of the internally organized HD attractor is that, in the exploring animal, sensory inputs^{7,8} can be combined with the prediction of the internally generated HD sense^{25,26} and rapidly adapt to re-configured environments^{9,10}. In the case of ambiguous signals, the internally organized HD attractor mechanisms may substitute or improve the precision of HD information by interpolating across input signals and help resolve conflicts during navigation^{19,20,26}. Overall, our observations suggest that coordinated neuronal activity in the HD system is shaped



not only by the nature of incoming sensory HD signals, but is also strongly influenced by internal self-organized mechanisms. Notably, the HD system may have analogous counterparts in other thalamus-mediated sensory systems.

The internally organized HD system is 'embedded' in the internal global brain dynamics during sleep, including an ~ 10 -fold time

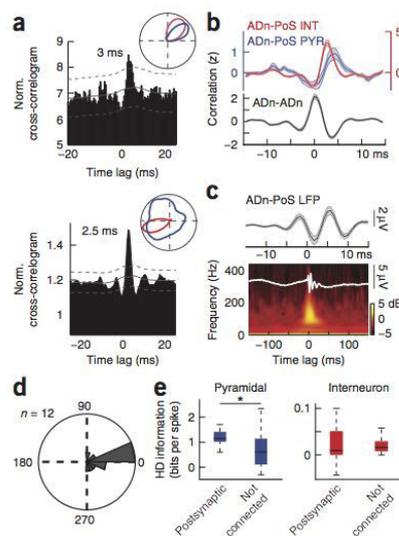


Figure 7 ADn-to-PoS transmission of the HD signal. (a) Top, example cross-correlogram (black) between spikes of an ADn neuron (time 0) and a putative pyramidal PoS HD cell shows a sharp peak at positive time lag, indicating a putative mono-synaptic connection. Solid gray line indicates expected firing rate after jittering the spikes by ± 10 ms. Dashed lines show the 99.9% interval of confidence. Inset, HD fields of the ADn (red) and PoS (blue) neurons. Bottom, data are presented as in top for an ADn neuron-PoS putative interneuron pair. (b) Top, average cross-correlogram (\pm s.e.m.) of ADn HD cells mono-synaptically connected to putative pyramidal cells (blue) and interneurons (red). Bottom, average cross-correlograms between ADn HD cells. (c) High-frequency neuronal oscillations in the PoS. Bottom, average wideband (0–1,250 Hz, \pm s.e.m.) LFP trace triggered by ADn HD cell spikes (white trace) and color-coded average spectrum (in dB) of the LFP (based on all spikes of ADn HD cells in each session). Top, zoomed trace of the band pass-filtered LFP (80–250 Hz). (d) Distribution of the difference between preferred HD of individual ADn HD cells and their putative postsynaptic target neuron in PoS ($P > 0.5$). (e) Left, distribution of HD information content of PoS pyramidal cells synaptically connected to recorded ADn HD cells (left) or not (right). * $P = 0.011$. Right, putative interneuron HD information content ($P = 0.38$). Data in box plots are displayed as in Figure 2f.

ARTICLES

acceleration during SWS^{29–33} compared with waking and REM sleep, reminiscent of the temporally compressed replay of waking hippocampal and neocortical activity^{29–33,39}. However, the magnitude of the persistent representation in the HD system is an order of magnitude higher than those previously reported in hippocampus and neocortex. A possible explanation for this robust effect is that the HD system processes a simple one-dimensional signal (that is, the head angle), whereas neurons in cortical systems likely represent intersections of multiple representations (for example, place, context, goals, speed and other idiothetic information). It should also be mentioned that, strictly speaking, replay refers to the increased correlations of neuronal coactivation after waking experience compared with the pre-experience control sleep^{31–33}. In contrast with the robust wake-sleep correlations of firing rates coactivation of neuron pairs and neuronal sequences during both SWS and REM sleep reported here, a previous report failed to find replay in the PoS²⁸. Potential explanations for such discrepancy include the rather large time window for Bayesian reconstruction (500 ms) in that previous study²⁸, which may have filtered out the replay effect and/or the limited number of neuronal pairs that were available for statistical comparisons.

Similar to previous findings in visual⁴⁰ and somatosensory⁴¹ systems, we observed highly reliable spike transmission between thalamic ADn and its cortical PoS target. Both putative interneurons and pyramidal cells of PoS were driven reliably at short latency by the ADn neurons, most of which were HD cells. The effectiveness of the ADn-PoS transmission was enhanced by a fast (130–160 Hz) oscillation synchrony of coherent HD cell assemblies in ADn in all brain states, which was also reflected in the ADn spike-triggered LFP in the PoS. Similar prominent oscillations have been described in the optic tectum of birds, which have been shown to reflect synchronous co-firing of neighboring neurons to flashing or visual motion stimulation⁴². Notably, firing patterns of PoS neurons could be reliably predicted from the population activity of ADn neurons. In the reversed direction, the prediction was poorer. Furthermore, HD prediction could be more reliably reconstructed from ADn than from PoS populations, especially during SWS²⁸. These findings are compatible with a feed-forward labeled line transmission of sensory information from the periphery to cortex⁴³. Unexpectedly, however, the magnitude and reliability of internal prediction was higher in ADn than in PoS, at least when the same total number of neurons was used for HD reconstruction. One possible explanation for such difference is that neurons of ADn are dedicated specifically to HD information, whereas PoS neurons respond to a variety of other inputs as well, making them appear to be 'noisier'. It is possible, however, that if a much larger fraction of PoS were to be recorded, PoS activity could be equally predictive.

Although the exact anatomical substrate of the hypothetical self-organized attractor remains to be identified, three findings are in favor of the involvement of the thalamocortical circuits. First, the noise correlations between ADn neuron pairs support locally organized mechanisms. Second, the speed of rotation of the HD neurons varied with the thalamocortical state, indicating direct cortical influence on the substrate of the attractor^{29–33}. Third, processing of the HD signal was embedded in fast oscillations that coordinated HD cell assemblies in and across ADn and PoS. Thus, the ADn-PoS-ADn excitatory loop may also contribute to the postulated attractor. Finally, although ADn neurons do not excite each other or other thalamic nuclei⁴⁴, they can communicate with each other via the inhibitory neurons of the reticular nucleus^{45,46}. Recent work has demonstrated that such recurrent inhibitory connectivity can also give rise to internally organized activity^{47,48}. We note that several models assume that HD information

is critical for the integrity of entorhinal grid cells^{12,49}, which tessellate the explored space with equilateral triangles⁵⁰. Notably, the structural requirements of a prominent grid model is identical to the recurrent inhibitory loops of the ADn-reticular nucleus circuit^{47,48}. How the internally organized HD system is related to the formation of grid cells remains to be determined.

METHODS

Methods and any associated references are available in the online version of the paper.

Accession codes. CRCNS.org: Data are available at <http://crcns.org/data-sets/thalamus/th-1> (doi:10.6080/KOG15XS1).

Note: Any Supplementary Information and Source Data files are available in the online version of the paper.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by US National Institute of Health grants NS34994, MH54671 and NS074015, the Human Frontier Science Program and the J.D. McDonnell Foundation. A.P. was supported by EMBO Fellowship ALTF 1345-2010, Human Frontier Science Program Fellowship LT000160/2011-1 and National Institute of Health Award K99 NS086915-01.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

A.P. and G.B. designed the experiments. A.P., M.M.L. and P.C.P. conducted the experiments. A.P. designed and performed the analyses. A.P. and G.B. wrote the paper with input from the other authors.

COMPETING FINANCIAL INTERESTS

The authors declare no competing financial interests.

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

- Varela, F., Lachaux, J.P., Rodriguez, E. & Martinerie, J. The brainweb: phase synchronization and large-scale integration. *Nat. Rev. Neurosci.* **2**, 229–239 (2001).
- Engel, A.K. & Singer, W. Temporal binding and the neural correlates of sensory awareness. *Trends Cogn. Sci.* **5**, 16–25 (2001).
- Buzsáki, G. *Rhythms of the Brain* (Oxford University Press, 2006).
- Rao, R.P. & Ballard, D.H. Predictive coding in the visual cortex: a functional interpretation of some extra-classical receptive-field effects. *Nat. Neurosci.* **2**, 79–87 (1999).
- Ranck, J.B. Head direction cells in the deep cell layer of dorsal presubiculum in freely moving rats. in *Electrical Activity of Archicortex* (eds. Buzsáki, G. & Vanderwolf, C.H.) 217–220 (Akademical Kiado, 1985).
- Taube, J.S., Muller, R.U. & Ranck, J.B. Jr. Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. II. Effects of environmental manipulations. *J. Neurosci.* **10**, 436–447 (1990).
- Taube, J.S. The head direction signal: origins and sensory-motor integration. *Annu. Rev. Neurosci.* **30**, 181–207 (2007).
- Sharp, P.E., Blair, H.T. & Cho, J. The anatomical and computational basis of the rat head-direction cell signal. *Trends Neurosci.* **24**, 289–294 (2001).
- Taube, J.S. Head direction cells recorded in the anterior thalamic nuclei of freely moving rats. *J. Neurosci.* **15**, 70–86 (1995).
- Zugaro, M.B., Arleo, A., Berthoz, A. & Wiener, S.I. Rapid spatial reorientation and head direction cells. *J. Neurosci.* **23**, 3478–3482 (2003).
- Knierim, J.J., Kudrimoti, H.S. & McNaughton, B.L. Place cells, head direction cells and the learning of landmark stability. *J. Neurosci.* **15**, 1648–1659 (1995).
- McNaughton, B.L., Battaglia, F.P., Jensen, O., Moser, E.I. & Moser, M.-B. Path integration and the neural basis of the 'cognitive map'. *Nat. Rev. Neurosci.* **7**, 663–678 (2006).
- Sargolini, F. *et al.* Conjunctive representation of position, direction, and velocity in entorhinal cortex. *Science* **312**, 758–762 (2006).
- Goodridge, J.P. & Taube, J.S. Interaction between the postsubiculum and anterior thalamus in the generation of head direction cell activity. *J. Neurosci.* **17**, 9315–9330 (1997).
- Brandon, M.P. *et al.* Reduction of theta rhythm dissociates grid cell spatial periodicity from directional tuning. *Science* **332**, 595–599 (2011).
- Langston, R.F. *et al.* Development of the spatial representation system in the rat. *Science* **328**, 1576–1580 (2010).
- Willis, T.J., Cacucci, F., Burgess, N. & O'Keefe, J. Development of the hippocampal cognitive map in preweanling rats. *Science* **328**, 1573–1576 (2010).
- Skaggs, W.E., Knierim, J.J., Kudrimoti, H.S. & McNaughton, B.L. A model of the neural basis of the rat's sense of direction. *Adv. Neural Inf. Process. Syst.* **7**, 173–180 (1995).



ARTICLES

19. Zhang, K. Representation of spatial orientation by the intrinsic dynamics of the head-direction cell ensemble: a theory. *J. Neurosci.* **16**, 2112–2126 (1996).
20. Redish, A.D., Elga, A.N. & Touretzky, D.S. A coupled attractor model of the rodent head direction system. *Netw. Comput. Neural Syst.* **7**, 671–685 (1996).
21. Burak, Y. & Fiete, I.R. Fundamental limits on persistent activity in networks of noisy neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 17645–17650 (2012).
22. Knierim, J.J. & Zhang, K. Attractor dynamics of spatially correlated neural activity in the limbic system. *Annu. Rev. Neurosci.* **35**, 267–285 (2012).
23. Blair, H.T. Simulation of a thalamocortical circuit for computing directional heading in the rat. in *Advances in Neural Information Processing Systems 8* (eds. Touretzky, D.S., Mozer, M.C. & Hasselmo, M.E.) 152–158 (MIT Press, 1996).
24. Amari, S. Dynamics of pattern formation in lateral-inhibition type neural fields. *Biol. Cybern.* **27**, 77–87 (1977).
25. Song, P. & Wang, W.J. Angular path integration by moving “hill of activity”: a spiking neuron model without recurrent excitation of the head-direction system. *J. Neurosci.* **25**, 1002–1014 (2005).
26. Ben-Yishai, R., Bar-Or, R.L. & Sompolinsky, H. Theory of orientation tuning in visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 3844–3848 (1995).
27. Buzsáki, G. Two-stage model of memory trace formation: a role for ‘noisy’ brain states. *Neuroscience* **31**, 551–570 (1989).
28. Brandon, M.P., Bogaard, A.R., Andrews, C.M. & Hasselmo, M.E. Head direction cells in the postsubiculum do not show replay of prior waking sequences during sleep. *Hippocampus* **22**, 604–618 (2012).
29. Skaggs, W.E. & McNaughton, B.L. Replay of neuronal firing sequences in rat hippocampus during sleep following spatial experience. *Science* **271**, 1870–1873 (1996).
30. Nádasdy, Z., Hirase, H., Czurkó, A., Csicsvari, J. & Buzsáki, G. Replay and time compression of recurring spike sequences in the hippocampus. *J. Neurosci.* **19**, 9497–9507 (1999).
31. Lee, A.K. & Wilson, M.A. Memory of sequential experience in the hippocampus during slow wave sleep. *Neuron* **36**, 1183–1194 (2002).
32. Euston, D.R., Tatsuno, M. & McNaughton, B.L. Fast-forward playback of recent memory sequences in prefrontal cortex during sleep. *Science* **318**, 1147–1150 (2007).
33. Peyrache, A., Khamassi, M., Benchenane, K., Wiener, S.I. & Battaglia, F.P. Replay of rule-learning related neural patterns in the prefrontal cortex during sleep. *Nat. Neurosci.* **12**, 919–926 (2009).
34. Johnson, A., Seeland, K. & Redish, A.D. Reconstruction of the postsubiculum head direction signal from neural ensembles. *Hippocampus* **15**, 86–96 (2005).
35. Averbeck, B.B., Latham, P.E. & Pouget, A. Neural correlations, population coding and computation. *Nat. Rev. Neurosci.* **7**, 358–366 (2006).
36. Harris, K.D., Csicsvari, J., Hirase, H., Dragoi, G. & Buzsáki, G. Organization of cell assemblies in the hippocampus. *Nature* **424**, 552–556 (2003).
37. Mehta, M.R., Barnes, C.A. & McNaughton, B.L. Experience-dependent, asymmetric expansion of hippocampal place fields. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 8918 (1997).
38. Muir, G.M. *et al.* Disruption of the head direction cell signal after occlusion of the semicircular canals in the freely moving chinchilla. *J. Neurosci.* **29**, 14521–14533 (2009).
39. Wilson, M.A. & McNaughton, B.L. Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* **265**, 676 (1994).
40. Reid, R.C. & Alonso, J.-M. Specificity of monosynaptic connections from thalamus to visual cortex. *Nature* **378**, 281–284 (1995).
41. Bruno, R.M. & Sakmann, B. Cortex is driven by weak but synchronously active thalamocortical synapses. *Science* **312**, 1622–1627 (2006).
42. Neuenschwander, S. & Varela, F.J. Visually triggered neuronal oscillations in the pigeon: an autocorrelation study of tectal activity. *Eur. J. Neurosci.* **5**, 870–881 (1993).
43. Craig, A.D. (Bud). Pain mechanisms: labeled lines versus convergence in central processing. *Annu. Rev. Neurosci.* **26**, 1–30 (2003).
44. Jones, E.G. *The Thalamus* (Cambridge University Press, 2007).
45. Shibata, H. Topographic organization of subcortical projections to the anterior thalamic nuclei in the rat. *J. Comp. Neurol.* **323**, 117–127 (1992).
46. Gonzalo-Ruiz, A. & Lieberman, A.R. Topographic organization of projections from the thalamic reticular nucleus to the anterior thalamic nuclei in the rat. *Brain Res. Bull.* **37**, 17–35 (1995).
47. Couey, J.J. *et al.* Recurrent inhibitory circuitry as a mechanism for grid formation. *Nat. Neurosci.* **16**, 318–324 (2013).
48. Moser, E.I., Moser, M.-B. & Roudi, Y. Network mechanisms of grid cells. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **369**, 20120511 (2014).
49. Burgess, N., Barry, C. & O’Keefe, J. An oscillatory interference model of grid cell firing. *Hippocampus* **17**, 801–812 (2007).
50. Moser, E.I., Kropff, E. & Moser, M.-B. Place cells, grid cells, and the brain’s spatial representation system. *Annu. Rev. Neurosci.* **31**, 69–89 (2008).



Article publié : Modulation des oscillations lentes du bulbe olfactif par les astrocytes

En collaboration avec le laboratoire de Christian Giaume, nous avons étudié *in vivo* les oscillations du sommeil dans un modèle de souris *knock-out* pour la connexine astrocytaire 43. En effet, Lisa Roux a démontré l'importance des héli-canaux formés par les connexines 43 au sein du réseau astrocytaire dans la modulation du rythme lent observé spontanément dans le BO *in vitro* en tranche (Roux *et al.*, 2015). Les conséquences *in vivo* sont encore en cours d'investigation dans notre laboratoire.

Cellular/Molecular

Astroglial Connexin 43 Hemichannels Modulate Olfactory Bulb Slow Oscillations

Lisa Roux,^{1,2,3} Antoine Madar,^{1,2,3} Marie Masako Lacroix,⁴ Chenju Yi,^{1,2,3} Karim Benchenane,^{4*} and Christian Giaume^{1,2,3*}

¹Center for Interdisciplinary Research in Biology, Collège de France/Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 7241, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U1050, 75231 Paris Cedex 05, France, ²University Pierre et Marie Curie, 75005 Paris, France, ³MemoLife Laboratory of Excellence and Paris Science Lettre Research University, 75005 Paris, France, ⁴Memory Oscillations and Brain States Team, Laboratory of Neurobiology, Brain Plasticity Unit, Unité Mixte de Recherche 8249, CNRS, Ecole Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles de la Ville de Paris – ParisTech, 75005 Paris, France

An emergent concept in neurosciences consists in considering brain functions as the product of dynamic interactions between neurons and glial cells, particularly astrocytes. Although the role played by astrocytes in synaptic transmission and plasticity is now largely documented, their contribution to neuronal network activity is only beginning to be appreciated. In mouse olfactory bulb slices, we observed that the membrane potential of mitral cells oscillates between UP and DOWN states at a low frequency (<1 Hz). Such slow oscillations are correlated with glomerular local field potentials, indicating spontaneous local network activity. Using a combination of genetic and pharmacological tools, we showed that the activity of astroglial connexin 43 hemichannels, opened in an activity-dependent manner, increases UP state amplitude and impacts mitral cell firing rate. This effect requires functional adenosine A1 receptors, in line with the observation that ATP is released via connexin 43 hemichannels. These results highlight a new mechanism of neuroglial interaction in the olfactory bulb, where astrocyte connexin hemichannels are both targets and modulators of neuronal circuit function.

Key words: astrocyte; hemichannel; mitral cells; olfactory glomeruli; UP state; DOWN state

Significance Statement

An emergent concept in neuroscience consists in considering brain function as the product of dynamic interactions between neurons and glial cells, particularly astrocytes. A typical feature of astrocytes is their high expression level of connexins, the molecular constituents of gap junction channels and hemichannels. Although hemichannels represent a powerful medium for intercellular communication between astrocytes and neurons, their function in physiological conditions remains largely unexplored. Our results show that in the olfactory bulb, connexin 43 hemichannel function is promoted by neuronal activity and, in turn, modulates neuronal network slow oscillations. This novel mechanism of neuroglial interaction could influence olfactory information processing by directly impacting the output of the olfactory bulb.

Introduction

Over the last two decades, emerging concepts that integrate glial cells, and in particular astrocytes, in the regulation of neuronal

activity and metabolism have considerably improved our understanding of brain functions (Barres, 2008; Nedergaard and Verkhratsky, 2012; Pellerin and Magistretti, 2012; Araque et al., 2014). However, although the role played by astrocytes in the modulation of synaptic transmission and plasticity is well documented, their contribution to network activity is only beginning to be considered both *in vitro* (Angulo et al., 2004; Poskanzer and Yuste, 2011; Lee et al., 2014) and *in vivo* (Amzica et al., 2002; Fellin et al., 2009; Halassa et al., 2009; Lee et al., 2014). Most of these studies point out the role played by astrocyte calcium-dependent vesicular release (Bezzi et al., 2004; Pascual et al., 2005;

Received March 5, 2015; revised Aug. 24, 2015; accepted Sept. 27, 2015.

Author contributions: L.R., K.B., and C.G. designed research; L.R., A.M., M.M.L., and C.Y. performed research; K.B. and C.G. contributed unpublished reagents/analytic tools; L.R., A.M., M.M.L., C.Y., and K.B. analyzed data; L.R. and C.G. wrote the paper.

This work was supported by the Neuropôle de Recherche Francilien Collège de France, and Agence Nationale pour la Recherche Grants AstroGlo 06-NEURO-004-01 and Astrosleep 12-BSV4-0013-01. We thank Drs. A. Koulakoff, N. Rouach, O. Chever, X. Liu, and T. Gallopin for discussions and technical support, P. Ezan for technical help, and Profs. K. Willecke and M. Theis for providing knock-out mice.

The authors declare no competing financial interests.

*K.B. and C.G. contributed equally to this work.

Correspondence should be addressed to Christian Giaume, Collège de France, 11 place Marcelin Berthelot, 75231 Paris Cedex 05, France. E-mail: christian.giaume@college-de-france.fr.

DOI:10.1523/JNEUROSCI.0861-15.2015

Copyright © 2015 the authors 0270-6474/15/3515339-14\$15.00/0

Jourdain et al., 2007; Bergersen et al., 2012; Lee et al., 2014), a mechanism that is still controversial (Fiacco et al., 2007; Petravic et al., 2008; Agulhon et al., 2010; Hamilton and Attwell, 2010; Li et al., 2013; Fujita et al., 2014).

Yet, astrocytes could contribute to neuronal network activity through other pathways. A typical feature of astrocytes is their high level of connexin (Cx) expression (Cx43 and Cx30), the molecular basis for gap junction channel and hemichannel (HC) functions (Giaume et al., 2010). Both of these channels are permeable to numerous neuroactive compounds (Bennett et al., 2003; Giaume et al., 2013). Whereas the role of astroglial gap junctions (Wallraff et al., 2006; Rouach et al., 2008; Lutz et al., 2009; Pannasch et al., 2011) and nonchannel functions of Cx30 (Pannasch et al., 2014) have been studied extensively in the hippocampus, the role of Cx-formed HCs in physiological conditions is only beginning to be appreciated (Stehberg et al., 2012; Torres et al., 2012; Chever et al., 2014). Therefore, we asked whether Cx HC function in astrocytes impacts neuronal network activity.

As a model, we used the mouse olfactory bulb (OB), where intricate neuroglial interactions have been described previously (De Saint Jan and Westbrook, 2005; Gurden et al., 2006; Roux et al., 2011). In addition, the OB presents the advantage of exhibiting strong network activity in acute slice preparations, as reflected by coordinated long-lasting depolarizations in mitral cells (MCs) belonging to the same glomerulus (Carlson et al., 2000; Schoppa and Westbrook, 2001, 2002; Christie et al., 2005; Christie and Westbrook, 2006; De Saint Jan et al., 2009). The involvement of intrinsic membrane properties (Heyward et al., 2001) and/or circuit interactions as well as the contribution of neuroglial interactions in these network activity patterns are still unclear.

Our results uncover a novel mechanism of neuroglial interaction in the OB, where Cx43 hemichannel function in astrocytes is promoted by neuronal activity and, in turn, modulates neuronal network function via a purinergic pathway. This mechanism could influence olfactory information processing by directly impacting the output of the OB.

Materials and Methods

All experiments were performed according to the European Community Council Directives of January first 2013 (2010/63/EU) and followed Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale guidelines for the ethical treatment of animals. They were also in accordance with institutional (CNRS Comité Opérationnel pour l'Éthique dans les Sciences de la Vie) and international (NIH guidelines) standards and legal regulations (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche) regarding the use and care of animals. All efforts were made to minimize the number of animals used and their suffering.

Animals

C57BL/6 mice (Charles River Laboratories) were used as wild-type (WT) mice. To assess astroglial connexin functions, we used knock-out mice, including *Cx30*^{-/-} (Cx30 KO; Teubner et al., 2003), *Cx43*^{fl/fl}:*GFAP-cre* (Cx43 KO), a conditional knock-out of Cx43 in astrocytes (Theis et al., 2003), and the double knock-out (dKO) *Cx30*^{-/-} *Cx43*^{fl/fl}:*GFAP-cre* (Wallraff et al., 2006). Both male and female mice were used in this study.

Drugs and peptides

The following drugs were used in this study: tetrodotoxin citrate (TTX; 0.5 μ M; Tocris Biosciences), 4-hydroxyquinoline-2-carboxylic acid (kynurenic acid; 2 mM; Tocris Biosciences), carbenoxolone (CBX; 100 μ M; Sigma), 4-(2-(7-amino-2-(furan-2-yl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-5-ylamino)ethyl)phenol (ZM 241385; 10 nM; Tocris Biosciences), 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine (DPCPX; 1 μ M; Tocris Biosciences),

the mimetic peptide Gap26 (amino acid sequence VCYDKSFPISHVR; purity, >95%; 300 μ g/ml; Thermo Fisher Scientific; Chaytor et al., 1997), and a scrambled peptide containing the same amino acids as the Gap26 (amino acid sequence PSFDSRHCIVKYV; purity, >95%; 300 μ g/ml, Thermo Fisher Scientific). To avoid peptide degradation, peptides were diluted in oxygenated ACSF 2 min before application on the slices. To test the impact of Cx43 hemichannel function, analysis was performed within the first 10–15 min of recording after peptide exposure, because it has been reported that Gap26 has an effect on gap junction communication after 30 min exposure (Desplantez et al., 2012).

Tissue preparation for electrophysiological recordings

As described previously (Roux et al., 2011), mice [postnatal day 14 (P14)–P25] were killed by decapitation, and the olfactory bulbs were rapidly dissected in ice-cold oxygenated (95% O₂–5% CO₂) solution containing the following (in mM): 83 NaCl, 26.2 NaHCO₃, 1 NaH₂PO₄, 2.5 KCl, 3.3 MgSO₄, 0.5 CaCl₂, 70 sucrose, and 22 D-glucose, pH 7.3 (osmolarity, 315 mOsm). Horizontal slices (250–350 μ m) were cut using a vibratome (Microm HM 650V) in the same solution, incubated for 30–40 min at 34°C in the standard extracellular solution (see Electrophysiological recordings section below) in which 10 mM of pyruvate was added, and stored at room temperature until use (up to 5 h after decapitation).

Electrophysiological recordings

Slices were placed in a submerged recording chamber mounted on an upright microscope (Zeiss Axioskop FS) equipped for infrared differential interference contrast (DIC) microscopy and epifluorescence. They were perfused continuously with an oxygenated extracellular solution (ACSF) containing (in mM) 124 NaCl, 26 NaHCO₃, 3 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 1.3 MgCl₂, 2 CaCl₂, and 20 D-glucose, pH 7.4 (room temperature) at a rate of 2 ml/min. Patch-clamp recordings were performed with 3–7 M Ω glass electrodes filled with (in mM) 105 K-gluconate, 30 KCl, 10 HEPES, 10 phosphocreatine, 4 ATP-Mg, 0.3 GTPTris, and 0.3 EGTA, pH 7.4 (290 mOsm) for current-clamp recordings, or 107.5 Cs-gluconate, 20 HEPES, 8 Na-gluconate, 8 tetraethylammonium (TEA)-Cl, 4 ATP-Mg, 0.3 Na₃-GTP, 0.2 EGTA, 5 QX-314, pH 7.2 (280 mOsm) for voltage-clamp recordings. Sulforhodamine B (SrB; 1 mg/ml; Invitrogen) was systematically added to this internal solution to verify cell integrity after recording. Whole-cell membrane voltages were recorded with a MultiClamp 700B amplifier (Molecular Devices), sampled with a Digidata 1322A Interface, and recordings (10 kHz sampling, 2 kHz filtering) were performed with pClamp9 software (Molecular Devices). Series resistances were compensated at 80%. Input resistance was measured in voltage-clamp mode by applying hyperpolarizing voltage pulses (10 mV, 150 ms) from a holding potential of –60 mV for MCs. Unless indicated, all recorded MCs were maintained by steady current injection at the same DOWN state membrane potential (–60 mV) to minimize the variability related to this parameter. Mitral cell recordings included in this work presented 29 ± 11 M Ω access resistance (R_a). We did not observe any significant correlation between access resistance and UP state amplitude. Local field potential (LFP) recordings were performed with 0.5–1 M Ω glass pipettes filled with extracellular solution.

Data analysis

Analysis was performed using Matlab software (MathWorks).

Cross-correlograms. Cross-correlogram analyses were performed with custom-written, MATLAB-based programs. A significant value for the correlation coefficient (r) at the lag zero indicates that the two signals do not evolve independently. We defined the delay between the two signals as the lag corresponding to the time delay that optimizes the correlation between them. To study the temporal relationship between MC membrane potential fluctuations and LFP signals recorded either in the glomerulus affiliated with the MC or in neighboring glomeruli, spikes were removed from the MC signal, and cross-correlogram analysis was performed on recordings filtered in the 0.05–0.6 Hz frequency band.

UP state detection. The strategy developed by Seamari et al. (2007) for characterizing UP and DOWN states is based on a method used in financial data analysis: crossover of moving averages. Periods where a signal keeps its tendency to increase or decrease (trending periods) can be

tracked with fitted exponential moving averages (EMAs), whereas changes in this trending behavior (trend reversal) are detected by crossing over two EMAs with different window sizes. The window sizes were chosen to detect events occurring between 0.05 and 2 Hz. Accordingly, classical Fourier analysis reveals a peak at those frequencies. The crossing points of the two EMAs are good approximations of the transitions between UP and DOWN states (i.e., of both UP initiations and terminations). Similar results were obtained with a more classical method based on the decomposition of the histogram of the membrane potential into a mixture of two Gaussians.

Ethidium bromide uptake assays

HC activity was assessed by ethidium bromide (EtBr; 314Da) uptake assays (Giaume et al., 2012) in 300- μ m-thick acute OB slices prepared as described above for electrophysiological recordings. Briefly, slices were first preincubated for 15 min in different submerged chambers containing oxygenated (95% O₂ and 5% CO₂, pH 7.4) ACSF and different pharmacological compounds. EtBr (4 μ M) was then directly added in the chamber. Repetitive gentle pipetting allowed homogenization of the solution. This compound is membrane impermeable but can transit through large-pore channels before binding to the cell's DNA when it becomes more fluorescent. After 10 min exposure to EtBr, slices were washed (two times for 5 min each) in normal ACSF, fixed for 3 h in 4% PFA in PBS, and processed for anti-GFAP immunostaining and Nissl staining (see Immunostaining section below). Sections were mounted in Fluoromount and imaged with a confocal laser-scanning microscope equipped with a 40 \times objective and three lasers (argon, 488 nm; helium/neon, 543 nm; helium/neon, 633 nm). Images were taken 25 μ m below the slice surface in each condition. Pictures were analyzed with MBF ImageJ software. By means of Nissl and GFAP staining, regions of interest (ROIs) were defined corresponding to astrocyte nuclei located in the glomerular layer. The mean EtBr fluorescence intensity was measured in each ROI, after background removal. Background was evaluated on at least five regions devoid of cell bodies for each analyzed frame. Results for the different conditions were normalized by the mean EtBr signal obtained in the corresponding WT control condition.

Immunostaining (after EtBr uptake assays)

Antibodies. Mouse monoclonal anti-GFAP antibodies (1:500; Sigma, clone GA-5) were used as primary antibodies. Goat anti-mouse Igs conjugated to Alexa fluor dyes (1:4000; Invitrogen) were used as secondary antibodies.

Protocols. Acute OB slices (300 μ m thick) were prepared as for electrophysiology and fixed in 4% PFA overnight at 4°C. Alternatively, slices were fixed during 3 h following EtBr assays (see above). After two PBS washes (30 min each), slices were permeabilized with PBS containing 0.2% gelatin and 1% Triton X-100 for 1 h at room temperature and incubated overnight at 4°C with mouse anti-GFAP antibodies diluted in PBS containing 0.2% gelatin and 0.25% Triton X-100. After two washes (30 min each), sections were incubated for 2 h at room temperature with secondary antibodies. After two washes (20 min each), Nissl counterstaining was performed by incubating the sections during 20 min in Neurotrace reagent (1:100; Invitrogen) diluted in PBS. After three washes (10 min each), sections were mounted in Fluoromount and imaged with a confocal laser-scanning microscope, equipped with a 40 \times objective and three lasers (argon, 488 nm; helium/neon, 543 nm; helium/neon, 633 nm).

ATP dosage by bioluminescence assays

Extracellular levels of ATP were determined from OB acute slices prepared as described above ($n = 2$ slices/well/condition) incubated in 1 ml of oxygenated ACSF containing Gap26 (300 μ g/ml) or not. After equilibration, slices were treated for 30 min in presence of the ectonucleotidase inhibitor ARL 67156 trisodium salt (6-*N,N*-Diethyl-D- β , γ -dibromomethylene ATP trisodium salt; Tocris Bioscience) to inhibit ATP hydrolysis. Then, samples of extracellular medium were collected, and extracellular ATP was directly measured using a bioluminescent ATP assay kit (PerkinElmer) as described previously (Cotrina et al., 1998). Luminescence was measured using a luminometer (Berthold Technologies) according to the manufacturer's instructions. The extracellular ATP

was normalized to the protein content determined from pooled OB slices by BCA kit (Thermo Scientific).

Statistics

For each data group, results are expressed as mean \pm SEM, and n refers to the number of independent experiments. Comparisons are considered significant at $p < 0.05$, $p < 0.01$, and $p < 0.001$, and p values for correlation coefficients were obtained via the corrcoef function (MathWorks).

Results

Mitral cell membrane potential bimodality

Whole-cell recordings from MCs were performed in mouse acute OB slices (P14–P25). A fluorescent molecule, sulforhodamine B (SrB), was systematically included in the patch-clamp pipette solution to assess cell morphology and integrity (Figs. 1A₁, B₁, 3D). We monitored MCs at their resting membrane potential in the current-clamp configuration and observed spontaneous alternations between depolarized states often associated with spikes and silent hyperpolarized states (Fig. 1A₂, C) resulting in a bimodal distribution (Fig. 1A₃). Such slow alternations between two distinct membrane potentials are reminiscent of neocortical neuron oscillations typically observed during slow wave sleep and anesthesia (Steriade et al., 1993), as well as during quiet wakefulness (Crochet and Petersen, 2006). By analogy, we defined the activated state as the UP state and the hyperpolarized state as the DOWN state in the rest of our study. Only MCs with clear UP and DOWN states and allowing long (>10 min) stable recordings were included in the following analysis (45 of 61). Detected UP state frequency was 0.19 ± 0.01 Hz ($n = 45$). The firing rate monitored during UP states was 11.47 ± 1.5 Hz, whereas it reached only 0.16 ± 0.04 Hz during DOWN states. UP and DOWN state membrane potentials corresponded to -48.5 ± 0.8 mV and -52.9 ± 0.8 mV, respectively, with a potential difference between those two states (referred to as the UP state amplitude) of 4.4 ± 0.3 mV. The transitions between these two voltage levels lasted (337.5 ± 18.3 ms for DOWN to UP states and 518.2 ± 45.5 ms for UP to DOWN states). Short buildups of EPSPs could be observed at UP state initiation (Fig. 1C). UP and DOWN state durations were 2775 ± 459 ms and 3579 ± 334 ms, respectively.

Mitral cell slow oscillations depend on glomerular glutamatergic synaptic transmission

We next aimed to determine the source of these MC spontaneous slow oscillations, in particular whether they are generated by intrinsic membrane properties or rely on synaptic activity. We did not observe any significant correlation between MC membrane potential and UP state frequency or UP state amplitude ($r = 0.054$, $p = 0.76$ and $r = -0.045$, $p = 0.79$; Fig. 2A, B, respectively). This observation suggests that UP state generation does not depend on intrinsic voltage-gated cellular mechanisms, such as the persistent sodium channel activation involved in tufted cells spontaneous depolarizations/bursting (Hayar et al., 2004b). To confirm this hypothesis, we analyzed recordings performed in MCs with a sectioned apical dendrite tuft (as a result of the slicing procedure; Fig. 1B). In 16 of 17 cases, truncated MCs showed a unimodal distribution of their membrane potential (Fig. 1B₃) associated with a silent state or a tonic firing rate (Fig. 1B₂). This result was unlikely due to the deterioration of MC viability since they did not display any somatic morphological abnormalities, and their electrophysiological profile was stable across the whole recording duration (>10 min), with a resting membrane potential (-53.3 ± 0.8 mV, $n = 17$) not significantly different from that of MCs with an intact apical dendrite (-52.9 ± 0.8 mV, $n =$

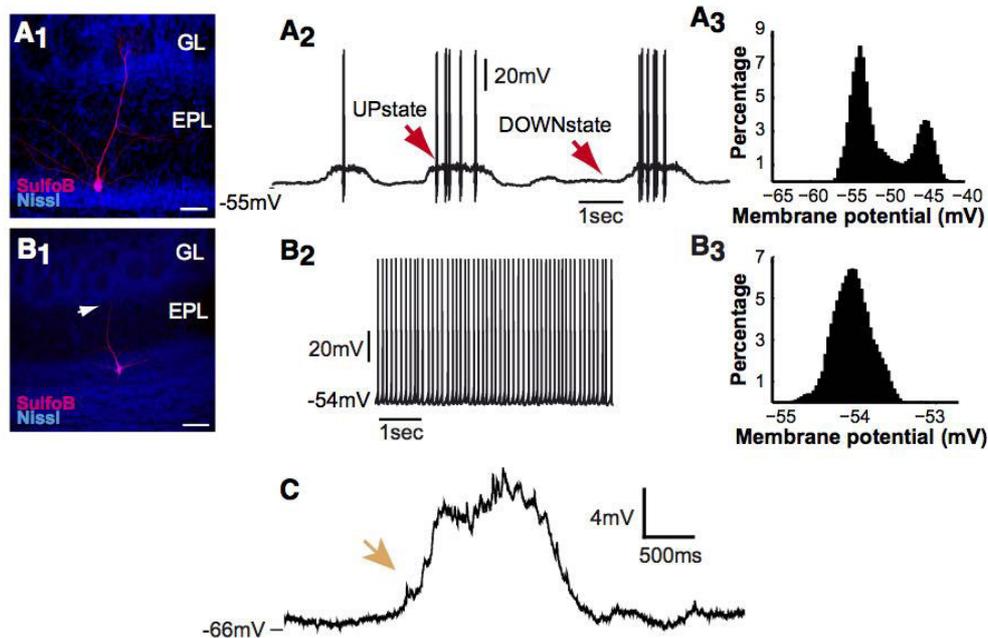


Figure 1. UP and DOWN states in mitral cells are generated in the glomerular layer. *A₁*, Mitral cell loaded with SrB (red) during whole-cell recording in olfactory bulb acute slices, with Nissl stain (blue) as a counterstaining. *A₂*, Whole cell patch-clamp recording of an MC in the current-clamp configuration. The membrane potential shows spontaneous alternations between depolarized states associated with spikes (UP states) and hyperpolarized silent periods (DOWN states). *A₃*, Such activity results in a bimodal distribution. *B₁*, Mitral cell with a truncated dendritic apical tuft (arrow). *B₂*, *B₃*, Patch-clamp recording shows an unimodal distribution of the membrane potential, and 95% of these truncated MCs display a tonic firing pattern such as the example illustrated in *B₂* ($n = 17$). Note that none of the MCs with an intact apical dendrite exhibited such a tonic spiking ($n = 61$). *C*, Example UP state recorded with hyperpolarizing current injection. The membrane potential shows a short buildup of EPSPs before transitioning to the UP state (orange arrow). Scale bars: 50 μm .

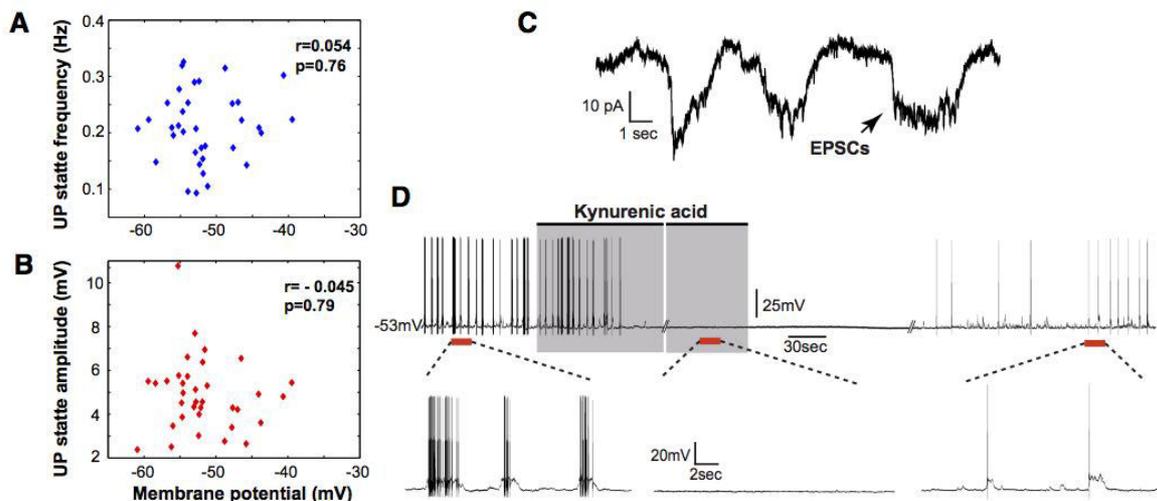


Figure 2. UP and DOWN states in mitral cells require glutamatergic transmission. *A*, *B*, Absence of correlation between the mean membrane potential of individual MCs and UP state features (frequency and amplitude). Measurements were performed in MC recordings without current injection. *C*, Example of an MC recording in the voltage-clamp configuration at the reversal potential for chloride. Note the slow (inward) excitatory currents, likely corresponding to barrages of EPSCs, the frequency of which is similar to that of UP states (0.15 ± 0.06 Hz, $n = 5$). *D*, Treatment with kynurenic acid (2 mM), a blocker of ionotropic glutamate receptors, reversibly abolishes UP states generation. Periods indicated by red bars in the top trace are enlarged below. Note that action potentials have been truncated for clarity.

45, $p = 0.84$, Mann and Whitney U test). Therefore, apical dendrite tuft integrity at the glomerulus level is required for UP and DOWN states generation in MCs. This result further supports the hypothesis that MC slow oscillations are not generated by intrinsic

membrane properties (at least at the somatic and proximal dendritic levels) and suggests that cell interactions occurring at the level of the glomerular layer are likely responsible for the generation of UP and DOWN states. Although some excitatory

interactions have been reported to occur between MC lateral dendrites (Aroniadou-Anderjaska et al., 1999b; Didier et al., 2001; Salin et al., 2001), most of the glutamatergic transmission in the OB occurs in the glomerular layer (Isaacson, 1999; Schoppa and Westbrook, 2001, 2002; Urban and Sakmann, 2002; Christie and Westbrook, 2006; De Saint Jan and Westbrook, 2007; Pimentel and Margrie, 2008; De Saint Jan et al., 2009). When MCs were maintained at the reversal potential for chloride in the voltage-clamp configuration, large and slow excitatory currents could be observed (32.8 ± 8.1 and 22.8 ± 5.4 pA, $n = 5$). These events were likely associated with UP states because they occurred at a similar frequency (0.15 ± 0.06 Hz; Fig. 2C). To further confirm that excitatory inputs are involved in UP state generation, we directly tested whether ionotropic glutamate receptor activation is necessary for UP/DOWN state alternations. Extracellular application of kynurenic acid (2 mM), a nonspecific ionotropic glutamatergic receptor antagonist, completely abolished the occurrence of UP states in a reversible manner ($n = 4$; Fig. 2D). Altogether, these results indicate that MC slow oscillations are not mediated by cell intrinsic dynamics, but are dependent on circuit interactions and rely on glutamatergic transmission, most likely in the glomerular layer.

Mitral cell slow oscillations are correlated with glomerular network activity

Bistability of membrane potential associated with UP and DOWN states, first described in the neocortex during slow wave sleep or under anesthesia (Steriade et al., 1993), has been shown to involve coordinated activity of multiple cortical cells in recurrently connected networks (Timofeev et al., 2000; Sirota and Buzsáki, 2005; Chauvette et al., 2010; Crunelli and Hughes, 2010). We therefore investigated the possibility that similar network activity could occur in OB slices. We recorded LFP with an extracellular electrode placed within the glomerulus where the apical dendrite of a simultaneously recorded MC was located. This was achieved by the inclusion of SrB in the internal solution of the patch-clamp pipette used for MC recording, which allowed visualizing the MC dendritic projections (Fig. 3A, D_1 , left). Like MC recordings, LFP signals exhibited fluctuations (Fig. 3D, middle) in the 0.05–0.5 Hz frequency range (Fig. 3B). These fluctuations were strongly correlated with the slow oscillations of the MC membrane potential but in antiphase ($r = -0.69 \pm 0.09$, $n = 4$; Fig. 3C) and with a short delay (~ 80 ms, Fig. 3C, inset). Although the current sources generating the LFP signal in the olfactory glomeruli are still unclear (Aroniadou-Anderjaska et al., 1999a; Karnup et al., 2006), these observed LFP variations suggest that synchronous network activity occurs spontaneously in this *ex vivo* OB preparation.

Interestingly, the correlation between LFP and MC membrane potential fluctuations decreased when the LFP was recorded in a glomerulus adjacent to the glomerulus where the recorded MC projected its apical dendrite, and this correlation was completely abolished for LFP recorded in more distant glomeruli (Fig. 3D₂). Along these lines, when two extracellular electrodes were placed in the same glomerulus (Fig. 3E₁), the correlation between the two signals was strong and progressively decreased with distance (and the number of glomeruli) between the two electrodes (Fig. 3E₂, F). These results suggest that in OB slices, the spontaneous slow oscillations monitored in a given MC reflect the activity of a local neuronal circuit in the close proximity of the associated glomerulus, which could act as an independent functional unit.

Neuronal activity promotes connexin-formed hemichannel function in astrocytes

Altogether, the aforementioned observations show that the spontaneous membrane potential alternations of the MCs in acute OB slice preparations result from glomerular network interactions, where the role of astrocytes could be investigated. Glomerular astrocytes have their soma at the border of the glomerulus and send processes toward the glomerulus center (Bailey and Shipley, 1993; Chiu and Greer, 1996; Roux et al., 2011). Their morphology is thus ideally suited to detect neuronal activity within individual glomeruli, as shown previously (De Saint Jan and Westbrook, 2005; Roux et al., 2011). Indeed, we reported that the membrane potential of glomerular astrocytes oscillates in a correlated manner with the LFP recorded in the same glomerulus (Roux et al., 2011). We also showed that astroglial Cxs are enriched within glomeruli compared to the extraglomerular region (Roux et al., 2011). Aside from their implication in gap junctional communication, these membrane proteins constitute possible candidates for HC function, allowing exchanges between the intracellular and extracellular media (Bennett et al., 2003; Giaume et al., 2013; Chever et al., 2014; Abudara et al., 2015). To test this possibility, HC activity was assessed in the OB by using EtBr uptake assays (Giaume et al., 2012). Ethidium bromide fluorescence was measured in GFAP-immunoreactive cells of the glomerular layer, after postfixation and processing of the slices (see Materials and Methods). We first observed that a large part of the EtBr uptake relied on Cx-formed HCs in astrocytes, as established previously in other preparations (Retamal et al., 2007; Orellana et al., 2009). Indeed, in a double knock-out mouse for the two main astroglial Cxs (Cx30 and Cx43), EtBr fluorescence was divided by two (49.6% of control) compared to the control condition (Fig. 4A₁, A₂, B₁, B₂, D). Another membrane protein family called pannexins (Panxs) has also been shown to form HCs in astrocyte plasma membranes, at least in cultured astrocytes (Iglesias et al., 2009; Giaume et al., 2013), and accordingly, part of the EtBr uptake could be attributed to Panx channel activity. However, treatment of the slices with carbenoxolone, a blocker of both Cx-formed and Panx-formed channels (Giaume et al., 2013), reduced EtBr fluorescence to a level similar to the dKO slices (Fig. 4D). This observation suggests that, unlike Cxs, Panxs make little contribution to EtBr uptake in OB astrocytes.

Because glomerular astrocytes are able to detect spontaneous neuronal activity (Roux et al., 2011), the possible impact of this activity on astroglial HC function was next investigated. Interestingly, we found that EtBr uptake was strongly reduced (to 57% of control) when spontaneous neuronal activity was inhibited by TTX treatment (Fig. 4C₁, C₂, E). Importantly, this inhibition was not observed in slices from dKO mice (Fig. 4E), indicating that Cx HCs are the main targets of this activity-dependent EtBr uptake. Altogether, these results show that spontaneous neuronal activity promotes the activation of Cx-formed HCs in astrocytes.

Astroglial connexins impact mitral cell slow oscillations

Since astroglial Cx HCs are open in an activity-dependent manner in OB slices, we then asked whether they have, in turn, an impact on neuronal activity. Because the pharmacology of Cx channels is largely unspecific (Giaume and Theis, 2010), we first addressed this question using Cx dKO mice in which astrocytes lack Cx43 and Cx30 expression (Wallraff et al., 2006).

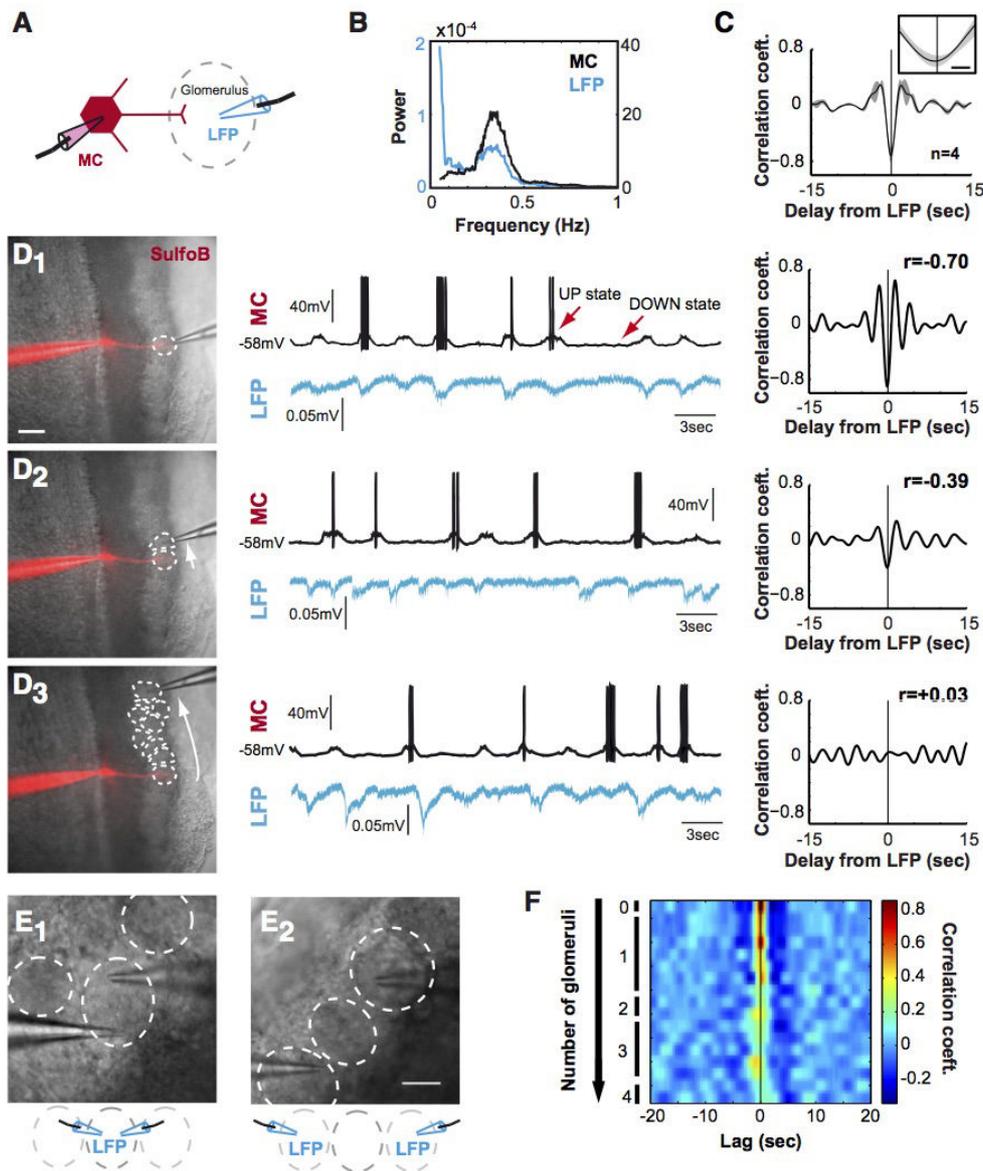


Figure 3. Mitral cell slow oscillations are correlated with glomerular network activity in olfactory bulb acute slices. **A**, Schematic drawing of the recording configuration (the whole-cell pipette used to record MC membrane potential contained SrB; red). Diffusion of the dye within the MC allowed localizing the glomerulus where its primary dendrite projected. The glomerular LFP was recorded with an extracellular pipette (blue) located in this glomerulus. **B**, Power spectrum of two typical signals illustrated in **D**₁: both MC membrane potential (black) and LFP signals (blue) present a prominent component in the slow (0.05–0.5 Hz) frequency range. **C**, Averaged cross-correlogram between MC and LFP signals (LFP being the reference) shows a strong correlation between these two signals ($r = -0.69 \pm 0.09$, $n = 4$). Note that the MC precedes the LFP with a delay of ~ 80 ms. The gray area indicates the SEM, and the inset highlights the 2 s surrounding the zero lag value (scale bar: 500 ms). **D**₁–**D**₃, Left, DIC images corresponding to the recordings shown in the center. Glomeruli are delimited by dotted lines, and the MC is loaded with SrB (red). Scale bar, 100 μ m. Center, mitral cell membrane potential and LFP in the glomerular layer recorded simultaneously. Deflections visible in the glomerular LFP indicate coherent network activity. Right, Cross-correlograms corresponding to the signals depicted in the central panels. **D**₁, Typical recordings of an MC and the LFP (blue) monitored in the glomerulus where the MC sends its primary dendrite (see diagram in **A**). **D**₂, Recording of the same MC as in **D**₁ with the LFP monitored in the adjacent glomerulus. **D**₃, Recording of the same MC as in **D**₁ and **D**₂ with the LFP monitored in a distant glomerulus. The absolute value of the correlation between the two signals is higher ($r = -0.70$) for the LFP monitored in the glomerulus where the MC projects its principal dendrite (**D**₁) than for the LFP recorded in adjacent ($r = -0.39$; **D**₂) or distant ($r = 0.03$; **D**₃) glomeruli. **E**₁, **E**₂, LFPs in the glomerular layer were recorded simultaneously within the same glomerulus (**E**₁) and/or two different glomeruli (**E**₂). **F**, Cross-correlations between pairs of LFP signals recorded in the glomerular layer. Each row corresponds to the recording of one pair of glomeruli. The number of glomeruli between recording sites is indicated on the left, with 0 corresponding to recordings in the same glomerulus (like in **E**₁). Values computed for cross-correlation (calculated for ~ 500 s of the filtered signals) are color coded. Note that cross-correlation is higher for LFPs monitored in the same glomerulus than for LFP recorded in different glomeruli.

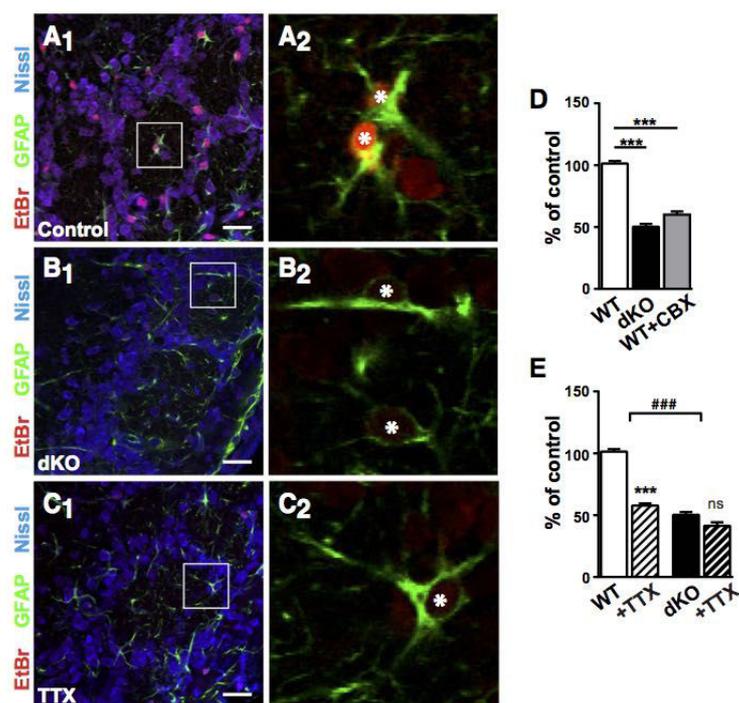


Figure 4. Spontaneous neuronal activity promotes astroglial connexin-formed hemichannels opening in the olfactory bulb glomerular layer. Hemichannel activity was assessed by ethidium bromide (red) uptake assays. *A*₁–*C*₂, Astrocytes (asterisks) are identified by GFAP immunoreactivity (green), and Nissl (blue) is used as a counterstaining. Higher magnifications are shown in the right panels corresponding to the areas delimited by white squares in the left panels. EtBr fluorescence in astrocytes is reduced by deletion of Cx30 and Cx43 (dKO; *B*₁, *B*₂) and by TTX application (*C*₁, *C*₂). Scale bars, 25 μ m. *D*, EtBr uptake is reduced by Cx deletion (50.4% inhibition) and application of CBX (40.8%; 100 μ M; $n = 682, 356$, and 201 cells in control, dKO, and CBX conditions, respectively; one-way ANOVA, $p < 0.001$; *post hoc* Tukey's multiple comparison test, $***p < 0.001$). Note that EtBr uptakes in dKO and CBX conditions are not significantly different. For each condition, fluorescence values are expressed as a function of the mean fluorescence value obtained in the WT control condition of each assay (see Materials and Methods). *E*, EtBr uptake is reduced by 43.1% when spontaneous neuronal activity is inhibited by TTX in the WT (one-way ANOVA, $p < 0.001$; *post hoc* Tukey's multiple comparison test, $***p < 0.001$), but not in absence of astroglial Cxs (dKO). The effect of TTX treatment in the dKO is significantly reduced compared to WT (two-way ANOVA, $***p < 0.001$ for the interaction). Note that EtBr uptake values in WT + TTX and dKO conditions are not significantly different.

Patch-clamp recordings showed that MCs in dKO mice also undergo spontaneous UP and DOWN states (Fig. 5*B*). Only MCs with clear UP and DOWN states and allowing long stable recordings (>10 min) were included in the analysis (39 of 74 for WT, 38 of 79 for dKO; $p = 0.75$, Fisher's exact test). We observed that the frequency of UP states was similar in both mouse lines (WT, 0.20 ± 0.01 Hz, $n = 39$; dKO, 0.22 ± 0.01 Hz, $n = 38$; $p = 0.43$; Fig. 5*C*), indicating that the frequency of the OB slow oscillations does not depend on Cx expression in astrocytes. Similarly, no difference was detected between WT and dKO MCs for UP and DOWN state durations (Fig. 5*D*, *E*): UP states lasted 1662 ± 82 ms and 1648 ± 133 ms in WT and dKO MCs, respectively; DOWN state duration was 3694 ± 272 ms and 3685 ± 279 ms in WT and dKO MCs, respectively. However, UP state amplitude was significantly reduced in dKO mice (4.5 ± 0.2 mV) compared to WT mice (6.0 ± 0.3 mV; Fig. 5*F*). Noteworthy, the difference in UP state amplitude reported here for cells maintained at -60 mV was also observed for cells monitored at their spontaneous membrane potential, without current injection. Indeed, whereas membrane potential was not significantly different in WT and

dKO MCs (WT, -52.9 ± 0.8 mV, $n = 45$; dKO, -52.1 ± 0.6 mV, $n = 32$; $p = 0.26$, Mann and Whitney *U* test), the UP state amplitude was smaller in dKO MCs (WT, 4.43 ± 0.26 mV; dKO, 3.53 ± 0.20 mV; $p = 0.01$). Interestingly, this reduction in UP state amplitude in dKO MCs was associated with a significant reduction ($\sim 36\%$) of the firing rate during UP states compared to WT MCs (Fig. 5*G*). Based on these observations, we concluded that Cx expression in astrocytes has an impact on MC slow oscillations and their spontaneous firing rate.

Astroglial hemichannels modulate MC slow oscillations

Because the use of Cx knock-out animals does not allow discriminating between Cx-mediated gap junction channel and HC functions, we used Gap26, a mimetic peptide, to specifically target Cx43 HC function (Chaytor et al., 1997) in OB slices. This peptide, which presents a sequence of amino acids similar to a portion of the first extracellular loop of Cx43, has been shown to prevent Cx43 HC opening in astrocytes (Retamal et al., 2007; Chever et al., 2014; Abudara et al., 2015) and Cx43-transfected cells (Desplantez et al., 2012; Wang et al., 2012). Notably, we conducted short applications of Gap26 (<15 min) to prevent the potential effects on gap junctional communication that have been described for longer treatments (>30 min) (Desplantez et al., 2012). To mimic the dKO condition regarding HC function, we intended to block all potential Cx-formed HCs in astrocytes. Since there is currently no tool to specifically block Cx30 HCs, we performed Cx43 HCs inhibition with Gap26 in OB slices from Cx30 KO mice (Teubner et al., 2003). In these conditions, we confirmed by EtBr uptake assays that Gap26 inhibits HC activity in astrocytes, as indicated by a 37% decrease in EtBr fluorescence in GFAP positive cells (Cx30 KO, $88.1 \pm 1.9\%$ of control; Cx30 KO + Gap26, $64.5 \pm 2.3\%$ of control; $p < 0.001$; $n = 687$ and 308 for control and Gap26 conditions, respectively; two-tailed *t* test; Fig. 6*A*₁, *A*₂).

We then aimed to determine the effect of Gap26 treatment on MC slow oscillations. Patch-clamp recordings allowed determining UP and DOWN state characteristics prior to and after Cx43 HCs blockage in individual Cx30 KO MCs maintained at -60 mV. We observed that Cx43 HC inhibition by Gap26 significantly reduces the amplitude of the UP state (Fig. 6*B*₁). Importantly, the amplitude observed after Gap26 treatment was similar to the amplitude reported in the dKO (Fig. 6*C*). In parallel, we performed the same experiment with dKO MCs to test for potential unspecific effects of Gap26. In this case, Gap26 treatment had no detectable effect on dKO MC slow oscillation amplitude (Fig. 6*B*₂, *C*), demonstrating that the impact of Gap26 on MCs UP state amplitude requires astroglial Cx expression. The reduction in UP state amplitude in the Cx30 KO cannot be explained by an in-

crease in R_a over the course of the recording, because we did not observe any significant correlation between these two measures ($p = 0.46$). Moreover, when comparing the beginning and the end of the recordings, changes in R_a were not different between Cx30 KO and dKO MCs ($p = 0.64$, two-tailed Mann and Whitney U test), although the reduction in UP state amplitude was observed only in the Cx30 KO MCs (Fig. 6C). To rule out a potential effect of the developmental stage, we divided our Cx30 KO recordings into two groups depending on the mouse postnatal age (P14–P18 and P19–P25). Since Gap26 reduced UP state amplitude to a similar extent in both groups (interaction, $p = 0.99$; treatment effect, $p = 0.01$; age effect, $p = 0.11$; repeated-measures two-way ANOVA), we concluded that within the P14–P25 range, the developmental stage cannot account for differences in the Gap26 effect. An additional control was performed using a scrambled peptide: although it was composed of the same amino acids as Gap26, it did not impact MC UP state amplitude (5.26 ± 0.31 mV vs 5.13 ± 0.14 mV for control and scramble conditions, respectively; two-tailed Wilcoxon matched-pairs signed rank test, $p = 0.88$; $n = 4$). Altogether, these observations indicate that Cx43 HC activity increases the amplitude of MC UP states.

Connexin 43, but not connexin 30, is involved in the modulation of MC slow oscillations

Because the above experiments were performed in Cx30 KO slices, we could not exclude that Cx30 HCs and/or Cx30-mediated gap junction channels are also involved in the modulation of MC slow oscillations. To evaluate the respective contribution of Cx30 and Cx43, we used knock-out mice in which these Cxs were singly deleted in astrocytes (Teubner et al., 2003; Theis et al., 2003). We found that the frequency of the UP states in these mice was similar to that in WT and dKO MCs (Cx43 KO mice, 0.22 ± 0.03 Hz, $n = 10$; Cx30 KO mice, 0.21 ± 0.01 Hz, $n = 22$). Again, no difference was detected for UP and DOWN state durations among the tested mouse lines: UP states lasted 1276 ± 169 ms and 1756 ± 145 ms in Cx43 KO and Cx30 KO MCs, respectively, whereas DOWN state durations reached 4085 ± 885 ms and 3440 ± 264 ms in Cx43 KO and Cx30 KO MCs, respectively. However, whereas UP state amplitude was not affected by Cx30 deletion (5.8 ± 0.3 mV), it was significantly reduced in the Cx43 KO, to a similar extent as in the dKO (Cx43 KO, 4.3 ± 0.5 mV; dKO, 4.5 ± 0.2 mV; Fig. 6D). Importantly, we did not observe any difference in R_a for the MCs recorded in the four different genotypes (one-way ANOVA, $p = 0.47$), indicating that disparities in R_a cannot be accounted for the reported differences in UP state amplitudes. Based on these observations, we concluded that Cx30 expres-

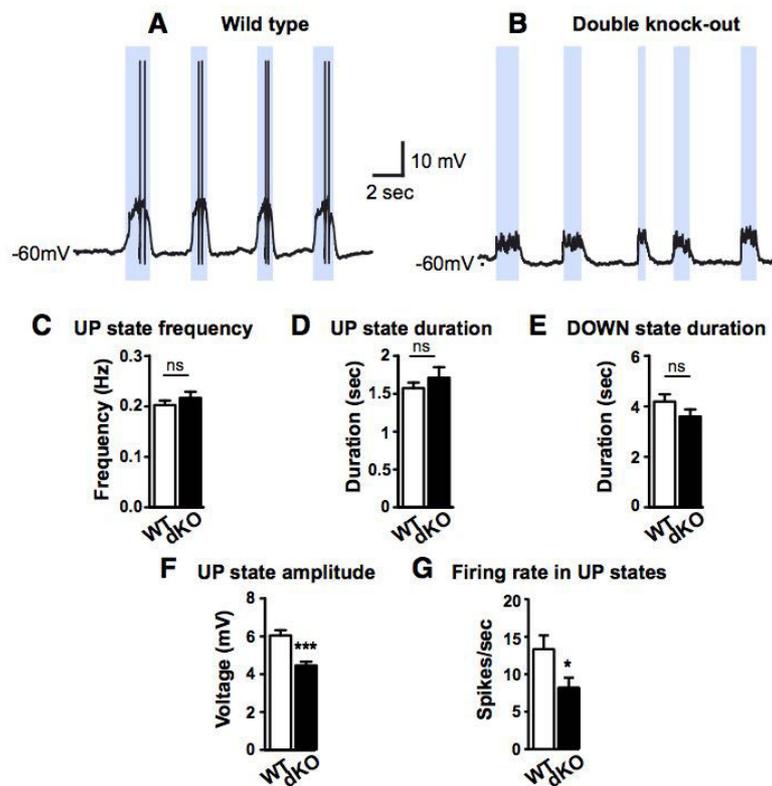


Figure 5. The lack of connexin expression in astrocytes impacts slow oscillations in olfactory bulb slices. *A, B*, Typical mitral cell recordings in WT mice (*A*) and dKO mice for the two astroglial Cxs (Cx30 and Cx43; *B*). Detected UP states are highlighted by blue rectangles. Note that action potentials have been truncated for clarity. To allow comparison, cells were maintained at -60 mV by current injection. *C–F*, Mitral cell oscillatory properties were examined in WT and dKO mice. *C*, The frequency of the UP states is not affected by astroglial Cx deletion (two-tailed Mann and Whitney U test, $p = 0.43$; WT, $n = 39$; dKO, $n = 38$). *D, E*, No significant differences are detected for UP and DOWN state durations between WT and dKO MCs (two-tailed Mann and Whitney U test, $p = 0.46$ and 0.94 , respectively). *F*, However, a significant reduction in the amplitude separating the DOWN from the UP state membrane potentials (defined as UP state amplitude) is observed in dKO MCs compared to WT MCs. *** $p < 0.0001$ (two-tailed Mann and Whitney U test). Similar results were obtained for recordings performed without current injection. *G*, The firing rate during UP states is reduced in dKO compared to WT MCs when cells are monitored at spontaneous membrane potential (WT, $n = 45$; dKO, $n = 32$). * $p = 0.04$ (one-tailed Mann and Whitney U test).

sion in astrocytes has no impact on the amplitude of MC slow oscillations. Instead, Cx43, and in particular Cx43 HC function, plays a crucial role in this phenomenon.

Connexin 43 hemichannel contribution to MC slow oscillation requires adenosine A1 receptor function

Connexin 43 HCs have been shown to be permeable to several compounds that have an impact on neuronal activity (Bennett et al., 2003; Giaume et al., 2013), a major one being ATP (Kang et al., 2008; Torres et al., 2012; Chever et al., 2014). Based on these observations, we first tested whether ATP is released through Cx43 HCs in our conditions. We performed extracellular ATP dosage with bioluminescence assays on OB slices from Cx30 KO and dKO mice, with and without Gap26 treatment. Connexin43 HC blockade by Gap26 reduced extracellular ATP levels by $\sim 50\%$ in control Cx30 KO slices, but not in dKO slices, where both Cxs are lacking (Fig. 7). The reduction of ATP levels induced by Gap26 in control slices was similar to the reduction induced by Cx gene deletion (dKO condition). We then investigated whether Cx43 HC blockade also reduces extracellular ATP levels when

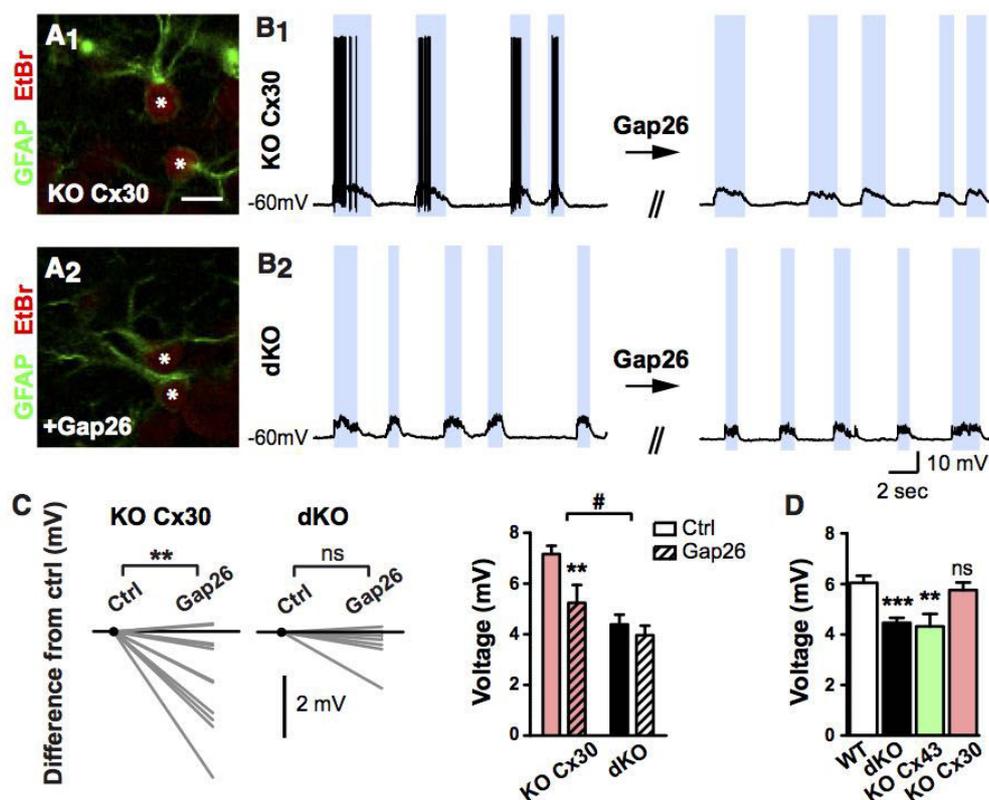


Figure 6. Blockade of Cx43 hemichannels impacts mitral cells slow oscillations. **A₁, A₂**, Examples of EtBr (red) fluorescence in the absence (A₁) or presence (A₂) of Gap26 in the Cx30 KO. GFAP immunostaining (green) was used to identify astrocytes (asterisks). Scale bar, 10 μ m. **B₁**, Example of MC recording in Cx30 KO slices, before and after Gap26 application. **B₂**, Example of MC recording in dKO slices, before and after Gap26 application. Detected UP states are highlighted by blue rectangles. **C**, Left, Effect of Gap26 application on UP state amplitude in Cx30 KO and dKO MC recordings. Each gray line represents measures obtained for individual MCs before and after Gap26 treatment. **C**, Right, Blockade of Cx43 HCs in the Cx30 KO reduced UP state amplitude (** $p = 0.002$, two-tailed Wilcoxon matched-pairs signed rank test) to the level of dKO MCs ($p = 0.58$, two-tailed Mann and Whitney U test). This effect was occluded in dKO MCs, where UP state amplitude is not affected by Gap26 ($p = 0.11$, two-tailed Wilcoxon matched-pairs signed rank test; # $p = 0.04$, two-way ANOVA, interaction; $n = 12$ and 7 for Cx30 KO and dKO, respectively). **D**, Impact of Cx30 and Cx43 on MC UP state amplitude. Mitral cell properties were examined in WT, single knock-outs (Cx43 KO and Cx30 KO), and double knock-out (dKO) mice. Like dKO MCs, Cx43 KO MCs showed a significant reduction UP state amplitude compared to WT. In contrast, MC behavior was not altered by Cx30 deletion in astrocytes ($p < 0.001$, one-way ANOVA followed by Newman–Keuls *post hoc* tests; ns, $p > 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, compared to WT MCs; WT, $n = 39$; dKO, $n = 38$; Cx43 KO, $n = 10$; Cx30 KO, $n = 22$).

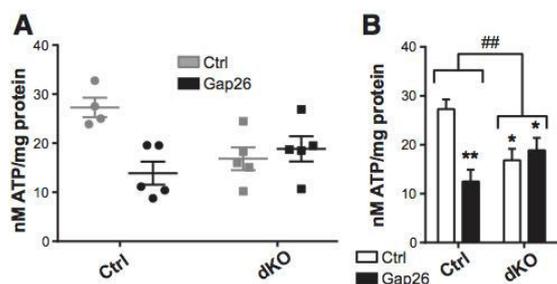


Figure 7. Cx43 hemichannel function increases extracellular ATP levels. **A**, Extracellular ATP levels measured by bioluminescence assays are shown for individual experiments ($n = 4, 5, 5$, and 5 in each condition, respectively). **B**, Group data and statistics. Blockade of Cx43 HCs with Gap26 in Cx30 KO (Ctrl) reduces ATP levels to a similar extent as Cx gene removal (dKO condition; $p = 0.69$, two-tailed Mann and Whitney U test; $p < 0.001$, one-way ANOVA followed by Newman–Keuls *post hoc* tests; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared to control without Gap26) but has no effect in dKO OB slices (* $p = 0.005$, two-way ANOVA, interaction).

neuronal spiking is blocked by TTX. TTX treatment itself decreased ATP levels compared to control, and the resulting ATP levels were not significantly different from ATP levels in the Gap26 condition (control, 39.49 ± 4.70 nM ATP/mg protein; TTX, 28.42 ± 5.16 nM ATP/mg protein; Gap26, 17.97 ± 4.37 nM ATP/mg protein; $n = 8$ independent experiments; repeated measures one-way ANOVA followed by Newman Keuls *post hoc* tests, $p = 0.001$). This result is consistent with our previous observation that TTX suppresses HC opening as assessed by EtBr uptake assays (Fig. 4E). Importantly, we also observed that TTX treatment occludes the suppressing effect of the Gap26 on ATP levels (21.98 ± 5.15 nM ATP/mg protein for TTX+Gap26 condition; repeated measures two-way ANOVA; interaction, $p = 0.04$). These results indicate that ATP release is associated with Cx43 HC activity in OB slices, as shown previously in other brain regions (Kang et al., 2008; Torres et al., 2012; Chever et al., 2014), and that at least part of the ATP release that relies on Cx43 HC opening is dependent on neuronal activity.

ATP is rapidly catabolized into adenosine by ectonucleotidases in the extracellular space (within ~ 200 ms; Dunwiddie et

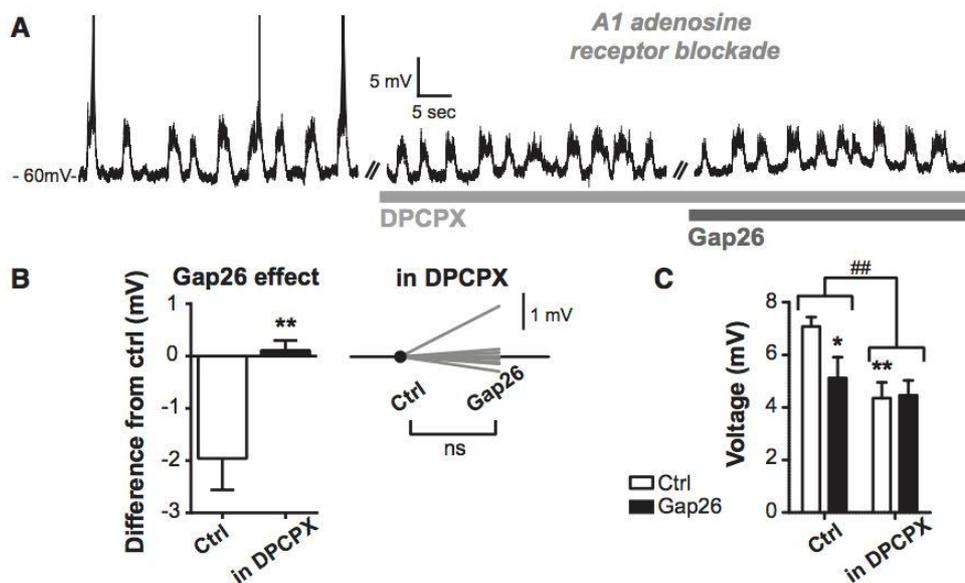


Figure 8. Connexin 43 hemichannels modulation of slow oscillations requires adenosine A1 receptor function. **A**, Example of MC recording with successive application of the adenosine A1 receptor blocker DPCPX, followed by Gap26 (combined to DPCPX). **B**, Left, Mean effect of Gap26 treatment on UP state amplitude, in presence or absence of DPCPX. $**p = 0.005$ (Mann and Whitney *U* test; $n = 8$ for both control and DPCPX conditions). Right, Effect of Gap26 treatment on UP state amplitude for individual cells in the presence of DPCPX ($p > 0.99$, two-tailed Wilcoxon matched-pairs signed rank test). **C**, Application of the adenosine A1 receptor antagonist DPCPX occluded the reducing effect of Gap26 on UP state amplitude in MCs. $*p = 0.01$ (effect of Gap26 compared to control condition, without DPCPX; two-tailed Wilcoxon matched-pairs signed rank test); $**p = 0.006$ (two-way ANOVA, interaction).

al., 1997) and purinergic signaling depends on a delicate balance between ATP and adenosine (Poskanzer and Yuste, 2011; Lohr et al., 2014). In the OB, the balance ATP/adenosine is likely in favor of adenosine since the ecto-5'-nucleotidase, an enzyme responsible for the dephosphorylation of AMP to adenosine (the last step of ATP conversion to adenosine), is highly expressed in this region (Langer et al., 2008). Thus, we questioned whether adenosine originating from astroglial ATP could be involved in the modulation of MC UP state amplitude mediated by Cx43 HCs.

Typically, adenosine can activate two main types of receptors, the A2A and A1 adenosine receptors, which have opposite effects on neuronal function: in most brain areas, A2A receptor activation is facilitating, whereas A1 receptor activation suppresses neuronal activity at the single cell level (Cunha, 2001). Both types of purinergic receptors are expressed in the OB (Dixon et al., 1996; Kaelin-Lang et al., 1999). We first tested the impact of A2 receptor activation on UP state amplitude by recording MCs in the presence of ZM 241385 (10 nM), an antagonist of A2 receptors. This treatment had no effect on MC UP state amplitude (4.80 ± 0.88 mV vs 4.78 ± 0.75 mV in control and ZM 241385 conditions, respectively; two-tailed Wilcoxon matched-pairs signed rank test, $p = 0.84$; $n = 6$ for both conditions), ruling out the involvement of A2 receptors in the modulation of UP states by Cx43 HCs. In contrast, we found that a blockade of A1 receptors with DPCPX (200 nM) reduced the amplitude of UP states (7.1 ± 0.4 mV, $n = 8$ vs 4.4 ± 0.6 mV, $n = 8$ for control and DPCPX conditions, respectively; Fig. 8A,C). This observation suggests that adenosine, of astroglial and/or neuronal origin, can increase UP state amplitude via A1 receptor activation.

To test whether adenosine A1 receptor activation is involved in the modulation of MC UP states via Cx43 HCs, we reiterated Gap26 experiments in Cx30 KO slices, but in the presence of DPCPX (Fig. 8A). We found that, in addition to a reducing effect

on UP state amplitude (Fig. 8C), DPCPX completely occludes the inhibition of MC UP state amplitude associated with Gap26 treatment (Fig. 8A,C), suggesting that A1 receptor activation is downstream to ATP/adenosine release through Cx43 HCs. Altogether, these observations indicate that astroglial Cx43 HCs control the level of extracellular ATP and that A1 receptor activation by its metabolite, adenosine, is a critical step in the modulation of MC slow oscillations by Cx43 HC activity.

Discussion

Spontaneous slow oscillations persist in OB acute slices, both at the single cell and network levels, as revealed by UP and DOWN states in MCs correlated with slow fluctuations in the glomerular LFPs. We show here that this spontaneous neuronal activity promotes the opening of Cx43 HCs in astrocytes. We further demonstrate that in turn, astroglial Cx43 HC activity controls extracellular ATP levels and impacts the amplitude of MC UP states via A1 receptor activation. Our results uncover a neuroglial dialog, where Cx43 HC function in astrocytes is both a target and a modulator of neuronal network function in the OB.

Astroglial connexin hemichannels, both targets and actors in neuroglial interactions

Hemichannel activity in astroglia has been described previously in pathological (Contreras et al., 2003; Retamal et al., 2007; Orellana et al., 2009; Abudara et al., 2015) and, more recently, in physiological conditions (Stehberg et al., 2012; Torres et al., 2012; Chever et al., 2014). Our results extend this knowledge by showing that HC opening in astrocytes, as well as their impact on extracellular ATP levels, depends on neuronal activity (Fig. 4E). The mechanism by which spontaneous neuronal activity promotes astroglial HC function may rely on the local decrease in

extracellular calcium induced by glutamatergic neuronal function, as shown in hippocampal slices (Torres et al., 2012).

Our observations indicate that, as opposed to HC function, gap junction-mediated communication plays a minor role with respect to the modulation of spontaneous OB slow oscillations. Indeed, the blockade of Cx43 HC activity per se, by applying Gap26 in Cx30 KO slices, was sufficient to totally mimic the reduction in MC UP state amplitude observed in dKO MCs, a condition where both HC and gap junction channel functions are disrupted. However, although this result rules out the contribution of Cx43-mediated gap junctional communication, it does not exclude a potential role played by Cx30. Interestingly, deleting the Cx30 gene, a condition that abolishes both Cx30 gap junction channel and HC functions, has no impact on MC UP state amplitude, suggesting that Cx30 is not involved in the modulation of MC slow oscillations. Furthermore, although the two Cxs have a similar contribution to astroglial gap junctional communication in the OB (Roux et al., 2011), Cx43 deletion impacts MC behavior, whereas Cx30 deletion does not. Finally, although astrocytes are able to communicate through gap junction channels in the Cx43 KO (Roux et al., 2011), UP state reduction in MCs is similar to that in the dKO, where astrocyte gap junctional communication is disrupted. Altogether, these observations indicate that gap junction channel function is not primarily involved in the modulation of MC UP states, as opposed to Cx43 HC function.

Astrocyte-derived purines modulate slow network dynamics

Our study indicates that the modulation exerted by Cx43 HCs requires functional adenosine A1 receptors. Indeed, like in other brain regions (Kang et al., 2008; Torres et al., 2012; Chever et al., 2014), astrocyte Cx43 HCs in the OB are responsible for ATP release. Previous data suggest that the conversion of ATP to adenosine is prominent in the OB compared to other brain regions (Langer et al., 2008). This feature suggests that adenosine plays a major role in the OB circuit function compared to ATP. Although we found that inhibiting Cx43 HC function reduces extracellular ATP levels, we cannot exclude that adenosine is directly released via Cx43 HCs, or that activation of Cx43 HCs induces a chain of cellular events resulting in the release of ATP/adenosine (Lovatt et al., 2012).

The importance of astrocyte-derived purines in the modulation of slow network rhythms has previously been highlighted in the neocortex, during sleep following sleep deprivation (Fellin et al., 2009; Halassa et al., 2009) or inflammatory stress (Nadjar et al., 2013), and in an *ex vivo* model of slow oscillations (Poskanzer and Yuste, 2011). Overall, these studies strongly suggest a role for astrocyte calcium-dependent vesicular release in the modulation of neocortical slow oscillations. Our study highlights an additional pathway that also involves astrocyte-derived purines, but relies on Cx43 HC-mediated gliotransmission and impacts slow oscillation amplitude: treatment with an A1 receptor antagonist reduces the amplitude of MC UP states per se, and blockade of Cx43 HCs has no effect when A1 receptors are inhibited. Altogether, these results indicate that although ATP/adenosine can also be released by neurons and other cell types (Brambilla et al., 2005; Lovatt et al., 2012; Lohr et al., 2014), astrocyte-derived adenosine is involved in slow oscillatory patterns in different neuronal circuits.

UP/DOWN states are driven by complex network interactions. Explaining the impact of adenosine receptors on such interactions by extrapolating the already known functions of adenosine receptors at the synaptic level is extremely difficult.

Nonetheless, since A1 is facilitating and A2 suppressing, one may hypothesize that the enhancement of UP states by adenosine is due to the facilitating A2 receptor activation or via the A1-receptor mediated suppression of inhibitory interneuron function (disinhibition; Ulrich and Huguenard, 1995; Olier and Poulain, 1999; Morairty et al., 2004). Our results indicate that A1-mediated disinhibition is most likely, although we cannot rule out a direct enhancement of the excitatory transmission by A1 receptor activation.

Mechanisms of UP state generation in the olfactory bulb

Two different mechanisms have been proposed to explain persistent activities and UP states in different brain areas, including the OB: one relies on intrinsic membrane properties (Heyward et al., 2001; Hayar et al., 2004b; Major and Tank, 2004), and the other involves self-sustained excitation mediated by recurrent activity and balanced by inhibition (Sanchez-Vives and McCormick, 2000; Shu et al., 2003). The OB circuit seems perfectly adapted to the second model: MCs associated with individual glomeruli form recurrent networks via dendrodendritic interactions and Cx36-based gap junctions (Isaacson, 1999; Schoppa and Westbrook, 2001; Urban and Sakmann, 2002; Christie et al., 2005; Christie and Westbrook, 2006), modulated by inhibitory inputs located in both the glomerular and the deeper layers (Lledo et al., 2005; Fukunaga et al., 2014). Our results argue in favor of a network-mediated mechanism, with a critical role for glomerular layer interactions: the frequency and amplitude of MC slow oscillations are not correlated with their membrane potential (Fig. 2A,B), which rules out a role played by MC intrinsic membrane properties, and the blockade of glutamatergic transmission inhibits MC UP state generation (Fig. 2D). While these observations point toward a network-generated process, our data are also compatible with a combination of the two aforementioned models (i.e., single cell and network mechanisms). Indeed, tufted cells are able to drive the glomerular circuit (Hayar et al., 2004a; De Saint Jan et al., 2009), and unlike MCs, they show spontaneous depolarizations in the slow frequency range, dependent on intrinsic membrane properties (Hayar et al., 2004b). Tufted cells intrinsic properties could thus generate the oscillation that drives the MC recurrent network in the slow oscillatory mode.

Intrinsic slow oscillations in olfactory bulb circuits: implications for sensory processing

In vivo, OB slow oscillations are thought to mainly result from the phasic inputs related to the respiratory cycle (Macrides and Chover, 1972; Cang and Isaacson, 2003). However, the persistence in the OB of slow oscillatory activities in acute slices (present study; Carlson et al., 2000; Puopolo and Belluzzi, 2001; Schoppa and Westbrook, 2001, 2002; Christie et al., 2005; Christie and Westbrook, 2006; De Saint Jan and Westbrook, 2007; De Saint Jan et al., 2009) or *in vivo* after tracheotomy (Ravel and Pager, 1990; Fontanini et al., 2003), pharmacological blockade of the sensory input (Stacic et al., 2011), or uncoupling from the respiratory cycle (Grosmaître et al., 2007) suggests that slow rhythmic activity is also intrinsic to OB circuits. *In vivo*, such intrinsic slow oscillations are likely entrained by rhythmic external stimuli that exhibit overlapping frequencies (Schoppa and Westbrook, 2001; Hayar et al., 2004b). Along these lines, transitions from UP to DOWN states can be triggered by external auditory stimuli in the auditory cortex under anesthesia (Gao et al., 2009). Such a strategy (“synchronization of pulse-coupled biological oscillators”; Mirolo and Strogatz, 1990) is known to optimize energy costs for the generation of oscillatory activity (Buzsáki, 2006).

In the OB, we found that the reduced MC UP state amplitude in mice lacking both astroglial Cx43 is associated with lower UP state firing rates compared to WT MCs. *In vivo*, the amplitude of the depolarization during UP states could play a critical role in controlling the gain of sensory responses (Castro-Alamancos, 2009): by bringing excitatory inputs closer to the firing threshold, UP states could increase the probability of olfactory sensory inputs to evoke a spike in the target MCs (but see Reig et al., 2015). Therefore, when astroglial Cx43 HCs are active, MC responses to weak stimuli may be facilitated, as well as the transmission of information to downstream areas.

Taken as a whole, this study shows that OB astrocytes, via activity-dependent Cx43 HC function, are able to modulate MC UP state amplitude. The bidirectional interaction between astrocytes and neuronal circuits described herein may be crucial in determining the gain of olfactory inputs and thus contribute to olfactory information processing.

References

- Abudara V, Roux L, Dallérac G, Matias I, Dulong J, Mothet JP, Rouach N, Giaume C (2015) Activated microglia impairs neuroglial interaction by opening Cx43 hemichannels in hippocampal astrocytes. *Glia* 63:795–811. CrossRef Medline
- Agulhon C, Fiocco TA, McCarthy KD (2010) Hippocampal short- and long-term plasticity are not modulated by astrocyte Ca²⁺ signaling. *Science* 327:1250–1254. CrossRef Medline
- Amzica F, Massimini M, Manfredi A (2002) Spatial buffering during slow and paroxysmal sleep oscillations in cortical networks of glial cells *in vivo*. *J Neurosci* 22:1042–1053. Medline
- Angulo MC, Kozlov AS, Charpak S, Audinat E (2004) Glutamate released from glial cells synchronizes neuronal activity in the hippocampus. *J Neurosci* 24:6920–6927. CrossRef Medline
- Araque A, Carmignoto G, Haydon PG, Oliet SH, Robitaille R, Volterra A (2014) Gliotransmitters travel in time and space. *Neuron* 81:728–739. CrossRef Medline
- Aroniadou-Anderjaska V, Ennis M, Shipley MT (1999a) Current-source density analysis in the rat olfactory bulb: laminar distribution of kainate/AMPA- and NMDA-receptor-mediated currents. *J Neurophysiol* 81:15–28. Medline
- Aroniadou-Anderjaska V, Ennis M, Shipley MT (1999b) Dendrodendritic recurrent excitation in mitral cells of the rat olfactory bulb. *J Neurophysiol* 82:489–494. Medline
- Bailey MS, Shipley MT (1993) Astrocyte subtypes in the rat olfactory bulb: morphological heterogeneity and differential laminar distribution. *J Comp Neurol* 328:501–526. CrossRef Medline
- Barres BA (2008) The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron* 60:430–440. CrossRef Medline
- Bennett MV, Contreras JE, Bukauskas FF, Sáez JC (2003) New roles for astrocytes: gap junction hemichannels have something to communicate. *Trends Neurosci* 26:610–617. CrossRef Medline
- Bergersen LH, Morland C, Ormel L, Rinholm JE, Larsson M, Wold JF, Røe AT, Stranna A, Santello M, Bouvier D, Ottersen OP, Volterra A, Gundersen V (2012) Immunogold detection of L-glutamate and D-serine in small synaptic-like microvesicles in adult hippocampal astrocytes. *Cereb Cortex* 22:1690–1697. CrossRef Medline
- Bezzi P, Gundersen V, Galbete JL, Seifert G, Steinhäuser C, Pilati E, Volterra A (2004) Astrocytes contain a vesicular compartment that is competent for regulated exocytosis of glutamate. *Nat Neurosci* 7:613–620. CrossRef Medline
- Brambilla D, Chapman D, Greene R (2005) Adenosine mediation of presynaptic feedback inhibition of glutamate release. *Neuron* 46:275–283. CrossRef Medline
- Buzsáki G (2006) *Rhythms of the brain*. Oxford UP: New York.
- 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. Medline
- Carlson GC, Shipley MT, Keller A (2000) Long-lasting depolarizations in mitral cells of the rat olfactory bulb. *J Neurosci* 20:2011–2021. Medline
- Castro-Alamancos MA (2009) Cortical up and activated states: implications for sensory information processing. *Neuroscientist* 15:625–634. CrossRef Medline
- Chauvette S, Volgushev M, Timofeev I (2010) Origin of active states in local neocortical networks during slow sleep oscillation. *Cereb Cortex* 20:2660–2674. CrossRef Medline
- Chaytor AT, Evans WH, Griffith TM (1997) Peptides homologous to extracellular loop motifs of connexin 43 reversibly abolish rhythmic contractile activity in rabbit arteries. *J Physiol* 503:99–110. CrossRef Medline
- Chever O, Lee CY, Rouach N (2014) Astroglial connexin43 hemichannels tune Basal excitatory synaptic transmission. *J Neurosci* 34:11228–11232. CrossRef Medline
- Chiu K, Greer CA (1996) Immunocytochemical analyses of astrocyte development in the olfactory bulb. *Brain Res Dev Brain Res* 95:28–37. CrossRef Medline
- Christie JM, Westbrook GL (2006) Lateral excitation within the olfactory bulb. *J Neurosci* 26:2269–2277. CrossRef Medline
- 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. CrossRef Medline
- Contreras JE, Sáez JC, Bukauskas FF, Bennett MV (2003) Gating and regulation of connexin 43 (Cx43) hemichannels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:11388–11393. CrossRef Medline
- Cotrina ML, Lin JH, Alves-Rodrigues A, Liu S, Li J, Azmi-Ghadimi H, Kang J, Naus CC, Nedergaard M (1998) Connexins regulate calcium signaling by controlling ATP release. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:15735–15740. CrossRef Medline
- Crochet S, Petersen CC (2006) Correlating whisker behavior with membrane potential in barrel cortex of awake mice. *Nat Neurosci* 9:608–610. CrossRef Medline
- Crunelli V, Hughes SW (2010) The slow (<1 Hz) rhythm of non-REM sleep: a dialogue between three cardinal oscillators. *Nat Neurosci* 13:9–17. CrossRef Medline
- Cunha RA (2001) Adenosine as a neuromodulator and as a homeostatic regulator in the nervous system: different roles, different sources and different receptors. *Neurochem Int* 38:107–125. CrossRef Medline
- De Saint Jan D, Westbrook GL (2005) Detecting activity in olfactory bulb glomeruli with astrocyte recording. *J Neurosci* 25:2917–2924. CrossRef Medline
- De Saint Jan D, Westbrook GL (2007) Disynaptic amplification of metabotropic glutamate receptor 1 responses in the olfactory bulb. *J Neurosci* 27:132–140. CrossRef Medline
- De Saint Jan D, Hirnet D, Westbrook GL, Charpak S (2009) External tufted cells drive the output of olfactory bulb glomeruli. *J Neurosci* 29:2043–2052. CrossRef Medline
- Desplantez T, Verma V, Leybaert L, Evans WH, Weingart R (2012) Gap26, a connexin mimetic peptide, inhibits currents carried by connexin43 hemichannels and gap junction channels. *Pharmacol Res* 65:546–552. CrossRef Medline
- Didier A, Carleton A, Bjaalie JG, Vincent JD, Ottersen OP, Storm-Mathisen J, Lledo PM (2001) A dendrodendritic reciprocal synapse provides a recurrent excitatory connection in the olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:6441–6446. CrossRef Medline
- Dixon AK, Gubitza AK, Sirinathsinghji DJ, Richardson PJ, Freeman TC (1996) Tissue distribution of adenosine receptor mRNAs in the rat. *Br J Pharmacol* 118:1461–1468. CrossRef Medline
- Dunwiddie TV, Diao L, Proctor WR (1997) Adenine nucleotides undergo rapid, quantitative conversion to adenosine in the extracellular space in rat hippocampus. *J Neurosci* 17:7673–7682. Medline
- Fellin T, Halassa MM, Terunuma M, Succol F, Takano H, Frank M, Moss SJ, Haydon PG (2009) Endogenous nonneuronal modulators of synaptic transmission control cortical slow oscillations *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:15037–15042. CrossRef Medline
- Fiocco TA, Agulhon C, Taves SR, Petravic J, Casper KB, Dong X, Chen J, McCarthy KD (2007) Selective stimulation of astrocyte calcium *in situ* does not affect neuronal excitatory synaptic activity. *Neuron* 54:611–626. CrossRef Medline
- 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. Medline
- Fujita T, Chen MJ, Li B, Smith NA, Peng W, Sun W, Toner MJ, Kress BT, Wang L, Benraiss A, Takano T, Wang S, Nedergaard M (2014) Neuronal

- transgene expression in dominant-negative SNARE mice. *J Neurosci* 34:16594–16604. [CrossRef Medline](#)
- Fukunaga I, Herb JT, Kollo M, Boyden ES, Schaefer AT (2014) Independent control of gamma and theta activity by distinct interneuron networks in the olfactory bulb. *Nat Neurosci* 17:1208–1216. [CrossRef Medline](#)
- Gao L, Meng X, Ye C, Zhang H, Liu C, Dan Y, Poo MM, He J, Zhang X (2009) Entrainment of slow oscillations of auditory thalamic neurons by repetitive sound stimuli. *J Neurosci* 29:6013–6021. [CrossRef Medline](#)
- Giaume C, Theis M (2010) Pharmacological and genetic approaches to study connexin-mediated channels in glial cells of the central nervous system. *Brain Res Rev* 63:160–176. [CrossRef Medline](#)
- Giaume C, Koulakoff A, Roux L, Holzman D, Rouach N (2010) Astroglial networks: a step further in neuroglial and gliovascular interactions. *Nat Rev Neurosci* 11:87–99. [CrossRef Medline](#)
- Giaume C, Orellana JA, Abudara V, Sáez JC (2012) Connexin-based channels in astrocytes: how to study their properties. *Methods Mol Biol* 814:283–303. [CrossRef Medline](#)
- Giaume C, Leybaert L, Naus CC, Sáez JC (2013) Connexin and pannexin hemichannels in brain glial cells: properties, pharmacology, and roles. *Front Pharmacol* 4:88. [Medline](#)
- 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. [CrossRef Medline](#)
- Gurden H, Uchida N, Mainen ZF (2006) Sensory-evoked intrinsic optical signals in the olfactory bulb are coupled to glutamate release and uptake. *Neuron* 52:335–345. [CrossRef Medline](#)
- Halassa MM, Florian C, Fellin T, Munoz JR, Lee SY, Abel T, Haydon PG, Frank MG (2009) Astrocytic modulation of sleep homeostasis and cognitive consequences of sleep loss. *Neuron* 61:213–219. [CrossRef Medline](#)
- Hamilton NB, Attwell D (2010) Do astrocytes really exocytose neurotransmitters? *Nat Rev Neurosci* 11:227–238. [CrossRef Medline](#)
- Hayar A, Karnup S, Ennis M, Shipley MT (2004a) External tufted cells: a major excitatory element that coordinates glomerular activity. *J Neurosci* 24:6676–6685. [CrossRef Medline](#)
- Hayar A, Karnup S, Shipley MT, Ennis M (2004b) Olfactory bulb glomeruli: external tufted cells intrinsically burst at theta frequency and are entrained by patterned olfactory input. *J Neurosci* 24:1190–1199. [CrossRef Medline](#)
- Heyward P, Ennis M, Keller A, Shipley MT (2001) Membrane bistability in olfactory bulb mitral cells. *J Neurosci* 21:5311–5320. [Medline](#)
- Iglesias R, Dahl G, Qiu F, Spray DC, Scemes E (2009) Pannexin 1: the molecular substrate of astrocyte “hemichannels.” *J Neurosci* 29:7092–7097. [CrossRef](#)
- Isaacson JS (1999) Glutamate spillover mediates excitatory transmission in the rat olfactory bulb. *Neuron* 23:377–384. [CrossRef Medline](#)
- Jourdain P, Bergersen LH, Bhaukaurally K, Bezzi P, Santello M, Domercq M, Matute C, Tonello F, Gundersen V, Volterra A (2007) Glutamate exocytosis from astrocytes controls synaptic strength. *Nat Neurosci* 10:331–339. [CrossRef Medline](#)
- Kaelin-Lang A, Lauterburg T, Burgunder JM (1999) Expression of adenosine A2a receptors gene in the olfactory bulb and spinal cord of rat and mouse. *Neurosci Lett* 261:189–191. [CrossRef Medline](#)
- Kang J, Kang N, Lovatt D, Torres A, Zhao Z, Lin J, Nedergaard M (2008) Connexin 43 hemichannels are permeable to ATP. *J Neurosci* 28:4702–4711. [CrossRef Medline](#)
- Karnup SV, Hayar A, Shipley MT, Kurnikova MG (2006) Spontaneous field potentials in the glomeruli of the olfactory bulb: the leading role of juxtglomerular cells. *Neuroscience* 142:203–221. [CrossRef Medline](#)
- Langer D, Hammer K, Koszalka P, Schrader J, Robson S, Zimmermann H (2008) Distribution of ectonucleotidases in the rodent brain revisited. *Cell Tissue Res* 334:199–217. [CrossRef Medline](#)
- Lee HS, Ghetti A, Pinto-Duarte A, Wang X, Dzieczwzapski G, Galimi F, Huitron-Resendiz S, Piña-Crespo JC, Roberts AJ, Verma IM, Sejnowski TJ, Heinemann SF (2014) Astrocytes contribute to gamma oscillations and recognition memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E3343–E3352. [CrossRef Medline](#)
- Li D, Héralut K, Silm K, Evrard A, Wojcik S, Oheim M, Herzog E, Ropert N (2013) Lack of evidence for vesicular glutamate transporter expression in mouse astrocytes. *J Neurosci* 33:4434–4455. [CrossRef Medline](#)
- Lledo PM, Gheusi G, Vincent JD (2005) Information processing in the mammalian olfactory system. *Physiol Rev* 85:281–317. [CrossRef Medline](#)
- Lohr C, Grosche A, Reichenbach A, Hirnet D (2014) Purinergic neuron-glia interactions in sensory systems. *Pflügers Arch* 466:1859–1872. [CrossRef Medline](#)
- Lovatt D, Xu Q, Liu W, Takano T, Smith NA, Schnermann J, Tieu K, Nedergaard M (2012) Neuronal adenosine release, and not astrocytic ATP release, mediates feedback inhibition of excitatory activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:6265–6270. [CrossRef Medline](#)
- Lutz SE, Zhao Y, Gulino M, Lee SC, Raine CS, Brosnan CF (2009) Deletion of astrocyte connexins 43 and 30 leads to a dysmyelinating phenotype and hippocampal CA1 vacuolation. *J Neurosci* 29:7743–7752. [CrossRef Medline](#)
- Macrides F, Chorover SL (1972) Olfactory bulb units: activity correlated with inhalation cycles and odor quality. *Science* 175:84–87. [CrossRef Medline](#)
- Major G, Tank D (2004) Persistent neural activity: prevalence and mechanisms. *Curr Opin Neurobiol* 14:675–684. [CrossRef Medline](#)
- Mirrollo RE, Strogatz SH (1990) Synchronization of pulse-coupled biological oscillators. *SIAM J Appl Math* 50:1645–1662. [CrossRef](#)
- Morairty S, Rainnie D, McCarley R, Greene R (2004) Disinhibition of ventrolateral preoptic area sleep-active neurons by adenosine: a new mechanism for sleep promotion. *Neuroscience* 123:451–457. [CrossRef Medline](#)
- Nadjar A, Blutstein T, Aubert A, Laye S, Haydon PG (2013) Astrocyte-derived adenosine modulates increased sleep pressure during inflammatory response. *Glia* 61:724–731. [CrossRef Medline](#)
- Nedergaard M, Verkhratsky A (2012) Artifact versus reality—how astrocytes contribute to synaptic events. *Glia* 60:1013–1023. [CrossRef Medline](#)
- Oliet SH, Poulain DA (1999) Adenosine-induced presynaptic inhibition of IPSCs and EPSCs in rat hypothalamic supraoptic nucleus neurons. *J Physiol* 520:815–825. [CrossRef Medline](#)
- Orellana JA, Sáez PJ, Shoji KF, Schalper KA, Palacios-Prado N, Velarde V, Giaume C, Bennett MV, Sáez JC (2009) Modulation of brain hemichannels and gap junction channels by pro-inflammatory agents and their possible role in neurodegeneration. *Antioxid Redox Signal* 11:369–399. [CrossRef Medline](#)
- Pannasch U, Vargová L, Reingruber J, Ezan P, Holzman D, Giaume C, Syková E, Rouach N (2011) Astroglial networks scale synaptic activity and plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:8467–8472. [CrossRef Medline](#)
- Pannasch U, Freche D, Dallérac G, Ghézali G, Escartin C, Ezan P, Cohen-Salmon M, Benchenane K, Abudara V, Dufour A, Lübke JH, Déglon N, Knott G, Holzman D, Rouach N (2014) Connexin 30 sets synaptic strength by controlling astroglial synapse invasion. *Nat Neurosci* 17:549–558. [CrossRef Medline](#)
- Pascual O, Casper KB, Kubera C, Zhang J, Revilla-Sanchez R, Sul JY, Takano H, Moss SJ, McCarthy K, Haydon PG (2005) Astrocytic purinergic signaling coordinates synaptic networks. *Science* 310:113–116. [CrossRef Medline](#)
- Pellerin L, Magistretti PJ (2012) Sweet sixteen for ANLS. *J Cereb Blood Flow Metab* 32:1152–1166. [CrossRef Medline](#)
- Petravicz J, Fiacco TA, McCarthy KD (2008) Loss of IP3 receptor-dependent Ca²⁺ increases in hippocampal astrocytes does not affect baseline CA1 pyramidal neuron synaptic activity. *J Neurosci* 28:4967–4973. [CrossRef Medline](#)
- Pimentel DO, Margrie TW (2008) Glutamatergic transmission and plasticity between olfactory bulb mitral cells. *J Physiol* 586:2107–2119. [CrossRef Medline](#)
- Poskanzer KE, Yuste R (2011) Astrocytic regulation of cortical UP states. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:18453–18458. [CrossRef Medline](#)
- Puopolo M, Belluzzi O (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. [CrossRef Medline](#)
- Ravel N, Pager J (1990) Respiratory patterning of the rat olfactory bulb unit activity: nasal versus tracheal breathing. *Neurosci Lett* 115:213–218. [CrossRef Medline](#)
- Reig R, Zerlaut Y, Vergara R, Destexhe A, Sanchez-Vives MV (2015) Gain modulation of synaptic inputs by network state in auditory cortex *in vivo*. *J Neurosci* 35:2689–2702. [CrossRef Medline](#)
- Retamal MA, Froger N, Palacios-Prado N, Ezan P, Sáez PJ, Sáez JC, Giaume C (2007) Cx43 hemichannels and gap junction channels in astrocytes are regulated oppositely by proinflammatory cytokines released from activated microglia. *J Neurosci* 27:13781–13792. [CrossRef Medline](#)
- Rouach N, Koulakoff A, Abudara V, Willecke K, Giaume C (2008) Astroglial metabolic networks sustain hippocampal synaptic transmission. *Science* 322:1551–1555. [CrossRef Medline](#)

- Roux L, Benchenane K, Rothstein JD, Bonvento G, Giaume C (2011) Plasticity of astroglial networks in olfactory glomeruli. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:18442–18446. CrossRef Medline
- Salin PA, Lledo PM, Vincent JD, Charpak S (2001) Dendritic glutamate autoreceptors modulate signal processing in rat mitral cells. *J Neurophysiol* 85:1275–1282. Medline
- Sanchez-Vives MV, McCormick DA (2000) Cellular and network mechanisms of rhythmic recurrent activity in neocortex. *Nat Neurosci* 3:1027–1034. CrossRef Medline
- Schoppa NE, Westbrook GL (2001) Glomerulus-specific synchronization of mitral cells in the olfactory bulb. *Neuron* 31:639–651. CrossRef Medline
- Schoppa NE, Westbrook GL (2002) AMPA autoreceptors drive correlated spiking in olfactory bulb glomeruli. *Nat Neurosci* 5:1194–1202. CrossRef Medline
- Seamari Y, Narváez JA, Vico FJ, Lobo D, Sanchez-Vives MV (2007) Robust off- and online separation of intracellularly recorded up and down cortical states. *PLoS One* 2:e888. CrossRef Medline
- Shu Y, Hasenstaub A, McCormick DA (2003) Turning on and off recurrent balanced cortical activity. *Nature* 423:288–293. CrossRef Medline
- Sirota A, Buzsáki G (2005) Interaction between neocortical and hippocampal networks via slow oscillations. *Thalamus Relat Syst* 3:245–259. CrossRef Medline
- Stakic J, Suchanek JM, Ziegler GP, Griff ER (2011) The source of spontaneous activity in the main olfactory bulb of the rat. *PLoS One* 6:e23990. CrossRef Medline
- Stehberg J, Moraga-Amaro R, Salazar C, Becerra A, Echeverría C, Orellana JA, Bultynck G, Ponsaerts R, Leybaert L, Simon F, Sáez JC, Retamal MA (2012) Release of gliotransmitters through astroglial connexin 43 hemichannels is necessary for fear memory consolidation in the basolateral amygdala. *FASEB J* 26:3649–3657. CrossRef Medline
- Steriade M, Nuñez A, Amzica F (1993) A novel slow (<1 Hz) oscillation of neocortical neurons *in vivo*: depolarizing and hyperpolarizing components. *J Neurosci* 13:3252–3265. Medline
- Teubner B, Michel V, Pesch J, Lautermann J, Cohen-Salmon M, Söhl G, Jahnke K, Winterhager E, Herberhold C, Hardelin JP, Petit C, Willecke K (2003) Connexin30 (Gjb6)-deficiency causes severe hearing impairment and lack of endocochlear potential. *Hum Mol Genet* 12:13–21. CrossRef Medline
- Theis M, Jauch R, Zhuo L, Speidel D, Wallraff A, Döring B, Frisch C, Söhl G, Teubner B, Euwens C, Huston J, Steinhäuser C, Messing A, Heinemann U, Willecke K (2003) Accelerated hippocampal spreading depression and enhanced locomotory activity in mice with astrocyte-directed inactivation of connexin43. *J Neurosci* 23:766–776. Medline
- Timofeev I, Grenier F, Bazhenov M, Sejnowski TJ, Steriade M (2000) Origin of slow cortical oscillations in deafferented cortical slabs. *Cereb Cortex* 10:1185–1199. CrossRef Medline
- Torres A, Wang F, Xu Q, Fujita T, Dobrowolski R, Willecke K, Takano T, Nedergaard M (2012) Extracellular Ca²⁺(+) acts as a mediator of communication from neurons to glia. *Sci Signal* 5:ra8. Medline
- Ulrich D, Huguenard JR (1995) Purinergic inhibition of GABA and glutamate release in the thalamus: implications for thalamic network activity. *Neuron* 15:909–918. CrossRef Medline
- 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. CrossRef Medline
- Wallraff A, Köhling R, Heinemann U, Theis M, Willecke K, Steinhäuser C (2006) The impact of astrocytic gap junctional coupling on potassium buffering in the hippocampus. *J Neurosci* 26:5438–5447. CrossRef Medline
- Wang N, De Bock M, Antoons G, Gadicherla AK, Bol M, Decrock E, Evans WH, Sipido KR, Bukauskas FF, Leybaert L (2012) Connexin mimetic peptides inhibit Cx43 hemichannel opening triggered by voltage and intracellular Ca²⁺ elevation. *Basic Res Cardiol* 107:304. CrossRef Medline

Bibliographie

- Achermann, P. & Borbély, A.A. (1997) Low-frequency (< 1 Hz) oscillations in the human sleep electroencephalogram. *Neuroscience*, **81**, 213–222.
- Allen, N.J. & Barres, B. a (2009) Neuroscience: Glia - more than just brain glue. *Nature*, **457**, 675–677.
- Allison, T. & Cicchetti, D. (1976) Sleep in mammals: ecological and constitutional correlates. *Science (80-)*, **194**, 732–734.
- Amaral, D.G. & Witter, M.P. (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data. *Neuroscience*, **31**, 571–591.
- Amzica, F. (2010) Comment on “The Human K-Complex Represents an Isolated Cortical Down-State.” *Science (80-)*, **330**, 35–35.
- Amzica, F. & Steriade, M. (1998) Electrophysiological correlates of sleep delta waves. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **107**, 69–83.
- Amzica, F. & Steriade, M. (2002) The functional significance of K-complexes. *Sleep Med. Rev.*, **6**, 139–149.
- Araki, H., Yamamoto, T., Watanabe, S., & Ueki, S. (1980) Changes in Sleep-Wakefulness Pattern Following Bilateral Olfactory Bulbectomy in Rats. *Physiol. Behav.*, **24**, 73–78.
- Arzi, A., Shedlesky, L., Ben-Shaul, M., Nasser, K., Oksenberg, A., Hairston, I.S., & Sobel, N. (2012) Humans can learn new information during sleep. *Nat. Neurosci.*, **15**, 1460–1465.
- Aston-Jones, G. & Bloom, F.E. (1981) Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J. Neurosci.*, **1**, 876–886.
- Astori, S., Wimmer, R.D., & Lüthi, A. (2013) Manipulating sleep spindles--expanding views on sleep, memory, and disease. *Trends Neurosci.*, **36**, 738–748.
- Axmacher, N., Elger, C.E., & Fell, J. (2008) Ripples in the medial temporal lobe are relevant for human memory consolidation. *Brain*, **131**, 1806–1817.
- Balleine, B.W. & Dickinson, A. (1998) Goal-directed instrumental action: Contingency and incentive learning and their cortical substrates. In *Neuropharmacology*. pp. 407–419.
- Bartsch, R.P., Schumann, A.Y., Kantelhardt, J.W., Penzel, T., & Ivanov, P.C. (2012) Phase transitions in physiologic coupling. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **109**, 10181–10186.
- Bechara, A., Tranel, D., Damasio, H., Adolphs, R., Rockland, C., & Damasio, A.R. (1995) Double dissociation of conditioning and declarative knowledge relative to the amygdala and hippocampus in humans. *Science*, **269**, 1115–1118.
- Benchenane, K., Peyrache, A., Khamassi, M., Tierney, P.L., Gioanni, Y., Battaglia, F.P., & Wiener, S.I. (2010) Coherent Theta Oscillations and Reorganization of Spike Timing in the Hippocampal-Prefrontal Network upon Learning. *Neuron*, **66**, 921–936.
- Benington, J.H. (2002) Debating how REM sleep is regulated (and by what). *J. Sleep Res.*, **11**, 29–31.
- Benington, J.H. & Heller, H.C. (1994) Does the function of REM sleep concern non-REM sleep or waking? *Prog. Neurobiol.*, **44**, 433–449.
- Benoit, O., Foret, J., Bouard, G., Merle, B., Landau, J., & Marc, M.E. (1980) Habitual sleep length and patterns of recovery sleep after 24 hour and 36 hour sleep deprivation. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **50**, 477–485.
- Bergmann, B.M., Winter, J.B., Rosenberg, R.S., & Rechtschaffen, a (1987) NREM sleep with low-voltage EEG in the rat. *Sleep*, **10**, 1–11.
- Bi, G.Q. & Poo, M.M. (1998) Synaptic modifications in cultured hippocampal neurons: dependence on spike timing, synaptic strength, and postsynaptic cell type. *J. Neurosci.*, **18**, 10464–10472.
- Bianchi, A.L. & Gestreau, C. (2009) The brainstem respiratory network: An overview of a half century of research. *Respir. Physiol. Neurobiol.*, **168**, 4–12.

- Bittner, K.C., Grienberger, C., Vaidya, S.P., Milstein, A.D., Macklin, J.J., Suh, J., Tonegawa, S., & Magee, J.C. (2015) Conjunctive input processing drives feature selectivity in hippocampal CA1 neurons. *Nat. Neurosci.*, **18**, 1–13.
- Bliss, T. V & Collingridge, G.L. (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, **361**, 31–39.
- Bliss, T. V & Lomo, T. (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.*, **232**, 331–356.
- Borbely, A.A. (1982) A two process model of sleep regulation. *Hum. Neurobiol.*, **1**, 195–204.
- Braun, a R., Balkin, T.J., Wesenten, N.J., Carson, R.E., Varga, M., Baldwin, P., Selbie, S., Belenky, G., & Herscovitch, P. (1997) Regional cerebral blood flow throughout the sleep-wake cycle. An H2(15)O PET study. *Brain*, **120** (Pt 7), 1173–1197.
- Bremer, F. (1935) Cerveau “isolé” et physiologie du sommeil. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.*, **118**, 1235–1241.
- Bromley, S.M. (2000) Smell and taste disorders: a primary care approach. *Am. Fam. Physician*, **61**, 427–436,438.
- Brown, M.T.C., Tan, K.R., O’Connor, E.C., Nikonenko, I., Muller, D., & Lüscher, C. (2012) Ventral tegmental area GABA projections pause accumbal cholinergic interneurons to enhance associative learning. *Nature*, **492**, 452–456.
- Brown, R.E., Basheer, R., McKenna, J.T., Strecker, R.E., & McCarley, R.W. (2012) Control of Sleep and Wakefulness. *Physiol. Rev.*, **92**, 1087–1187.
- Bruce, D. (2001) Fifty years since Lashley’s In search of the Engram: refutations and conjectures. *J. Hist. Neurosci.*, **10**, 308–318.
- Bryant, P. a, Trinder, J., & Curtis, N. (2004) Sick and tired: Does sleep have a vital role in the immune system? *Nat. Rev. Immunol.*, **4**, 457–467.
- Buonviso, N., Amat, C., & Litaudon, P. (2006) Respiratory modulation of olfactory neurons in the rodent brain. *Chem. Senses*, **31**, 145–154.
- Buonviso, N., Amat, C., Litaudon, P., Roux, S., Royet, J.-P., 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.
- Buzsáki, G. (1989) Two-stage model of memory trace formation: A role for “noisy” brain states. *Neuroscience*, **31**, 551–570.
- Buzsáki, G. (2002) Theta Oscillations in the Hippocampus. *Neuron*, **33**, 325–340.
- Buzsáki, G., Anastassiou, C. a, & Koch, C. (2012) The origin of extracellular fields and currents--EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nat. Rev. Neurosci.*, **13**, 407–420.
- Buzsáki, G., Horváth, Z., Urioste, R., Hetke, J., & Wise, K. (1992) High-frequency network oscillation in the hippocampus. *Science*, **256**, 1025–1027.
- Buzsáki, G., Peyrache, A., & Kubie, J. (2014) Emergence of Cognition from Action. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **79**, 41–50.
- Campbell, K.B. & Colrain, I.M. (2002) Event-related potential measures of the inhibition of information processing: II. The sleep onset period. *Int. J. Psychophysiol.*, **46**, 197–214.
- Canbeyli, R. (2010) Sensorimotor modulation of mood and depression: an integrative review. *Behav. Brain Res.*, **207**, 249–264.
- Caraskadon, M.A. & Dement, W.C. (1980) Distribution of REM Sleep on a 90 Minute Sleep-Wake Schedule. *Sleep*, **2**, 309–317.
- Cash, S.S., Halgren, E., Dehghani, N., Rossetti, A.O., Thesen, T., Wang, C., Devinsky, O., Kuzniecky, R., Doyle, W., Madsen, J.R., Bromfield, E., Eross, L., Halasz, P., Karmos, G., Csercsa, R., Wittner, L., & Ulbert, I. (2009) The Human K-Complex Represents an Isolated Cortical Down-State. *Science* (80-.), **324**, 1084–1087.

Bibliographie

- Cash, S.S., Halgren, E., Dehghani, N., Rossetti, A.O., Thesen, T., Wang, C., Devinsky, O., Kuzniecky, R., Doyle, W., Madsen, J.R., Eross, L., Halasz, P., Karmos, G., Csercsa, R., Wittner, L., & Ulbert, I. (2010) Response to Comment on “The Human K-Complex Represents an Isolated Cortical Down-State.” *Science (80-.)*, **330**, 35–35.
- Cenier, 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.
- Chrobak, J.J. & Buzsáki, G. (1996) High-frequency oscillations in the output networks of the hippocampal-entorhinal axis of the freely behaving rat. *J. Neurosci.*, **16**, 3056–3066.
- Clayton, N.S. & Dickinson, a (1998) Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature*, **395**, 272–274.
- Clemens, Z., Fabó, D., & Halász, P. (2005) Overnight verbal memory retention correlates with the number of sleep spindles. *Neuroscience*, **132**, 529–535.
- Clemens, Z., Molle, M., Eross, L., Barsi, P., Halasz, P., Born, J., Mölle, M., Eross, L., Barsi, P., Halász, P., Born, J., Molle, M., Eross, L., Barsi, P., Halasz, P., & Born, J. (2007) Temporal coupling of parahippocampal ripples, sleep spindles and slow oscillations in humans. *Brain*, **130**, 2868–2878.
- Contreras, D., Destexhe, A., Sejnowski, T.J., & Steriade, M. (1996) Control of spatiotemporal coherence of a thalamic oscillation by corticothalamic feedback. *Science*, **274**, 771–774.
- Contreras, D. & Steriade, M. (1995) Cellular basis of EEG slow rhythms: a study of dynamic corticothalamic relationships. *J. Neurosci.*, **15**, 604–622.
- Corsi-Cabrera, M., Figueredo-Rodríguez, P., del Río-Portilla, Y., Sánchez-Romero, J., Galán, L., & Bosch-Bayard, J. (2012) Enhanced frontoparietal synchronized activation during the wake-sleep transition in patients with primary insomnia. *Sleep*, **35**, 501–511.
- Czarnecki, A., Birtoli, B., & Ulrich, D. (2007) Cellular mechanisms of burst firing-mediated long-term depression in rat neocortical pyramidal cells. *J. Physiol.*, **578**, 471–479.
- Dauvilliers, Y. & Billiard, M. (2004) Aspects du sommeil normal. *EMC - Neurol.*, **1**, 458–480.
- Davis, C.J., Dunbrasky, D., Oonk, M., Taishi, P., Opp, M.R., & Krueger, J.M. (2014) The neuron-specific interleukin-1 receptor accessory protein is required for homeostatic sleep and sleep responses to influenza viral challenge in mice. *Brain. Behav. Immun.*, **47**, 35–43.
- Dement, W. & Kleitman, N. (1957) Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility, and dreaming. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **9**, 673–690.
- Destexhe, a & Sejnowski, T.J. (2003) Interactions between membrane conductances underlying thalamocortical slow-wave oscillations. *Physiol. Rev.*, **83**, 1401–1453.
- Diba, K. & Buzsáki, G. (2007) Forward and reverse hippocampal place-cell sequences during ripples. *Nat. Neurosci.*, **10**, 1241–1242.
- Dickinson, A. & Balleine, B. (1994) Motivational control of goal-directed action. *Anim. Learn. Behav.*, **22**, 1–18.
- Diekelmann, S. & Born, J. (2010) The memory function of sleep. *Nat. Rev. Neurosci.*, **11**, 114–126.
- Dudai, Y. (2004) The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu. Rev. Psychol.*, **55**, 51–86.
- Duncan, C.P. (1949) The retroactive effect of electroshock on learning. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **42**, 32–44.
- Dupret, D., O’Neill, J., Pleydell-Bouverie, B., & Csicsvari, J. (2010) The reorganization and reactivation of hippocampal maps predict spatial memory performance. *Nat. Neurosci.*, **13**, 995–1002.
- Ego-Stengel, V. & Wilson, M.A. (2010) Disruption of ripple-associated hippocampal activity during rest impairs spatial learning in the rat. *Hippocampus*, **20**, 1–10.
- Eiland, M.M., Ramanathan, L., Gulyani, S., Gilliland, M., Bergmann, B.M., Rechtschaffen, A., & Siegel, J.M. (2002) Increases in amino-cupric-silver staining of the supraoptic nucleus after sleep deprivation.

- Brain Res.*, **945**, 1–8.
- Einevoll, G.T., Kayser, C., Logothetis, N.K., & Panzeri, S. (2013) Modelling and analysis of local field potentials for studying the function of cortical circuits. *Nat. Rev. Neurosci.*, **14**, 770–785.
- Ekstrom, a D., Kahana, M.J., Caplan, J.B., Fields, T. a, Isham, E. a, Newman, E.L., & Fried, I. (2003) Cellular networks underlying human spatial navigation. *Nature*, **425**, 184–188.
- Eschenko, O., Ramadan, W., Mölle, M., Born, J., & Sara, S.J. (2008) Sustained increase in hippocampal sharp-wave ripple activity during slow-wave sleep after learning. *Learn. Mem.*, **15**, 222–228.
- Everson, C.A. (1995) Functional consequences of sustained sleep deprivation in the rat. *Behav. Brain Res.*, **69**, 43–54.
- Feldman, J.L. & McKay, L.C. (2008) Unilateral ablation of pre-Botzinger complex disrupts breathing during sleep but not wakefulness. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **178**, 89–95.
- Fellin, T., Halassa, M.M., Terunuma, M., Succol, F., Takano, H., Frank, M., Moss, S.J., & Haydon, P.G. (2009) Endogenous nonneuronal modulators of synaptic transmission control cortical slow oscillations in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **106**, 15037–15042.
- Fontanini, A. & Bower, J.M. (2005) Variable coupling between olfactory system activity and respiration in ketamine/xylazine anesthetized rats. *J. Neurophysiol.*, **93**, 3573–3581.
- Fontanini, A., Spano, P., & Bower, J.M. (2003) Ketamine-xylazine-induced slow (<1.5Hz) oscillations in the rat piriform (olfactory) cortex are functionally correlated with respiration. *J. Neurosci.*, **23**, 7993–8001.
- Franken, P. (2002) Long-term vs. short-term processes regulating REM sleep. *J. Sleep Res.*, **11**, 17–28.
- Franken, P. (2013) A role for clock genes in sleep homeostasis. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **23**, 864–872.
- Frankland, P.W. & Bontempi, B. (2005) The organization of recent and remote memories. *Nat. Rev. Neurosci.*, **6**, 119–130.
- Franklin, K. & Paxinos, G. (2008) *The Mouse Brain Atlas in Stereotaxic Coordinates*, The Spinal Cord: A Christopher and Dana Reeve Foundation Text and Atlas.
- Franz, S.I. & Lashley, K.S. (1917) The retention of habits by the rat after destruction of the frontal portion of the cerebrum. *Psychobiology*, **1**, 3–18.
- Fries, P. (2005) A mechanism for cognitive dynamics: Neuronal communication through neuronal coherence. *Trends Cogn. Sci.*, **9**, 474–480.
- Froy, O. (2011) Circadian Rhythms, Aging, and Life Span in Mammals. *Physiology*, **26**, 225–235.
- Fujisawa, S. & Buzsáki, G. (2011) A 4 Hz oscillation adaptively synchronizes prefrontal, VTA, and hippocampal activities. *Neuron*, **72**, 153–165.
- Fukunaga, I., Herb, J.T., Kollo, M., Boyden, E.S., & Schaefer, A.T. (2014) Independent control of gamma and theta activity by distinct interneuron networks in the olfactory bulb. *Nat. Neurosci.*, **17**, 1208–1216.
- Gais, S., Mölle, M., Helms, K., & Born, J. (2002) Learning-dependent increases in sleep spindle density. *J. Neurosci.*, **22**, 6830–6834.
- Gamble, K.L., Berry, R., Frank, S.J., & Young, M.E. (2015) Circadian Clock Control of Endocrine Factors. *Nat Rev Endocrinol. 2014 August ; 10(8) 466–475.*, **10**, 466–475.
- García-Rill, E. (1997) Disorders of the reticular activating system. *Med. Hypotheses*, **49**, 379–387.
- García-Rill, E., Charlesworth, A., Heister, D., Ye, M., & Hayar, A. (2008) The developmental decrease in REM sleep: the role of transmitters and electrical coupling. *Sleep*, **31**, 673–690.
- Garner, A.R., Rowland, D.C., Hwang, S.Y., Baumgaertel, K., Roth, B.L., Kentros, C., & Mayford, M. (2012) Generation of a Synthetic Memory Trace. *Science (80-.)*, **335**, 1513–1516.
- Genzel, L., Kroes, M.C.W., Dresler, M., & Battaglia, F.P. (2014) Light sleep versus slow wave sleep in memory consolidation: A question of global versus local processes? *Trends Neurosci.*, **37**, 10–19.
- Girardeau, G., Benchenane, K., Wiener, S.I., Buzsáki, G., & Zugaro, M.B. (2009) Selective suppression of

Bibliographie

- hippocampal ripples impairs spatial memory. *Nat. Neurosci.*, **12**, 1222–1223.
- Gloor, P. (1990) Experiential Phenomena of Temporal Lobe Epilepsy. *Brain*, **113**, 1673–1694.
- Goel, N., Kim, H., & Lao, R.P. (2005) An olfactory stimulus modifies nighttime sleep in young men and women. *Chronobiol. Int.*, **22**, 889–904.
- Gottesmann, C. (1992) Detection of seven sleep-waking stages in the rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **16**, 31–38.
- Gourine, A. V., Kasymov, V., Marina, N., Tang, F., Figueiredo, M.F., Lane, S., Teschemacher, A.G., Spyer, K.M., Deisseroth, K., & Kasparov, S. (2010) Astrocytes control breathing through pH-dependent release of ATP. *Science*, **329**, 571–575.
- Grosmaître, X., Santarelli, L.C., 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.
- Grosmark, A.D. & Buzsáki, G. (2016) Diversity in neural firing dynamics supports both rigid and learned hippocampal sequences. *Science (80-.)*, **351**, 1440–1443.
- Grosmark, A.D., Mizuseki, K., Pastalkova, E., Diba, K., & Buzsáki, G. (2012) REM Sleep Reorganizes Hippocampal Excitability. *Neuron*, **75**, 1001–1007.
- Guzowski, J.F., Timlin, J.A., Roysam, B., McNaughton, B.L., Worley, P.F., & Barnes, C.A. (2005) Mapping behaviorally relevant neural circuits with immediate-early gene expression. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **15**, 599–606.
- Halassa, M.M., Dal Maschio, M., Beltramo, R., Haydon, P.G., Benfenati, F., & Fellin, T. (2010) Integrated brain circuits: neuron-astrocyte interaction in sleep-related rhythmogenesis. *ScientificWorldJournal.*, **10**, 1634–1645.
- Halassa, M.M., Florian, C., Fellin, T., Muñoz, J.R., Lee, S.-Y., Abel, T., Haydon, P.G., & Frank, M.G. (2009) Astrocytic modulation of sleep homeostasis and cognitive consequences of sleep loss. *Neuron*, **61**, 213–219.
- Han, J.-H., Kushner, S.A., Yiu, A.P., Hsiang, H.-L., Buch, T., Waisman, A., Bontempi, B., Neve, R.L., Frankland, P.W., & Josselyn, S.A. (2009) Selective Erasure of a Fear Memory. *Science (80-.)*, **323**, 1492–1496.
- Harris, K., Csicsvari, J., Hirase, H., Dragoi, G., & Buzsáki, G. (2003) Organization of cell assemblies in the hippocampus. *Nature*, **424**, 552–556.
- Harris, K.D., Henze, D.A., Csicsvari, J., Hirase, H., & Buzsáki, G. (2000) Accuracy of tetrode spike separation as determined by simultaneous intracellular and extracellular measurements. *J. Neurophysiol.*, **84**, 401–414.
- Hartley, T., Lever, C., Burgess, N., & O'Keefe, J. (2014) Space in the brain: how the hippocampal formation supports spatial cognition. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **369**, 20120510.
- Hasselmo, M.E. (1999) Neuromodulation: Acetylcholine and memory consolidation. *Trends Cogn. Sci.*, **3**, 351–359.
- Hebb, D.O. (1949) The first stage of perception: growth of the assembly BT - The Organization of Behavior. *Organ. Behav.*, 60–78.
- Hennevin, E., Hars, B., Maho, C., & Bloch, V. (1995) Processing of learned information in paradoxical sleep: Relevance for memory. *Behav. Brain Res.*, **69**, 125–135.
- Hernandez-Peon, R., Lavin, A., Alcocer-Cuarón, C., & Marcelin, J.P. (1960) Electrical activity of the olfactory bulb during wakefulness and sleep. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **12**, 41–58.
- Hill, A.J. (1978) First occurrence of hippocampal spatial firing in a new environment. *Exp. Neurol.*, **62**, 282–297.
- Iber, C., Ancoli-Israel, S., Chesson Jr., A.L., & Quan, S.F. (2007) *The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events. Rules Terminology and Technical Specifications.*
- Isomura, Y., Sirota, A., Ozen, S., Montgomery, S., Mizuseki, K., Henze, D. a, & Buzsáki, G. (2006)

- Integration and segregation of activity in entorhinal-hippocampal subregions by neocortical slow oscillations. *Neuron*, **52**, 871–882.
- Jarosiewicz, B. & Skaggs, W.E. (2004) Level of arousal during the small irregular activity state in the rat hippocampal EEG. *J. Neurophysiol.*, **91**, 2649–2657.
- Jeffery, K.J., Gilbert, A., Burton, S., & Strudwick, A. (2003) Preserved performance in a hippocampal-dependent spatial task despite complete place cell remapping. *Hippocampus*, **13**, 175–189.
- Jenkins, J.G. & Dallenbach, K.M. (1924) Obliviscence during Sleep and Waking. *Am. J. Psychol.*, **35**, 605.
- Jha, S.K., Brennan, F.X., Pawlyk, A.C., Ross, R.J., & Morrison, A.R. (2005) REM sleep: A sensitive index of fear conditioning in rats. *Eur. J. Neurosci.*, **21**, 1077–1080.
- Jhaveri, K.A., Trammell, R.A., & Toth, L.A. (2007) Effect of environmental temperature on sleep, locomotor activity, core body temperature and immune responses of C57BL/6J mice. *Brain Behav Immun.*, **21**, 975–987.
- Johnson, A. & Redish, D.A. (2007) Neural ensembles in CA3 transiently encode paths forward of the animal at a decision point. *J. Neurosci.*, **27**, 12176–12189.
- Jouvet-Mounier, D., Astic, L., & Lacote, D. (1970) Ontogenesis of the States of Sleep in Rat, Cat, and Guinea Pig during the First Postnatal Month. *Dev. Psychobiol.*, **2**, 216–239.
- Jouvet, M., Michel, F., & Courjon, J. (1959) Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.*, **153**, 1024–1028.
- Jung, C.M., Melanson, E.L., Frydendall, E.J., Perreault, L., Eckel, R.H., & Wright, K.P. (2011) Energy expenditure during sleep, sleep deprivation and sleep following sleep deprivation in adult humans. *J. Physiol.*, **589**, 235–244.
- Kay, L.M. & Sherman, S.M. (2007) An argument for an olfactory thalamus. *Trends Neurosci.*, **30**, 47–53.
- Kentros, C., Hargreaves, E., Hawkins, R.D., Kandel, E.R., Shapiro, M., & Muller, R. V (1998) Abolition of long-term stability of new hippocampal place cell maps by NMDA receptor blockade. *Science (80-)*, **280**, 2121–2126.
- Kentros, C.G., Agnihotri, N.T., Streater, S., Hawkins, R.D., & Kandel, E.R. (2004) Increased attention to spatial context increases both place field stability and spatial memory. *Neuron*, **42**, 283–295.
- Killgore, W.D.S. (2010) Effects of sleep deprivation on cognition. *Prog. Brain Res.*, **185**, 105–129.
- Kim, J.J. & Fanselow, M.S. (1992) Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science (80-)*, **256**, 675–677.
- Kitai, S.T., Shepard, P.D., Callaway, J.C., & Scroggs, R. (1999) Afferent modulation of dopamine neuron firing patterns. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **9**, 690–697.
- Kleitman, N. (1963) *Sleep and Wakefulness*.
- Krueger, J.M., Frank, M.G., Wisor, J.P., & Roy, S. (2016) Sleep function: Toward elucidating an enigma. *Sleep Med. Rev.*, **28**, 42–50.
- Krystal, A.D., Edinger, J.D., Wohlgemuth, W.K., & Marsh, G.R. (2002) NREM sleep EEG frequency spectral correlates of sleep complaints in primary insomnia subtypes. *Sleep*, **25**, 630–640.
- Kudrimoti, H.S., Barnes, C.A., & McNaughton, B.L. (1999) Reactivation of hippocampal cell assemblies: effects of behavioral state, experience, and EEG dynamics. *J. Neurosci.*, **19**, 4090–4101.
- Landolt, H.P. & De Boer, L.P. (2001) Effect of chronic phenelzine treatment on REM sleep: Report of three patients. *Neuropsychopharmacology*, **25**, 63–67.
- Lansink, C.S., Goltstein, P.M., Lankelma, J. V, McNaughton, B.L., & Pennartz, C.M. a (2009) Hippocampus leads ventral striatum in replay of place-reward information. *PLoS Biol.*, **7**, e1000173.
- Lavin, A., Alcocer-Cuaron, C., & Hernandez-Peon, R. (1959) Centrifugal Arousal in the Olfactory Bulb. *Science (80-)*, **129**, 332–333.
- Lechner, H.A., Squire, L.R., & Byrne, J.H. (1999) 100 years of consolidation--remembering Müller and

Bibliographie

- Pilzecker. *Learn. Mem.*, **6**, 77–87.
- Lee, A.K. & Wilson, M. a (2002) Memory of sequential experience in the hippocampus during slow wave sleep. *Neuron*, **36**, 1183–1194.
- Léger, D., Beck, F., Richard, J.B., Sauvet, F., & Faraut, B. (2014) The risks of sleeping “too much”. Survey of a national representative sample of 24671 adults (INPES health barometer). *PLoS One*, **9**.
- Leger, D., Guilleminault, C., Bader, G., Levy, E., & Paillard, M. (2002) Medical and socio-professional impact of insomnia. *Sleep*, **25**, 625–629.
- Lena, C., Popa, D., Grailhe, R., Escourrou, P., Changeux, J.P., & Adrien, J. (2004) β 2-Containing Nicotinic Receptors Contribute to the Organization of Sleep and Regulate Putative Micro-Arousals in Mice. *J. Neurosci.*, **24**, 5711–5718.
- Lenck-Santini, P.P., Save, E., & Poucet, B. (2001) Evidence for a relationship between place-cell spatial firing and spatial memory performance. *Hippocampus*, **11**, 377–390.
- Leonard, B.J., McNaughton, B.L., & Barnes, C.A. (1987) Suppression of hippocampal synaptic plasticity during slow-wave sleep. *Brain Res.*, **425**, 174–177.
- Leutgeb, S., Leutgeb, J.K., Barnes, C. a, Moser, E.I., McNaughton, B.L., & Moser, M.-B. (2005) Independent codes for spatial and episodic memory in hippocampal neuronal ensembles. *Science (80-.)*, **309**, 619–623.
- Li, S., Park, W.-H., & Borg, A. (2012) Phase-dependent respiratory-motor interactions in reaction time tasks during rhythmic voluntary breathing. *Motor Control*, **16**, 493–505.
- Liu, X., Ramirez, S., Pang, P.T., Puryear, C.B., Govindarajan, A., Deisseroth, K., & Tonegawa, S. (2012) Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature*, **484**, 381–385.
- Loomis, A.L., Harvey, E.N., & Hobart, G. (1935a) FURTHER OBSERVATIONS ON THE POTENTIAL RHYTHMS OF THE CEREBRAL CORTEX DURING SLEEP. *Science*, **82**, 198–200.
- Loomis, A.L., Harvey, E.N., & Hobart, G. (1935b) POTENTIAL RHYTHMS OF THE CEREBRAL CORTEX DURING SLEEP. *Science*, **81**, 597–598.
- Maguire, E.A. (1998) Knowing Where and Getting There: A Human Navigation Network. *Science (80-.)*, **280**, 921–924.
- Manabe, H. & Mori, K. (2013) Sniff rhythm-paced fast and slow gamma-oscillations in the olfactory bulb: relation to tufted and mitral cells and behavioral states. *J. Neurophysiol.*, **110**, 1593–1599.
- Maquet, P., Laureys, S., Peigneux, P., Fuchs, S., Petiau, C., Phillips, C., Aerts, J., Del Fiore, G., Degueldre, C., Meulemans, T., Luxen, A., Franck, G., van der Linden, M., Smith, C., & Cleeremans, A. (2000) Experience-dependent changes in cerebral activation during human REM sleep. *Nat. Neurosci.*, **3**, 831–836.
- Marr, D. (1971) Simple Memory: A Theory for Archicortex. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, **262**, 23–81.
- Marshall, L., Helgadóttir, H., Mölle, M., & Born, J. (2006) Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature*, **444**, 610–613.
- Martin, C. & Ravel, N. (2014) Beta and gamma oscillatory activities associated with olfactory memory tasks: different rhythms for different functional networks? *Front. Behav. Neurosci.*, **8**, 218.
- Maturana, M.J., Pudell, C., Targa, A.D.S., Rodrigues, L.S., Nosedá, A.C.D., Fortes, M.H., dos Santos, P., Da Cunha, C., Zanata, S.M., Ferraz, A.C., & Lima, M.M.S. (2014) REM Sleep Deprivation Reverses Neurochemical and Other Depressive-Like Alterations Induced by Olfactory Bulbectomy. *Mol. Neurobiol.*, **51**, 349–360.
- Mayford, M. (2014) The search for a hippocampal engram. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **369**, 20130161.
- Mazzarello, P. (2000) What dreams may come? *Nature*, **408**, 523.
- McCarley, R.W. & Hobson, J.A. (1975) Neuronal excitability modulation over the sleep cycle: a structural and mathematical model. *Science*, **189**, 58–60.

- McCormick, D. a & Bal, T. (1997) Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu. Rev. Neurosci.*, **20**, 185–215.
- McCormick, D.A. & Bal, T. (1994) Sensory gating mechanisms of the thalamus. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **4**, 550–556.
- McCoy, J.G. & Strecker, R.E. (2011) The cognitive cost of sleep lost. *Neurobiol. Learn. Mem.*, **96**, 564–582.
- McGinty, D. & Szymusiak, R. (2005) Sleep-Promoting Mechanisms in Mammals. In *Principles and Practice of Sleep Medicine*. Elsevier, pp. 169–184.
- McNamara, C.G., Tejero-Cantero, Á., Trouche, S., Campo-Urriza, N., & Dupret, D. (2014) Dopaminergic neurons promote hippocampal reactivation and spatial memory persistence. *Nat. Neurosci.*, **17**, 1658–1660.
- Meddis, R. (1975) On the function of sleep. *Anim. Behav.*, **23**, 676–691.
- Merica, H. & Fortune, R.D. (2004) State transitions between wake and sleep, and within the ultradian cycle, with focus on the link to neuronal activity. *Sleep Med. Rev.*, **8**, 473–485.
- Miller, J.D., Farber, J., Gatz, P., Roffwarg, H., & German, D.C. (1983) Activity of mesencephalic dopamine and non-dopamine neurons across stages of sleep and walking in the rat. *Brain Res.*, **273**, 133–141.
- Milner, B., Corkin, S., & Teuber, H.-L. (1968) Further analysis of the hippocampal amnesic syndrome: 14-year follow-up study of H.M. *Neuropsychologia*, **6**, 215–234.
- Miyawaki, H. & Diba, K. (2016) Regulation of Hippocampal Firing by Network Oscillations during Sleep
Article Regulation of Hippocampal Firing by Network Oscillations during Sleep. *Curr. Biol.*, 1–10.
- Mölle, M., Eschenko, O., Gais, S., Sara, S.J., & Born, J. (2009) The influence of learning on sleep slow oscillations and associated spindles and ripples in humans and rats. *Eur. J. Neurosci.*, **29**, 1071–1081.
- Mombaerts, P. (2004) Genes and ligands for odorant, vomeronasal and taste receptors. *Nat. Rev. Neurosci.*, **5**, 263–278.
- Montgomery, S.M., Sirota, A., & Buzsáki, G. (2008) Theta and gamma coordination of hippocampal networks during waking and rapid eye movement sleep. *J. Neurosci.*, **28**, 6731–6741.
- Moore, J.D., Deschênes, M., Furuta, T., Huber, D., Smear, M.C., Demers, M., & Kleinfeld, D. (2013) Hierarchy of orofacial rhythms revealed through whisking and breathing. *Nature*, **497**, 205–210.
- Mori, K., Manabe, H., Narikiyo, K., & Onisawa, N. (2013) Olfactory consciousness and gamma oscillation couplings across the olfactory bulb, olfactory cortex, and orbitofrontal cortex. *Front. Psychol.*, **4**, 743.
- Mori, K. & Sakano, H. (2011) How is the olfactory map formed and interpreted in the mammalian brain? *Annu. Rev. Neurosci.*, **34**, 467–499.
- Morris, R.G., Garrud, P., Rawlins, J.N., & O’Keefe, J. (1982) Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*,.
- Moruzzi, G. & Magoun, H.W. (1949) Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **1**, 455–473.
- Murakami, M., Kashiwadani, H., Kirino, Y., & Mori, K. (2005) State-Dependent Sensory Gating in Olfactory Cortex. *Neuron*, **46**, 285–296.
- Neckelmann, D. & Ursin, R. (1993) Sleep stages and EEG power spectrum in relation to acoustical stimulus arousal threshold in the rat. *Sleep*, **16**, 467–477.
- Nielsen, T., Dumont, M., & Montplaisir, J. (1995) A 20-h recovery sleep after prolonged sleep restriction: some effects of competing in a world record-setting cinemathon. *J. Sleep Res.*, **4**, 78–85.
- Nishida, M. & Walker, M.P. (2007) Daytime naps, motor memory consolidation and regionally specific sleep spindles. *PLoS One*, **2**.
- O’Keefe, J. & Nadel, L. (1978) *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Oxford University Press.
- O’Keefe, J. & Recce, M.L. (1993) Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus*, **3**, 317–330.

Bibliographie

- Oudiette, D., Leu, S., Pottier, M., Buzare, M., Brion, A., & Arnulf, I. (2009) Dreamlike mentations during sleepwalking and sleep terrors in adults. *Sleep*, **32**, 1621–1627.
- Pawlyk, A.C., Morrison, A.R., Ross, R.J., & Brennan, F.X. (2008) Stress-induced changes in sleep in rodents: Models and mechanisms. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **32**, 99–117.
- Payne, J.D., Tucker, M.A., Ellenbogen, J.M., Wamsley, E.J., Walker, M.P., Schacter, D.L., & Stickgold, R. (2012) Memory for semantically related and unrelated declarative information: The benefit of sleep, the cost of wake. *PLoS One*, **7**, 1–7.
- Peigneux, P., Laureys, S., Fuchs, S., Collette, F., Perrin, F., Reggers, J., Phillips, C., Degueldre, C., Del Fiore, G., Aerts, J., Luxen, A., & Maquet, P. (2004) Are spatial memories strengthened in the human hippocampus during slow wave sleep? *Neuron*, **44**, 535–545.
- Penfield, W. & Perot, P. (1963) The Brain's Record of Auditory and Visual Experience. *Brain*, **86**, 595–696.
- Petzold, G.C., Hagiwara, A., & Murthy, V.N. (2009) Serotonergic modulation of odor input to the mammalian olfactory bulb. *Nat Neurosci*, **12**, 784–791.
- Peyrache, A., Battaglia, F.P., & Destexhe, A. (2011) Inhibition recruitment in prefrontal cortex during sleep spindles and gating of hippocampal inputs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **108**, 17207–17212.
- Peyrache, A., Lacroix, M.M., Petersen, P.C., & Buzsáki, G. (2015) Internally organized mechanisms of the head direction sense. *Nat. Neurosci.*, **18**, 569–575.
- Phillips, A.J.K., Robinson, P.A., Kedziora, D.J., & Abeysuriya, R.G. (2010) Mammalian sleep dynamics: How diverse features arise from a common physiological framework. *PLoS Comput. Biol.*, **6**, 1–19.
- Poucet, B., Lenck-Santini, P.-P., Paz-Villagrán, V., & Save, E. (2003) Place cells, neocortex and spatial navigation: a short review. *J. Physiol. Paris*, **97**, 537–546.
- Powell, E.W. & Hines, G. (1974) The limbic system: An interface. *Behav. Biol.*, **12**, 149–164.
- Ramirez, S., Liu, X., Lin, P.-A., Suh, J., Pignatelli, M., Redondo, R.L., Ryan, T.J., & Tonegawa, S. (2013) Creating a false memory in the hippocampus. *Science*, **341**, 387–391.
- Rampin, C., Cespuglio, R., Chastrette, N., & Jouvet, M. (1991) Immobilisation stress induces a paradoxical sleep rebound in rat. *Neurosci. Lett.*, **126**, 113–118.
- Rasch, B. & Born, J. (2013) About sleep's role in memory. *Physiol. Rev.*, **93**, 681–766.
- Rasch, B., Büchel, C., Gais, S., & Born, J. (2007) Odor cues during slow-wave sleep prompt declarative memory consolidation. *Science*, **315**, 1426–1429.
- Ravel, N., Akaoka, H., Gervais, R., & Chouvet, G. (1990) The effect of acetylcholine on rat olfactory bulb unit activity. *Brain Res. Bull.*, **24**, 151–155.
- 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.
- Rechtschaffen, A., Bergmann, B.M., Everson, C.A., Kushida, C.A., & Gilliland, M.A. (1989) Sleep deprivation in the rat: I. Conceptual issues. *Sleep*, **12**, 1–4.
- Rechtschaffen, A., Bergmann, B.M., Gilliland, M.A., & Bauer, K. (1999) Effects of method, duration, and sleep stage on rebounds from sleep deprivation in the rat. *Sleep*, **22**, 11–31.
- Rechtschaffen, A. & Kales, A. (1968) *A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects.*, Los Angeles. edn.
- Rector, D.M., Schei, J.L., & Rojas, M.J. (2009) Mechanisms underlying state dependent surface-evoked response patterns. *Neuroscience*, **159**, 115–126.
- Redish, A.D. (2016) Vicarious trial and error. *Nat. Rev. Neurosci.*, **17**, 147–159.
- Ribeiro, S., Shi, X., Engelhard, M., Zhou, Y., Zhang, H., Gervasoni, D., Lin, S.-C., Wada, K., Lemos, N.A.M., & Nicolelis, M.A.L. (2007) Novel Experience Induces Persistent Sleep-Dependent Plasticity in the Cortex but not in the Hippocampus. *Front. Neurosci.*, **1**, 43–55.
- Richter, C., Woods, I.G., & Schier, A.F. (2014) Neuropeptidergic Control of Sleep and Wakefulness. *Annu.*

- Rev. Neurosci.*, **37**, 503–531.
- Robert, C., Guilpin, C., & Limoge, A. (1999) Automated sleep staging systems in rats. *J. Neurosci. Methods*, **88**, 111–122.
- Robertson, E.M., Pascual-Leone, A., & Press, D.Z. (2004) Awareness Modifies the Skill-Learning Benefits of Sleep. *Curr. Biol.*, **14**, 208–212.
- Rosanova, M. & Ulrich, D. (2005) Pattern-specific associative long-term potentiation induced by a sleep spindle-related spike train. *J. Neurosci.*, **25**, 9398–9405.
- Roussel, B., Turrillot, P., & Kitahama, K. (1984) Effect of ambient temperature on the sleep-waking cycle in two strains of mice. *Brain Res.*, **294**, 67–73.
- Roux, L., Madar, A., Lacroix, M.M., Yi, C., Benchenane, K., & Giaume, C. (2015) Astroglial Connexin 43 Hemichannels Modulate Olfactory Bulb Slow Oscillations. *J. Neurosci.*, **35**, 15339–15352.
- Rusak, B. & Zucker, I. (1979) Neural regulation of circadian rhythms. *Physiol. Rev.*, **59**, 449–526.
- Russo, S. & Nestler, E. (2013) The brain reward circuitry in mood disorders. *Nat. Rev. Neurosci.*, **625**, 609–625.
- Saper, C.B., Fuller, P.M., Pedersen, N.P., Lu, J., & Scammell, T.E. (2010) Sleep State Switching. *Neuron*, **68**, 1023–1042.
- Savage, V.M. & West, G.B. (2007) A quantitative, theoretical framework for understanding mammalian sleep. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **104**, 1051–1056.
- Schacter, D.L., Eich, J.E., & Tulving, E. (1978) Richard Semon's theory of memory. *J. Verbal Learning Verbal Behav.*, **17**, 721–743.
- Schenkein, J. & Montagna, P. (2006) Self management of fatal familial insomnia. Part 1: what is FFI? *MedGenMed*, **8**, 65.
- Schomburg, E.W., Anastassiou, C. a, Buzsáki, G., & Koch, C. (2012) The spiking component of oscillatory extracellular potentials in the rat hippocampus. *J. Neurosci.*, **32**, 11798–11811.
- Schroeder, A.M. & Colwell, C.S. (2013) How to fix a broken clock. *Trends Pharmacol. Sci.*, **34**, 605–619.
- Schultz, W. (1997) A Neural Substrate of Prediction and Reward. *Science (80-.)*, **275**, 1593–1599.
- Schultz, W. (2013) Predictive Reward Signal of Dopamine Neurons Predictive Reward Signal of Dopamine Neurons 1–27.
- Schwierin, B., Borbely, A.A., & Tobler, I. (1999) Prolonged effects of 24-h total sleep deprivation on sleep and sleep EEG in the rat. *Neurosci. Lett.*, **261**, 61–64.
- Scoville, W.B. & Milner, B. (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, **20**, 11–21.
- Shapiro, M. (2001) Plasticity, Hippocampal Place Cells, and Cognitive Maps. *Arch. Neurol.*, **58**, 874.
- Shen, J., Kudrimoti, H.S., McNaughton, B.L., & Barnes, C. a (1998) Reactivation of neuronal ensembles in hippocampal dentate gyrus during sleep after spatial experience. *J. Sleep Res.*, **7 Suppl 1**, 6–16.
- Shepherd, G.M. (2005) Perception without a Thalamus. *Neuron*, **46**, 166–168.
- Shiple, M.T., Halloran, F.J., & de la Torre, J. (1985) Surprisingly rich projection from locus coeruleus to the olfactory bulb in the rat. *Brain Res.*, **329**, 294–299.
- Siegel, J.M. (2008) Do all animals sleep? *Trends Neurosci.*, **31**, 208–213.
- Siegel, J.M. (2011) REM sleep: A biological and psychological paradox. *Sleep Med. Rev.*, **15**, 139–142.
- Siegel, J.M., Manger, P.R., Nienhuis, R., Fahringer, H.M., & Pettigrew, J.D. (1998) Monotremes and the evolution of rapid eye movement sleep. *Philos.trans.r.soc.l. B Biol.Sci*, **353**, 1147–1157.
- Siegel, J.M., Manger, P.R., Nienhuis, R., Fahringer, H.M., Shalita, T., & Pettigrew, J.D. (1999) Sleep in the platypus. *Neuroscience*, **91**, 391–400.
- Silvestri, A.J. (2005) REM sleep deprivation affects extinction of cued but not contextual fear conditioning.

Bibliographie

- Physiol. Behav.*, **84**, 343–349.
- Sirota, A., Csicsvari, J., Buhl, D., & Buzsáki, G. (2003) Communication between neocortex and hippocampus during sleep in rodents. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **100**, 2065–2069.
- Sirota, A., Montgomery, S., Fujisawa, S., Isomura, Y., Zugaro, M., & Buzsáki, G. (2008) Entrainment of Neocortical Neurons and Gamma Oscillations by the Hippocampal Theta Rhythm. *Neuron*, **60**, 683–697.
- Skaggs, W.E., McNaughton, B.L., Wilson, M.A., & Barnes, C.A. (1996) Theta phase precession in hippocampal neuronal populations and the compression of temporal sequences. *Hippocampus*, **6**, 149–172.
- Smith, C. & Lapp, L. (1991) Increases in number of REMS and REM density in humans following an intensive learning period. *Sleep*, **14**, 325–330.
- Smith, C. & Rose, G.M. (1996) Evidence for a paradoxical sleep window for place learning in the Morris water maze. *Physiol. Behav.*, **59**, 93–97.
- Somers, V., Dyken, M., Mark, A., & Abboud, F. (1993) Sympathetic-nerve activity during sleep in normal subjects. *N Engl J Med.*, **328**, 303–307.
- Song, C. & Leonard, B.E. (2005) The olfactory bulbectomized rat as a model of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **29**, 627–647.
- Soulairac, A., Gottesmann, C., & Thangapregassam, M. (1965) Etude électrophysiologique des différentes phases de sommeil chez le rat. *Arch. ital. Biol.*, **103**, 469–482.
- Squire, L.R. (1982) The neuropsychology of human memory. *Annu. Rev. Neurosci.*, **5**, 241–273.
- Squire, L.R. (2004) Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiol. Learn. Mem.*, **82**, 171–177.
- Squire, L.R. & Zola-Morgan, S. (1991) The medial temporal lobe memory system. *Science (80-)*, **253**, 1380–1386.
- Steiger, A. & Kimura, M. (2010) Wake and sleep EEG provide biomarkers in depression. *J. Psychiatr. Res.*, **44**, 242–252.
- Steriade, M. (2001) Impact of network activities on neuronal properties in corticothalamic systems. *J. Neurophysiol.*, **86**, 1–39.
- Steriade, M. & Amzica, F. (1998) Slow sleep oscillation, rhythmic K-complexes, and their paroxysmal developments. *J. Sleep Res.*, **7 Suppl 1**, 30–35.
- Steriade, M. & Llinas, R.R. (1988) The Functional States of the Thalamus and the Associated Neuronal Interplay. *Am. Physiol. Soc. Vol.*, **68**, 649–724.
- Steriade, M., McCormick, D. a., & Sejnowski, T.J. (1993) Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science*, **262**, 679–685.
- Suntsova, N., Szymusiak, R., Md. Alam, N., Guzman-Marin, R., & McGinty, D. (2002) Sleep-waking discharge patterns of median preoptic nucleus neurons in rats. *J. Physiol.*, **543**, 665–677.
- Terzano, M.G., Mancina, D., Salati, M.R., Costani, G., Decembrino, A., & Parrino, L. (1985) The Cyclic Alternating Pattern as a Physiologic Component of Normal NREM Sleep. *Sleep*, **8**, 137–145.
- Thompson, L.T. & Best, P.J. (1990) Long-term stability of the place-field activity of single units recorded from the dorsal hippocampus of freely behaving rats. *Brain Res.*, **509**, 299–308.
- Thompson, S.R., Ackermann, U., & Horner, R.L. (2001) Sleep as a teaching tool for integrating respiratory physiology and motor control. *Adv Physiol Educ*, **25**, 101–116.
- Tobler, I. (1995) Is sleep fundamentally different between mammalian species? *Behav. Brain Res.*, **69**, 35–41.
- Tononi, G. & Cirelli, C. (2003) Sleep and synaptic homeostasis: a hypothesis. *Brain Res. Bull.*, **62**, 143–150.
- Tononi, G. & Cirelli, C. (2006) Sleep function and synaptic homeostasis. *Sleep Med. Rev.*, **10**, 49–62.

- Turrigiano, G.G. & Nelson, S.B. (2004) Homeostatic Plasticity in the Developing Nervous System. *Nat. Rev. Neurosci.*, **5**, 97–107.
- Ursin, R. (1968) The two stages of slow wave sleep in the cat and their relation to REM sleep. *Brain Res.*, **11**, 347–356.
- Vanderwolf, C.H. (1969) Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, **26**, 407–418.
- Villablanca, J.R., de Andres, I., & Garzon, M. (2003) Debating how rapid eye movement sleep is regulated (and by what). *J. Sleep Res.*, **12**, 259–262.
- Vyazovskiy, V. V, Cirelli, C., Pfister-Genskow, M., Faraguna, U., & Tononi, G. (2008) Molecular and electrophysiological evidence for net synaptic potentiation in wake and depression in sleep. *Nat. Neurosci.*, **11**, 200–208.
- Vyazovskiy, V. V, Faraguna, U., Cirelli, C., & Tononi, G. (2009) Triggering slow waves during NREM sleep in the rat by intracortical electrical stimulation: effects of sleep/wake history and background activity. *J. Neurophysiol.*, **101**, 1921–1931.
- Wagner, U., Gais, S., Haider, H., Verleger, R., & Born, J. (2004) Sleep inspires insight. *Nature*, **427**, 352–355.
- Wagner, U., Hallschmid, M., Rasch, B., & Born, J. (2006) Brief Sleep After Learning Keeps Emotional Memories Alive for Years. *Biol. Psychiatry*, **60**, 788–790.
- Walter, J.S., Meyers, P., & Krueger, J.M. (1989) Microinjection of interleukin-1 into brain: Separation of sleep and fever responses. *Physiol. Behav.*, **45**, 169–176.
- Watson, B.O., Levenstein, D., Greene, J.P., Gelinas, J.N., & Buzsáki, G. (2016) Network Homeostasis and State Dynamics of Neocortical Sleep. *Neuron*.
- Wehr, T.A. (1992) A brain-warming function for REM sleep. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **16**, 379–397.
- Weinberger, N.M., Gold, P.E., & Sternberg, D.B. (1984) Epinephrine enables Pavlovian fear conditioning under anesthesia. *Science*, **223**, 605–607.
- Wilson, M. a & McNaughton, B.L. (1993) Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. *Science*, **261**, 1055–1058.
- Wilson, M. a & McNaughton, B.L. (1994) Reactivation of Hippocampal Ensemble Memories During Sleep. *Science (80-)*, **5**, 14–17.
- Yanovsky, Y., Ciatipis, M., Draguhn, A., Tort, A.B.L., & Brankač, J. (2014) Slow oscillations in the mouse hippocampus entrained by nasal respiration. *J. Neurosci.*, **34**, 5949–5964.
- Zavada, A., Strijkstra, A.M., Boerema, A.S., Daan, S., & Beersma, D.G.M. (2009) Evidence for differential human slow-wave activity regulation across the brain. *J. Sleep Res.*, **18**, 3–10.
- Zhang, K., Ginzburg, I., McNaughton, B.L., & Sejnowski, T.J. (1998) Interpreting neuronal population activity by reconstruction: unified framework with application to hippocampal place cells. *J. Neurophysiol.*, **79**, 1017–1044.

Le sommeil : microarchitecture, oscillations cérébrales et consolidation mnésique.

Résumé :

Le **sommeil** est essentiel pour la consolidation de notre **mémoire**. Chez l'homme comme chez le rongeur, il est composé de sommeil paradoxal (**REM**), et de **non-REM** caractérisé par des oscillations **delta** (1-4Hz), **spindles** (8-14Hz) et **ripples** (150-200Hz), impliquées dans cette consolidation.

Les mécanismes fins sous-tendant l'effet bénéfique du sommeil sur la mémoire ont été le plus clairement établis pour la mémoire spatiale chez le rongeur, qui dépend de l'**hippocampe**. Cette structure contient des **cellules de lieu** : des neurones dont l'activité est directement corrélée à la position de l'animal. Durant le sommeil, l'activité des cellules de lieu est rejouée au moment des ripples, comme si la trace mnésique se répétait pour **consolider** l'apprentissage.

Par une interface cerveau-machine, nous avons associé les réactivations spontanées d'une cellule de lieu à une stimulation de récompense. Au réveil, la souris se rendait directement dans le lieu associé, prouvant que les cellules de lieu détiennent la même information spatiale durant la navigation et le sommeil. De plus, ce résultat montre le **rôle causal** des cellules de lieu dans la navigation, et valide la possibilité de **créer une mémoire** complexe durant le sommeil.

Enfin, pour favoriser la transposition à l'homme des résultats sur la consolidation mnésique chez le rongeur, nous avons développé une méthode de différenciation des sous-stades de non-REM chez la souris dont les propriétés sont semblables à l'homme. Cette méthode a permis la description fine des processus de régulation du sommeil et des oscillations cérébrales associées ; le rôle du rythme respiratoire et du bulbe olfactif dans cette régulation étant également discuté.

Mots clés : Sommeil – Homéostasie – Électrophysiologie – Rythmes – Mémoire – Cellules de lieu

Sleep: microarchitecture, brain oscillations and memory consolidation.

Abstract:

Sleep is crucial for **memory** consolidation. In humans as in rodents, sleep is composed of a paradoxical phase (**REM**) and a **non-REM** phase, which is characterized by **delta** oscillations (1-4Hz), **spindles** (8-14Hz) and **ripples** (150-200Hz), all implicated in the consolidation process.

The fine mechanisms underlying the beneficial effect of sleep in memory consolidation has been further detailed thanks to the model of rodent spatial memory, which depends on the **hippocampus**. This cerebral structure contains **place cells**, neurons whose activity is tightly correlated to the animal position. During sleep, place cells activity is replayed during ripples, as if the memory trace was repeated to consolidate spatial learning.

Using a brain-machine interface, we triggered rewarding brain stimulation on the spontaneous reactivation of a given place cell during sleep. Upon awakening, the mouse went directly to the associated place field, showing that place cells still convey the same spatial information during sleep than during navigation. Moreover, this result shows the **causal role** of place cells in navigation, and confirm the feasibility of **creating a complex new memory** during sleep.

At last, in order to facilitate translational research on sleep, we developed a scoring method which distinguishes **different non-REM sleep phases** as those observed in human sleep. Those substages revealed very similar characteristics to humans' and this new method allowed the fine description of **sleep regulation** and associated brain rhythms; the role of respiratory rhythm and olfactory bulb in this regulation is also discussed.

Keywords: Sleep – Homeostasis – Electrophysiology – Rhythms – Memory – Place cells