



HAL
open science

Impact des activités synaptiques endogènes sur l'excitabilité cellulaire et le traitement sensoriel cortical : apports de l'état isoélectrique

Tristan Altwegg-Boussac

► **To cite this version:**

Tristan Altwegg-Boussac. Impact des activités synaptiques endogènes sur l'excitabilité cellulaire et le traitement sensoriel cortical : apports de l'état isoélectrique. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2015. Français. NNT : 2015PA066689 . tel-01592393

HAL Id: tel-01592393

<https://theses.hal.science/tel-01592393>

Submitted on 24 Sep 2017

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

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



THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE

Ecole doctorale Cerveau-Cognition-Comportement
Spécialité Neurosciences

Présentée par

Tristan ALTWEGG-BOUSSAC

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE

Impact des activités synaptiques endogènes sur l'excitabilité cellulaire et le traitement sensoriel cortical : Apports de l'état isoélectrique

Soutenue le 22 septembre 2015 devant le jury composé de :

Pr. Régis LAMBERT	Président
Dr. Sylvain CROCHET	Rapporteur
Pr. Fernando LOPES DA SILVA	Rapporteur
Dr. Alain DESTEXHE	Examineur
Dr. Séverine MAHON	Invitée
Pr. Vincent NAVARRO	Invité
Pr. Stéphane CHARPIER	Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Je souhaite tout d'abord remercier Bernard Zalc qui m'a très chaleureusement ouvert les portes du Bâtiment Pharmacie dès mon stage de M1, puis celles, plus classieuses, de l'ICM pour me permettre de débiter cette thèse. J'aimerais également remercier l'IHU et plus précisément Bertrand Fontaine, Michel Baulac, Alexandra Auffray et Marie-Catherine Serbera du soutien qu'ils m'ont témoigné en m'offrant les moyens de poursuivre ce travail.

Je remercie Fernando Lopes da Silva et Sylvain Crochet d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse, ainsi que Régis Lambert et Alain Destexhe d'avoir accepté de juger mon travail. C'est un grand honneur pour moi qu'ils participent à ce jury.

Je tiens bien sûr à remercier Stéphane Charpier qui m'a encadré depuis le début de mon stage de Master 2, il y a 5 ans déjà, jusqu'à aujourd'hui. Merci pour ton implication dans mes recherches, ainsi que ton soutien. Merci encore pour la façon dont tu as su partager avec moi tes réflexions scientifiques et tes intuitions qui m'ont permis de développer ma curiosité ainsi que d'apporter une nouvelle dimension à ce projet qui, je l'espère, va continuer.

Je souhaite remercier Séverine Mahon pour son co-encadrement durant toute ma thèse. Je suis très reconnaissant de la façon dont elle a contribué au développement de mes projets. Enfin, je la remercie pour ses nombreux conseils ainsi que ses encouragements qui m'ont beaucoup aidé.

Je veux remercier Vincent Navarro pour m'avoir accueilli chaleureusement dans le service d'EEG du Bâtiment Paul Castaigne, pour m'avoir fait découvrir le monde hospitalier, m'avoir intégré aux différents services et m'avoir permis d'assister à des expériences uniques. Je le remercie également pour nos échanges, ce fut un plaisir de travailler et de réfléchir ensemble sur ce projet.

Un grand merci à Sophie Demeret et Lionel Naccache qui ont pris beaucoup de leur temps pour répondre à mes questions, me tenir informer et me permettre d'être dans les meilleures conditions pour réaliser mes recherches à l'Hôpital. Merci pour leur écoute, et pour l'intérêt qu'ils portent à cette étude.

Je remercie également l'ensemble du personnel des services d'EEG et de Réanimation du Bâtiment Paul Castaigne pour leur accueil et leur aide. Je voudrais dire merci particulièrement à Karl, Mélanie, Vi-Huong, Isabel, Régine, Vera et Benjamin pour leur disponibilité qui m'a été d'une grande aide. Merci enfin à Sonya pour les heures consacrées à me rendre service, et toujours avec le sourire.

Je tiens à remercier bien évidemment tout le labo ; Morgane, Mathilde, Adrien, Mark, Katia, Sarah, Line, Pierre, Juliane, Michel, Victoria, Isabel, heureusement que tu es là ! Merci à Mario et Fanny qui maîtrisent l'art de la carte temps-fréquence. Merci à la filière colombienne ; Mario, Catalina, Miguel, Andrea, Alexandra ainsi qu'aux Grenoblois ; Antoine, Isabelle, Guillaume, Benoit, pour leur sympathie, ce fut un plaisir de collaborer avec eux.

Merci Richard pour ces discussions parfois profondes, souvent confuses mais toujours agréables. Merci à Jean, Méri, et aux Baccettes ; Charlotte, toujours un plaisir ces petites discussions de couloirs. Martin garde le flux ! Et puis, merci Melissa, Morgane, Elise, Pinar, Connie, Adrien, Morwena, Patricia, tu m'as sorti de beaucoup de situations délicates, Sean, Jeff, Kévin, Vincent et l'ensemble des Ajités avec qui j'ai passé des retraites mémorables !

Merci à tous mes amis en dehors de l'ICM, pour votre soutien, merci d'être proche de moi... Ben&Nic, Quentin, Hélène, Beub, Riri, Nini, Ali, Touny, Pi, Elisa, Kaiso, Omry, Vinc7, Neiro, Toto, Hugues, Gaetan, Jay, Roger, trop d'émotion..., Martin, je t'en dois une, Didooo, Makeu, Manon, Romy, Romain, Marvin, Marine, pour ton soutien dans la mine, Marion, Sam, Popo, Basilou, Manale, Quentin, Romain, Nawal, Garth, enfin tous les BIP quoi, et puis Chill, Léo, Georges, Alix, Jacques, Brigitte et tout ceux que j'ai oublié, mais qui se reconnaîtront.

Merci à mes parents, à Chloé et Manon, pour leur immense soutien, toujours...Et tout particulièrement pour leur réactivité impressionnante sur la fin, vous étiez vraiment présent et ça m'a beaucoup touché.

Und schliesslich, danke Roxanne, die du seit drei Jahren mein Leben lustiger und schöner machst.

TABLE DES MATIERES

Résumé	8
Summary	9
Abbréviations.....	10
1 INTRODUCTION.....	11
1-1 INTRODUCTION GENERALE ET PRESENTATION DE LA THESE	13
1-1.1 <i>Le cerveau réflexif et intrinsèque.....</i>	<i>13</i>
1-1.2 <i>Histoire d'une thèse : du bruit au silence.....</i>	<i>14</i>
1-2 ETAT CEREBRAL ET ACTIVITE SYNAPTIQUE.....	17
1-2.1 <i>EEG et états de vigilance : de l'éveil actif au coma isoélectrique</i>	<i>17</i>
a) L'activité électroencéphalographique et le modèle du dipôle	17
b) Les rythmes de l'éveil et du sommeil paradoxal	20
<i>Le rythme alpha</i>	<i>20</i>
<i>Le rythme mu</i>	<i>21</i>
<i>Les activités bêta/gamma.....</i>	<i>22</i>
<i>Le rythme thêta</i>	<i>23</i>
<i>Le sommeil paradoxal</i>	<i>24</i>
c) Les oscillations du sommeil.....	25
<i>Les fuseaux de sommeil</i>	<i>25</i>
<i>Les ondes delta</i>	<i>27</i>
<i>Les ondes lentes</i>	<i>28</i>
d) Les activités cérébrales induites par les anesthésiques	28
e) Les comas.....	30
1-2.2 <i>Corrélat intracellulaires des rythmes cérébraux : Le « bruit synaptique »</i>	
<i>néocortical</i>	<i>32</i>
a) Origine du bruit synaptique	32
b) Etat de « haute conductance ».....	34
c) Oscillations et fluctuations bimodales	38
d) Anesthésie et bruit synaptique	42
e) Rôle de la neuromodulation	43

1-3	IMPACT DU BRUIT SYNAPTIQUE SUR L'EXCITABILITE CELLULAIRE ET LES	
	REPONSES NEURONALES.....	45
1-3.1	<i>Typologie morpho-fonctionnelle des neurones corticaux.....</i>	45
1-3.2	<i>Les propriétés électriques « passives ».....</i>	51
1-3.3	<i>Les fonctions de transfert.....</i>	58
1-3.4	<i>Temporalité et fiabilité neuronales.....</i>	66
a)	Variabilité de décharge	66
b)	Mode d'intégration neuronale.....	68
c)	Précision temporelle.....	70
1-3.5	<i>Impact sur les réponses sensorielles.....</i>	73
1-3.6	<i>Critiques et limites des approches in vitro et in vivo.....</i>	77
1-4	LE CORTEX A TONNEAUX COMME MODELE D'ETUDE	79
1-4.1	<i>Le système des vibrisses : rôle fonctionnel.....</i>	79
1-4.2	<i>De la vibrisse au noyau trigéminal.....</i>	81
1-4.3	<i>Le thalamus somatosensoriel.....</i>	84
1-4.4	<i>Intégration dans les réseaux corticaux.....</i>	85
1-4.5	<i>Le bruit synaptique dans le cortex à tonneaux</i>	92
1-4.6	<i>Les sorties du cortex à tonneaux.....</i>	96
1-5	BUTS SPECIFIQUES DE LA THESE ET NOUVELLE STRATEGIE EXPERIMENTALE	98
2	MATERIEL ET METHODES	103
2-1	PREPARATION DES ANIMAUX ET CHIRURGIE.....	103
2-2	METHODES D'ENREGISTREMENTS ET DE STIMULATIONS CHEZ L'ANIMAL.....	104
2-2.1	<i>Enregistrements ECoG</i>	104
2-2.2	<i>Enregistrements intracellulaires.....</i>	104
2-2.3	<i>Injection des neurones et coloration immunohistochimique</i>	105
2-2.4	<i>Quantification de l'excitabilité membranaire.....</i>	105
2-2.5	<i>Evaluation de la fonction de transfert neuronale : Relation F-I.....</i>	106
2-2.6	<i>Propriétés temporelles des réponses et « fiabilité » neuronale.....</i>	107
2-2.7	<i>Stimulations sensorielles chez le rat et analyse des réponses évoquées.....</i>	108
2-3	ENREGISTREMENTS ET STIMULATIONS SENSORIELLES CHEZ L'HOMME.....	110
3	ARTICLES ET RESULTATS EXPERIMENTAUX	111

3-1	ARTICLE 1 : INDUCTION OF AN ISOELECTRIC BRAIN STATE TO INVESTIGATE THE IMPACT OF ENDOGENOUS SYNAPTIC ACTIVITY ON NEURONAL EXCITABILITY <i>IN VIVO</i>.....	111
3-2	ARTICLE 2 : EXCITABILITY AND RESPONSIVENESS OF RAT BARREL CORTEX NEURONS IN THE PRESENCE AND ABSENCE OF SPONTANEOUS SYNAPTIC ACTIVITY <i>IN VIVO</i>	131
3-2.1	<i>Rappels sur le contexte de la recherche</i>	131
3-2.2	<i>Principaux résultats</i>	133
3-3	ARTICLE 3 : SENSORY-EVOKED CORTICAL RESPONSES IN HUMAN AND RAT DURING PERSISTENT ISOELECTRIC BRAIN STATE: AN EEG AND INTRACELLULAR INVESTIGATION....	155
3-3.1	<i>Rappel sur le contexte de la recherche</i>	155
4	CONCLUSION ET DISCUSSION.....	183
4-1	DESCRIPTION SYNTHETIQUE DE L'ETUDE ET RESUME DES PRINCIPAUX RESULTATS... ..	183
4-2	DE NOUVELLES DONNEES SUR LE ROLE FONCTIONNEL DU BRUIT SYNAPTIQUE DANS LE NEOCORTEX.....	185
4-2.1	<i>Induction des activités de types « éveil » et « sommeil » : limites et pertinence. 185</i>	
4-2.2	<i>Impact différentiel des différents bruits synaptiques sur les neurones corticaux 187</i>	
4-2.3	<i>Conséquences sur le traitement des informations sensorielles..... 190</i>	
4-2.4	<i>Implications sur le système des vibrisses :du neurone au comportement</i>	193
4-3	POTENTIALITES DU CERVEAU SANS POTENTIEL	195
4-3.1	<i>Mécanismes d'induction de l'état isoélectrique</i>	195
4-3.2	<i>Isoélectrique mais activable</i>	196
4-3.3	<i>Vers une réévaluation neurophysiologique du coma neuroprotecteur et de la mort encéphalique ?</i>	198
5	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	201

RESUME

Le cerveau, quels que soient l'espèce et l'âge, possède l'étonnante propriété de générer en permanence des activités électriques, dont la forme et la fréquence fluctuent selon l'état interne de l'individu. Ces activités sont aisément enregistrables à l'aide d'électrodes à basse impédance déposées à la surface de l'encéphale, constituant alors un électroencéphalogramme (EEG). Au niveau intracellulaire, ces activités électriques spontanées prennent la forme d'un « bruit », reflétant le bombardement synaptique permanent du neurone où s'entremêlent des événements inhibiteurs et excitateurs. Au cours de l'éveil, le bruit synaptique cortical apparaît désynchronisé, rapide et de faible amplitude, conduisant à une décharge erratique de potentiels d'action. Au cours du sommeil lent, sa structure devient plus oscillatoire et plus lente, résultant d'une synchronisation rythmique des afférences synaptiques. Ainsi, à chaque instant, et quel que soit l'état de vigilance, le cerveau et les neurones individuels présentent des variations spontanées de potentiel électrique, qui constituent une trame endogène fluctuante sur laquelle les informations issues du monde extérieur se superposent.

Une des questions les plus passionnantes des neurosciences est de comprendre comment cette activité synaptique endogène, véritable contexte cérébral interne, sculpte à chaque instant l'intégration des événements exogènes. Pour aborder cette question, j'ai mis au point une nouvelle stratégie expérimentale *in vivo* visant à comparer les réponses neuronales corticales à divers stimuli, en présence et en absence de bruit électrophysiologique endogène. Par des outils pharmacologiques appropriés, j'ai généré artificiellement, chez le rat, un bruit synaptique de type éveil et de type sommeil puis, conservant les mêmes enregistrements, j'ai induit un état isoélectrique durant lequel toute activité électrophysiologique spontanée était supprimée. J'ai montré que la suppression du bruit synaptique dans les neurones du cortex somatosensoriel induisait une hyperpolarisation, une diminution de sensibilité neuronale pour de faibles stimulations et un accroissement considérable de la régularité des réponses lors de stimulations identiques répétées. Incidemment, ces premiers résultats démontraient également la persistance d'une excitabilité neuronale alors même que l'animal se trouvait plongé dans un coma profond de type isoélectrique. J'ai donc poursuivi mes recherches avec le service de réanimation neurologique de l'hôpital afin d'explorer, chez des patients placés dans un tel coma, les possibles réponses corticales à des stimulations sensorielles. J'ai associé cette étude électroclinique, à la poursuite de mes investigations chez l'animal utilisant des enregistrements intracellulaires. De manière inattendue, j'ai démontré chez l'homme et l'animal la persistance de potentiels évoqués sensoriels dans l'EEG et les neurones corticaux. Ces réponses survenant en absence d'activité cérébrale spontanée, présentaient un délai d'apparition plus tardif, une amplitude plus importante et une plus grande fiabilité d'un essai à l'autre.

Ainsi, il apparaît que l'activité synaptique spontanée, qui caractérise le fonctionnement « normal » du cerveau, a essentiellement comme effet d'augmenter la variabilité statistique des réponses à l'environnement tout en accroissant la sensibilité des neurones à ces mêmes stimulations. L'état isoélectrique étant un des critères électrocliniques de la mort encéphalique, l'éventuelle persistance d'une excitabilité dans les réseaux et neurones corticaux dans la zone péri-mortem reste à explorer.

SUMMARY

The brain, whatever the species and age, has the peculiar property to continuously generate electrical activities, fluctuating in shape and frequency according to the internal state of the individual. These activities can be easily monitored using low-impedance electrodes deposited on the surface of the brain, providing an electroencephalogram (EEG). At cellular level, spontaneous electrical activities take the form of a physiological "noise", reflecting the permanent synaptic bombardment of neurons in which inhibitory and excitatory events are intermingled. During wakefulness, the cortical synaptic noise appears desynchronized, fast and of low magnitude, leading to erratic discharge of action potentials. During slow-wave sleep, the structure of background activity becomes more oscillatory and slower, resulting from a rhythmic synchrony of synaptic afferents. Therefore, at every moment, and whatever the state of vigilance, the whole-brain and each individual neuron exhibit spontaneously varying electrical potentials, providing a fluctuating endogenous framework on which external information overlaps.

One of the most fascinating questions in neurosciences is to understand how this endogenous synaptic activity, which constitutes a real internal cerebral context, sculpts the integration of exogenous events at every moment. To address this question, I developed a new *in vivo* experimental strategy to compare the cortical neuronal responses to various stimuli in the presence and absence of endogenous electrophysiological noise. I artificially generated, with appropriate pharmacological tools, a waking-like or sleep-like synaptic noise in the rat. Then, whilst keeping the same records, I induced an isoelectric state in which spontaneous electrophysiological activity was completely suppressed. I showed that the suppression of synaptic noise in somatosensory cortex neurons resulted in a membrane hyperpolarization, a decrease in neuronal sensitivity to weak stimuli and a considerable increase in the regularity of responses to repeated identical stimuli. Incidentally, these initial findings also demonstrated the persistence of neuronal excitability while the animal was immersed in a deep, isoelectric type comatose. Thus, I continued my research in collaboration with the neurological intensive care unit of the hospital to explore the sensory-evoked cortical responses in patients exhibiting an isoelectric EEG. I have combined this electroclinical study with my investigations in animals using intracellular recordings. Unexpectedly, I demonstrated in humans and animals the persistence of sensory-evoked potentials in the EEG and individual cortical neurons. These cortical responses occurring in the absence of spontaneous brain activity had an augmented latency, a larger amplitude and a higher trial-to-trial reliability.

It thus seems that the primary effect of the sustained background synaptic activity, the hallmark of a "normal" functioning of the brain, is to increase the statistical variability of responses to the environment while increasing the sensitivity of neurons to the same stimuli. Since an isoelectric EEG is included in the electroclinical criteria of brain death, it would be important to examine the possible maintenance of a residual excitability in cortical networks and neurons in the peri-mortem zone.

ABBREVIATIONS

AHP : <i>After-hyperpolarization</i>	I _T : Courant calcique de type T à bas seuil
AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxalone propionate	I-V : Relation courant-voltage
C _m : Capacité membranaire	KAc : Acétate de potassium
CV, CV2 : Coefficient de variation	LDT : Tegmentum laterodorsal
ECG : Electrocardiogramme	LTS : <i>Low threshold spiking</i>
ECoG : Electrocorticogramme	NMDA : Acide N-méthyl-D-aspartique
E _E : Potentiel d'inversion des entrées synaptiques excitatrices	nRT : Noyau réticulaire du thalamus
EEG : Electroencéphalogramme	PA : Potentiel d'action
E _I : Potentiel d'inversion des entrées synaptiques inhibitrices	PB : <i>Phosphate buffer</i>
E _K : Potentiel d'inversion du potassium	PBS : <i>Salin phosphate buffer</i>
FF : <i>Fano Factor</i>	PE : Potentiel évoqué cortical
F-I : Relation fréquence-courant	PFA : Paraformaldéhyde
FRB : <i>Fast rhythmic bursting</i>	POm : Noyau postéro-médial du thalamus
FS : <i>Fast spiking</i>	PPSd : Potentiel postsynaptique dépolarisant
γ : Gain de la relation F-I	PPSE : Potentiel postsynaptique exciteur
GABA : Acide γ -aminobutyrique	PPSI : Potentiel postsynaptique inhibiteur
R-GABA _A : Récepteur GABAergique de type A	PPT : Tegmentum pédunculo pontin
G _E : Conductance synaptique excitatrice	PrV : Noyau principal trigéminal
G _I : Conductance synaptique inhibitrice	REM : <i>Rapid Eye Movement</i>
G _L : Conductance de fuite	R _m : Résistance membranaire
G _m : Conductance membranaire	RS : <i>Regular spiking</i>
I _A : Courant potassique dépendant du voltage	σ : Ecart type
I _{AHP} : Courant potassique dépendant du calcium impliqué dans l' <i>after-hyperpolarization</i>	SpVc : Noyau spinal trigéminal caudal
IB : <i>Intrinsic bursting</i>	SpVi : Noyau spinal trigéminal interpolaire
I _H : Courant cationique non sélectif activé par l'hyperpolarisation	SpVo : Noyau spinal trigéminal oral
i.m. : intramusculaire	SWS : <i>Slow wave sleep</i>
I _M : Courant potassique dépendant du voltage	τ_m : Constante de temps membranaire
i.p. : intrapéritonéal	TTX : Tétrodotoxine
I _s : Intensité du courant seuil	V _m : Potentiel de membrane
ISI : <i>Interspike interval</i>	VPM : Noyau ventral postéro-médial du thalamus

Et l'unique cordeau des trompettes marines.

Guillaume APOLLINAIRE,
Chantre, *Alcools*, 1971.

1 INTRODUCTION

1-1 INTRODUCTION GENERALE ET PRESENTATION DE LA THESE

1-1.1 Le cerveau réflexif et intrinsèque

Le cerveau génère en permanence des activités électriques qui fluctuent en amplitude et en fréquence selon les états de vigilance et les tâches mentales (Steriade, 2006 ; Harris et Thiele, 2011 ; McCormick et coll., 2015). Malgré cette intense activité cérébrale endogène, une vision « classique » du rôle fonctionnel du cerveau, initialement proposée par Sherrington (1857-1952) en 1906 (Sherrington, 1906) et encore largement partagée par de nombreux neurobiologistes, consiste à le considérer comme essentiellement « réflexif », c'est-à-dire constamment dirigé et contrôlé par l'environnement. Le cerveau est selon ce point de vue un organe qui réagit aux stimuli externes de façon quasi-automatique et stéréotypée dans le but de réaliser une tâche de façon la plus optimale dans un contexte comportemental et environnemental donné. Dès lors, l'activité cérébrale apparaît comme exclusivement déterminée par des influences extrinsèques.

Une autre vision introduite par Graham Brown (1882-1965) en 1911 (Brown, 1911), s'opposant radicalement à cette conception « réflexive » du cerveau, suggère que le fonctionnement cérébral est fondamentalement « intrinsèque ». Cette théorie s'appuie sur le fait qu'un individu au repos, totalement déconnecté de son environnement, et engagé dans aucune tâche sensorielle, motrice ou cognitive particulière, présente au sein de ses réseaux neuronaux des activités synaptiques spontanées (endogènes) (Adrian et Matthew, 1934 ; Hogan et Fitzpatrick, 1987). En accord avec cette hypothèse, il a été montré que le surplus d'énergie dépensé par le cerveau lors d'une tâche sensorielle était infime comparé au budget énergétique de l'« état quiescent » (« *resting state* » en anglais) (Raichle, 2010). Selon cette vision, le cerveau est capable de générer de manière intrinsèque divers patrons d'activité, notamment d'un point de vue électrophysiologique, dans lesquels les entrées sensorielles n'ont essentiellement qu'un rôle modulateur, la plupart des activités induites étant déjà présentes dans l'activité de fond (Llinás et Paré, 1991 ; Destexhe, 2011). Mais cet état quiescent n'est que théorique puisque le cerveau n'est jamais totalement déconnecté des nombreuses informations environnementales auxquelles il est continuellement confronté. Même dans des conditions extrêmes de déprivation sensorielle, le cerveau est toujours exposé

à l'influence de stimuli internes, tels que l'activité faible mais continue des récepteurs sensoriels périphériques et internes (Ringach, 2009), ou encore l'activité constante et fluctuante du système cardiovasculaire (McCraty et coll., 2009).

Ces deux visions extrêmes, concernant l'origine et la fonction des activités cérébrales sont cependant trop dichotomiques, voire caricaturales. Elles permettent néanmoins de dissocier conceptuellement l'activité électrique cérébrale induite par l'environnement de celle générée de manière endogène. Par ailleurs, elles opposent deux systèmes de pensée qui ne sont pas nécessairement inconciliables. En effet, de même que l'activité « spontanée » n'est jamais strictement intrinsèque au cerveau, l'effet d'une perturbation environnementale sur le cerveau dépend d'interactions spécifiques entre l'activité interne au moment de l'arrivée du stimulus et les propriétés du stimulus lui-même (Faisal et coll., 2008 ; Nordhoff, 2014). Il semble donc qu'à chaque instant, le fonctionnement cérébral soit le reflet de complexes interactions entre un « cerveau réflexif » et un « cerveau intrinsèque », intimement intriqués et dirigés vers une fonction commune.

1-1.2 Histoire d'une thèse : du bruit au silence

Quels que soient l'échelle et le domaine d'étude, le « bruit » est une caractéristique intrinsèque de tout signal (Kosko, 2006). Le bruit est un processus qui fluctue au cours du temps avec une certaine distribution et dont la valeur, à un instant donné, est décrite de façon aléatoire et non prédictible (Ermentrout et coll., 2008). Il peut être caractérisé par son amplitude, c'est-à-dire l'écart type de la distribution qui le décrit, ainsi que par le spectre de fréquences spécifiques qui le compose. Souvent connoté négativement et considéré comme une nuisance, il est nécessaire de distinguer le « vrai » signal de l'activité continue appelée « bruit », dénuée de signification pertinente dans un contexte donné. Mais le bruit est bien par définition un « signal » car il est capable de transmettre une certaine information (Kosko, 2006). Cette dualité signal/bruit est donc partiellement arbitraire et dépend en définitive du cadre conceptuel et de la définition que l'expérimentateur entend donner du « vrai » signal. Dans le système nerveux, on peut identifier du bruit (ou « fluctuations spontanées ») à toutes les échelles spatiales (de la membrane neuronale à de larges territoires cérébraux), à chaque instant, et à chaque étape du processus d'intégration. Qu'il soit physiologique ou non, il participe à la variabilité des signaux étudiés (Faisal et coll., 2008). On peut distinguer à l'échelle microscopique un bruit thermique qui qualifie l'agitation moléculaire. Lors d'une

stimulation visuelle par exemple, les photons qui excitent les photorécepteurs arrivent à une fréquence aléatoire (Bialek, 1987). De même, l'agitation moléculaire et la collision aléatoire des molécules sur une protéine canal peuvent induire un changement de sa conformation (White et coll., 2000 ; Faisal et coll., 2008). Le « bruit de canaux » traduit ainsi l'ouverture et la fermeture aléatoire des canaux ioniques, modulant à chaque instant la perméabilité de la membrane pour différentes espèces ioniques (White et coll., 2000).

Le « bruit synaptique » présent dans chaque neurone, d'amplitude beaucoup plus grande que le bruit de canaux, représente l'activité continue des synapses connectant le neurone. Cette activité synaptique spontanée, enregistrable à l'échelle du neurone unique à l'aide d'une microélectrode intracellulaire (Brock et coll., 1952), est aussi globalement détectable à la surface du cortex cérébral. Son amplitude et sa fréquence varient considérablement, et constamment, selon les différents états de vigilance, la région cérébrale concernée et l'âge (Steriade et coll., 2001 ; Fiser et coll., 2004 ; Destexhe, 2011 ; McCormick et coll., 2015). La première caractérisation de ces fluctuations spontanées du potentiel membranaire a été réalisée par Fatt et Katz en 1950 par des enregistrements intracellulaires de fibres musculaires de grenouille (Fatt et Katz, 1950, 1952). L'apparition « spontanée et aléatoire » de ces « potentiels de plaques motrices miniatures » leur a valu l'appellation de « bruit » (Fatt et Katz 1950 ; Figure 1). Ce bruit synaptique, décrit comme spontané car n'étant pas induit par un stimulus expérimental, est une composante essentielle et ubiquitaire des activités électriques neuronales. Nous verrons plus loin qu'il affecte de façon déterminante les propriétés électrophysiologiques neuronales, le codage et le traitement des informations sensorielles ainsi que la connectivité fonctionnelle des réseaux neuronaux.

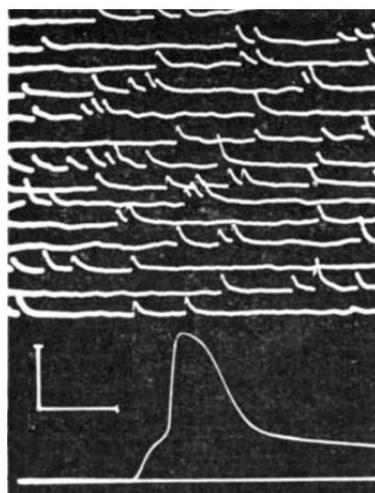


Figure 1 : Mise en évidence du bruit synaptique au niveau de la plaque motrice.

Exemples d'activités synaptiques spontanées enregistrées à partir d'une fibre musculaire de grenouille (haut). Potentiel de plaque motrice suite à une stimulation du nerf moteur (bas). Noter la fréquence ainsi que le caractère irrégulier apparemment aléatoire de l'activité synaptique spontanée. D'après Fatt et Katz, 1950.

Au cours de ma thèse, j'ai tenté de réconcilier le « cerveau intrinsèque » et le « cerveau réflexif ». Le but initial était de déterminer comment, dans un cerveau entier, et pourvu de canaux sensoriels, différents bruits synaptiques « endogènes » dans les neurones et circuits corticaux influençaient les propriétés d'excitabilité neuronale et le traitement des informations sensorielles exogènes. Pour aborder cette question, j'ai mis au point une nouvelle stratégie expérimentale visant à induire chez le rat différents types de bruit synaptique, à quantifier les propriétés électriques membranaires et d'intégration des neurones du néocortex correspondantes puis à comparer ces propriétés à celles mesurées dans une situation extrême, sorte de contrôle négatif, dans laquelle toute activité spontanée était supprimée. Ayant montré la persistance de l'excitabilité des neurones corticaux au cours d'un état cérébral isoélectrique durable, j'ai été incidemment amené à initier et développer avec nos collègues neurologues-réanimateurs de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière, une étude translationnelle chez le rat et l'homme visant à caractériser l'état fonctionnel cortical dans des comas les plus extrêmes, et jusqu'à la mort cérébrale.

1-2 ETAT CEREBRAL ET ACTIVITE SYNAPTIQUE

1-2.1 EEG et états de vigilance : de l'éveil actif au coma isoélectrique

a) L'activité électroencéphalographique et le modèle du dipôle

La présence d'activités électriques spontanées dans le cerveau a été mise en évidence pour la première fois par un jeune pédiatre anglais, Richard Caton (1842-1926), à la fin du 19^{ème} siècle (Caton, 1875). Ces activités électriques cérébrales représentent les activités électroencéphalographiques (EEG), lesquelles peuvent être facilement recueillies à l'aide d'électrodes à basse impédance posées à la surface du crâne.

A la suite de la libération de neurotransmetteurs excitateurs par le neurone présynaptique, l'ouverture de canaux ioniques couplés aux récepteurs postsynaptiques provoque un flux net de cations traversant la membrane. Ce courant entrant produit, au niveau intracellulaire, une dépolarisation du potentiel membranaire postsynaptique et augmente simultanément l'électronégativité du milieu extracellulaire (Figure 2A, B). Un gradient de potentiel est donc transitoirement généré dans le milieu extracellulaire le long de la membrane provoquant le déplacement de cations des régions distantes vers la région synaptique (Speckmann et Elger, 2005). De la même façon, la dépolarisation intracellulaire induite par l'entrée de cation dans la cellule provoque un gradient de potentiel engendrant un flux de cations de la région synaptique vers les régions intracellulaires environnantes. La cellule corticale peut donc être assimilée à un dipôle électrique générant des boucles de courant et dont les potentiels électriques extracellulaires sont enregistrables en plaçant une électrode à proximité du dipôle (Figure 2C). Les flux anioniques traversant la membrane (mettant en jeu principalement les ions chlore), générés au niveau d'une synapse inhibitrice, ont, en théorie, moins d'effet sur le champ extracellulaire ; en effet, le potentiel d'équilibre du chlore est relativement proche du potentiel de membrane de la cellule et ne génère qu'un faible gradient de potentiel (Buzsáki et coll., 2012). Cependant, lorsque les neurones ont un potentiel de membrane très dépolarisé, la libération de neurotransmetteurs inhibiteurs peut être à l'origine de courants transmembranaires non négligeables.

Il est admis que cette transmission synaptique neuronale est la principale cause des fluctuations de potentiels électriques enregistrées sur l'EEG (Speckmann et Elger, 2005). Cependant, les champs électriques générés par les neurones individuels ne sont pas suffisamment forts pour expliquer l'amplitude des potentiels enregistrés à la surface du crâne. Les ondes électriques enregistrées sur l'EEG résultent de la sommation des champs

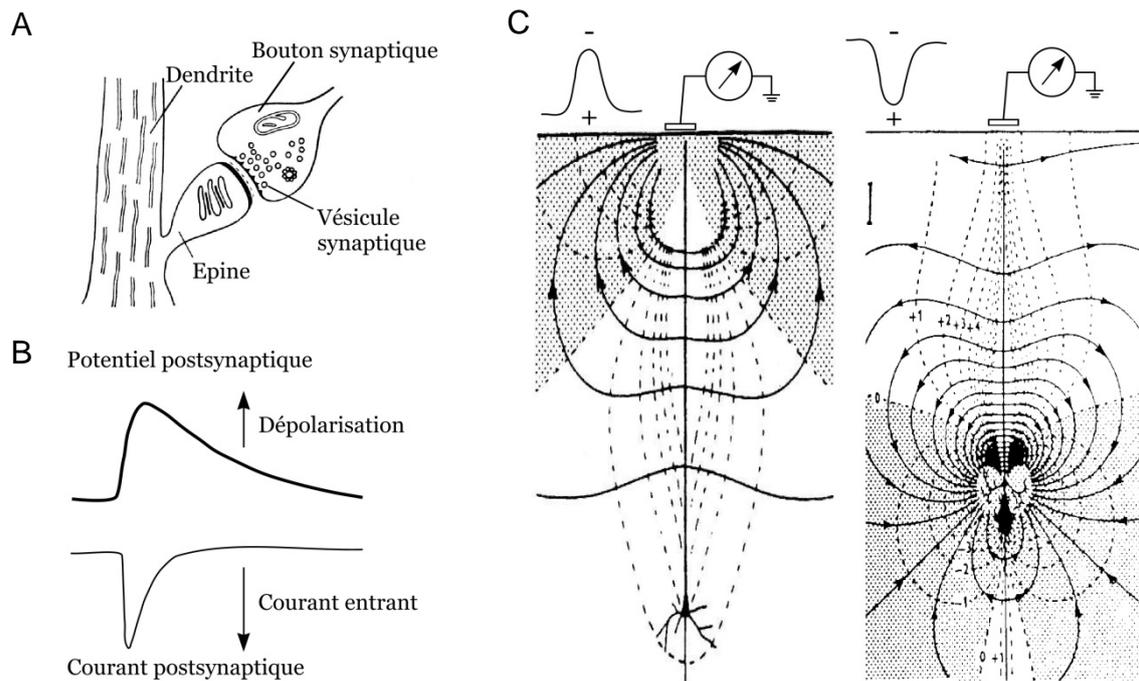


Figure 2 : Bases cellulaires de l'activité EEG. A, Représentation schématique d'une épine dendritique d'une cellule pyramidale montrant la terminaison axonale d'un neurone présynaptique et les vésicules synaptiques contenant les neurotransmetteurs. B, La fixation du glutamate aux récepteurs post-synaptiques induit un courant synaptique entrant générant une dépolarisation membranaire. C, Origine théorique des potentiels EEG de surface évoqués par l'activité de synapses excitatrices au niveau distal de la dendrite apicale (gauche) et au niveau du corps cellulaire (droite). Les flèches indiquent le sens des flux de courant. Les zones « négatives » et « positives » sont indiquées respectivement par les zones sombres et claires. A, B, d'après Charpier, 2004 ; C, d'après Creutzfeld, 1995.

électriques générés par plusieurs milliers de neurones (Charpier, 2004 ; Lopes da Silva et van Rotterdam, 2005). Plus particulièrement, les neurones pyramidaux du cortex cérébral sont les principales cellules responsables de l'activité enregistrée sur l'EEG. Ces neurones possèdent des dendrites apicales longues et épaisses produisant des flux de courant de grande intensité le long de l'axe somato-dendritique. Ces dendrites apicales sont agencées parallèlement les unes avec les autres et perpendiculairement à la surface du cortex. Cette organisation permet une sommation importante des potentiels de champs détectables au niveau du scalp malgré la forte atténuation du signal par le scalp, l'os du crâne et les méninges (Geisler et Gerstein 1961).

L'amplitude de l'onde EEG dépend donc essentiellement de l'alignement spatial des neurones pyramidaux, du nombre de dipôles générés et du niveau de synchronie de ces dipôles (Buzsáki et coll., 2012). Il est important de noter que l'électrode d'EEG récolte la sommation de potentiels de champs en surface. Par conséquent, une déflexion de potentiel électrique « positive » sur l'EEG ne permet pas de conclure quant à la nature excitatrice ou inhibitrice des événements synaptiques sous-jacents ; en effet la polarité du potentiel

enregistré dépend de la position relative des activités synaptiques à l'origine des potentiels de champs par rapport à l'électrode d'enregistrement (Charpier 2004 ; Speckmann et Elger, 2005 ; Figure 2C).

A partir de l'analyse fréquentielle du signal EEG il est possible de mettre en évidence des activités électriques plus ou moins oscillatoires, ou rythmes, reflétant une propriété essentielle des réseaux neuronaux, à savoir leur capacité à fonctionner en synchronie (Singer, 1993). On distingue différentes classes de rythme en fonction notamment de la fréquence de l'oscillation. L'amplitude de ces oscillations étant inversement proportionnelle à leur fréquence (Buzsáki et Draguhn, 2004 ; Destexhe et Rudolph-Lilith, 2012), les assemblées de neurones oscillant à haute fréquence sont composées d'un nombre plus faible de neurones que celles oscillant à plus basse fréquence (Singer, 1993 ; Figure 3).

Les fluctuations spontanées de potentiels électriques enregistrés sur l'EEG reflètent donc l'activité électrique endogène des réseaux de neurones et définissent ainsi l'état cortical. Cette activité spontanée interne varie en amplitude et en fréquence en fonction des différents niveaux de sommeil, d'éveil et d'attention (Figure 4). Par ailleurs, l'altération des états de vigilance physiologiques causée par des troubles neurologiques tels que les comas, ou faisant suite à l'administration d'anesthésiques généraux modifie la dynamique de cette activité interne. Bien qu'il existe un continuum d'états corticaux (Harris et Thiele, 2011), on peut

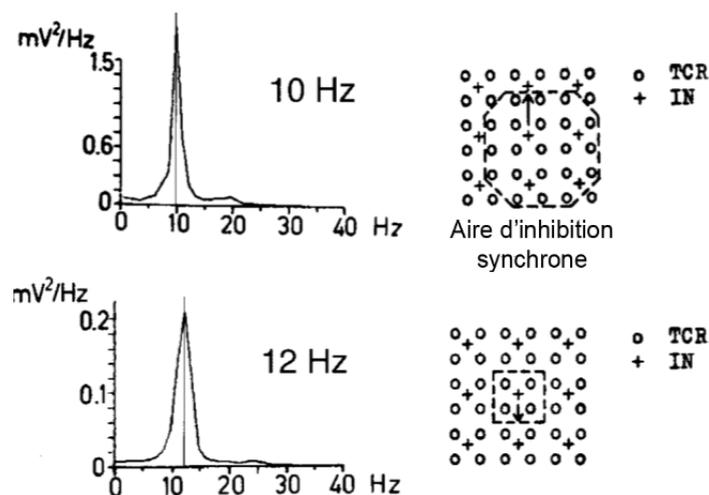


Figure 3 : Oscillations et population neuronale. Résultats d'une simulation montrant la relation entre la fréquence de l'oscillation et le nombre de neurones interconnectés. En diminuant le nombre de neurones interconnectés, l'amplitude du signal est réduite et sa fréquence augmente. TCR : neurones relais thalamo-corticaux. IN : interneurons. D'après Pfurtscheller et Lopes da Silva, 1999.

cependant classifier les activités électriques spontanées en fonction des différents rythmes générés et de l'état de vigilance auquel ils correspondent.

b) Les rythmes de l'éveil et du sommeil paradoxal

Pendant l'éveil, l'activité EEG est caractérisée par des fluctuations irrégulières, de faibles amplitudes oscillant à des fréquences relativement élevées (Steriade et coll., 1993a ; Destexhe et coll., 1999 ; Figure 4A). L'activité EEG, caractérisée par une faible cohérence spatio-temporelle entre régions corticales distantes est dite « désynchronisée » (Destexhe et coll., 2007). On parle encore d'état « activé » en raison de l'activation du système réticulaire ascendant du tronc cérébral, responsable du maintien de l'état de veille (Lee et Dan, 2012). Bien que l'activité globale soit désynchronisée, il existe des rythmes variés dans une bande de fréquences assez large.

Le rythme alpha

Le rythme *alpha* apparaît dans des conditions d'éveil relaxé, principalement dans les régions postérieures de la tête, avec généralement des amplitudes plus grandes dans les aires occipitales (Adrian et Matthew, 1934). Bien qu'il existe une grande variabilité selon les individus, la fréquence des oscillations qui caractérisent l'*alpha* chez l'adulte est comprise entre 8 et 13 Hz (Niedermeyer, 2005). Lorsqu'en 1929, Hans Berger décrivait pour la première fois ce rythme chez l'homme, il observait que l'activité *alpha* pouvait être bloquée en réponse à l'ouverture des yeux (Berger, 1929) ou lorsque le sujet effectuait une tâche sensorielle ou motrice (Berger, 1930). La perte d'activité *alpha* d'abord supposée comme étant la cause d'une inhibition englobant l'aire d'excitation induite par les stimuli afférents (Berger, 1933), a été ensuite décrite comme étant le résultat d'une désynchronisation de l'activité des réseaux neuronaux. Cette désynchronisation pourrait être provoquée par une augmentation de l'excitabilité cellulaire pendant le traitement de l'information corticale, dans les systèmes thalamo-corticaux (Steriade et Llinás, 1988).

L'origine du rythme *alpha* a été mise en évidence chez le chien éveillé au niveau des cellules pyramidales du cortex (Lopes da Silva et Storm Van Leeuwen, 1977). Ces oscillations apparaissent dans des régions restreintes du cortex à partir desquels elles se propagent. Cette activité peut cependant aussi être enregistrée dans le thalamus visuel bien que la cohérence thalamo-corticale de ce rythme soit plus faible que la cohérence cortico-corticale (Lopes da Silva, 2010).

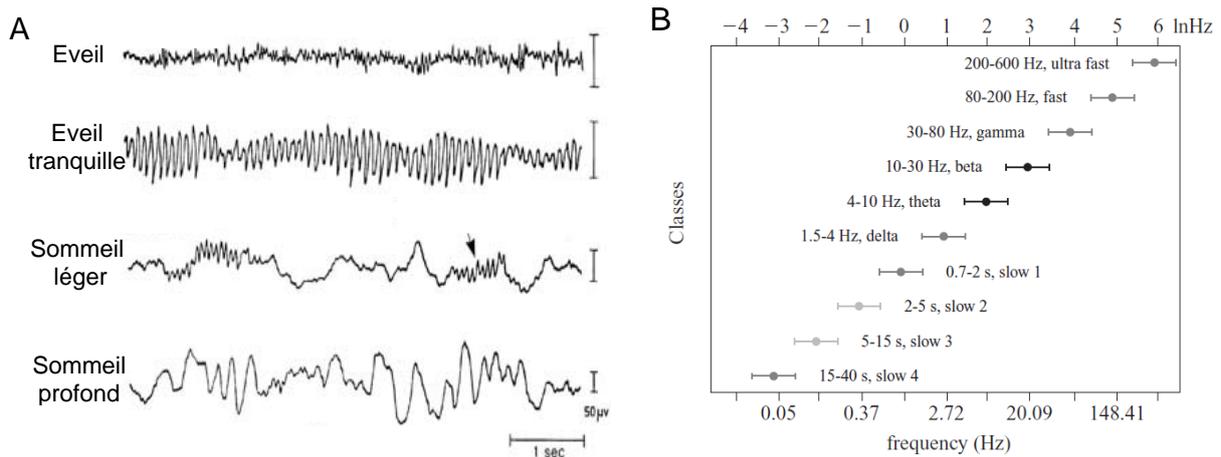


Figure 4 : Rythmes EEG et états de vigilance. **A**, Exemples d'activités EEG enregistrées chez l'homme au cours de divers états de vigilance. Noter les différents rythmes observables dans chaque état de vigilance ; rythme « désynchronisé » de veille, rythme *alpha* pendant l'éveil tranquille, fuseaux de sommeil pendant le sommeil léger (flèche) et oscillation *delta* pendant le sommeil profond. **B**, Représentation des différentes classes d'oscillation dans le cortex cérébral sur une échelle logarithmique de fréquence. A, d'après Creutzfeld, 1966 ; B, d'après Penttonen et Buzsaki, 2003.

Le rythme mu

Le rythme *mu* rolandique est relié au rythme *alpha* postérieur en termes de fréquence et d'amplitude. Cependant, on peut observer des différences au niveau de sa topographie et de sa signification physiologique (Niedermeyer, 2005). Ce rythme *mu* est caractérisé par une composante négative pointue suivie d'une composante positive arrondie. Sa fréquence la plus commune est comprise dans la bande 9 - 11 Hz, légèrement plus grande que la fréquence du rythme *alpha* (Storm Van Leeuwen et coll., 1978). La distribution spatiale de ce rythme est principalement confinée dans la région centrale mais peut s'étendre à la région pariétale. Le rythme *mu* est relié à l'activité du cortex moteur ainsi qu'à celle du cortex somatosensoriel adjacent. Si pour la plupart des individus cette activité est bilatérale, la cohérence bilatérale demeure assez faible (Storm Van Leeuwen et coll., 1978). Des études de magnétoencéphalographie ont montré que ce rythme *mu* était souvent associé à un rythme plus rapide dans la bande *bêta* (20 Hz) dont la genèse supposée serait le cortex moteur (Salmelin et Hari, 1994).

Le rythme *mu* peut être bloqué bilatéralement par les mouvements volontaires ou passifs. Cet arrêt de l'activité *mu* ou désynchronisation précédant le mouvement (Figure 5) débute dans la région rolandique controlatérale puis devient progressivement bilatérale juste avant le mouvement. Cette désynchronisation semble refléter une pré-activation non spécifique des neurones moteurs permettant l'amorçage de l'activité neuronale à l'origine du

mouvement dans les aires motrices (Pfurtscheller et Lopes da Silva, 2005). Des études ont montré qu'au cours d'un mouvement volontaire de la main, on pouvait observer non seulement une désynchronisation contralatérale du rythme *mu* mais aussi une augmentation des rythmes *alpha* occipitaux (Pfurtscheller et Lopes da Silva, 2005). De la même façon, un mouvement volontaire de la main peut entraîner une désynchronisation au niveau de l'aire corticale motrice de la main couplée à une augmentation de la synchronie dans l'aire motrice associée au pied. Ces types de dynamiques d'activités EEG antagonistes et simultanées peuvent s'expliquer par le fait que les structures thalamiques activent, sélectivement, les aires corticales spécifiques au traitement pertinent d'une information et désactivent de façon concomitante les aires corticales non nécessaires au mouvement.

Les activités bêta/gamma

Les activités *bêta* et *gamma* sont des activités à plus hautes fréquences, susceptibles d'être enregistrées dans plusieurs aires du cerveau, essentiellement dans les régions frontales et centrales. La plupart du temps, les oscillations *bêta* sont comprises entre 13 et 35 Hz, tandis que les fréquences des oscillations *gamma* se situent au delà de 35 Hz (Niedermeyer, 2005). Il semblerait que ces activités à hautes fréquences soient initialement générées dans le cortex lui-même dans la mesure où elles peuvent facilement être enregistrées dans différentes régions corticales. Cependant, il est possible que les afférences thalamiques contribuent à l'activité rythmique dans la bande de fréquences *bêta/gamma*. En effet, la présence d'oscillations synchronisées entre 30 et 40 Hz entre le thalamus et le cortex a été démontrée chez le chat éveillé (Steriade et coll., 1996).

Ces oscillations rapides ont été enregistrées chez le chien éveillé dans des conditions d'alerte ou d'attention ciblées. Chez l'homme, une activité corticale *bêta* reliée à la performance d'une tâche motrice a pu être rapportée au niveau du cortex moteur et du cortex pariéto-temporo-occipital (DeFrance et Sheer, 1988). Ces activités sont particulièrement visibles lors de performances à des tâches motrices nécessitant une attention ciblée. Lors d'une tâche conditionnée en réponse à un stimulus visuel, Freeman et van Dijk (1987) ont trouvé, chez le singe, une forte composante à 30 Hz dans l'analyse spectrale du signal EEG du cortex visuel (Freeman et van Dijk, 1987). L'activité *bêta* centrale peut être reliée au rythme *mu* et bloquée par une activité motrice ou une stimulation tactile. En effet, dès la première seconde suivant l'arrêt d'un mouvement volontaire, la région centrale produit une synchronie dans la bande *bêta* à un moment où le rythme *mu* est, lui, toujours désynchronisé (Figure 5).

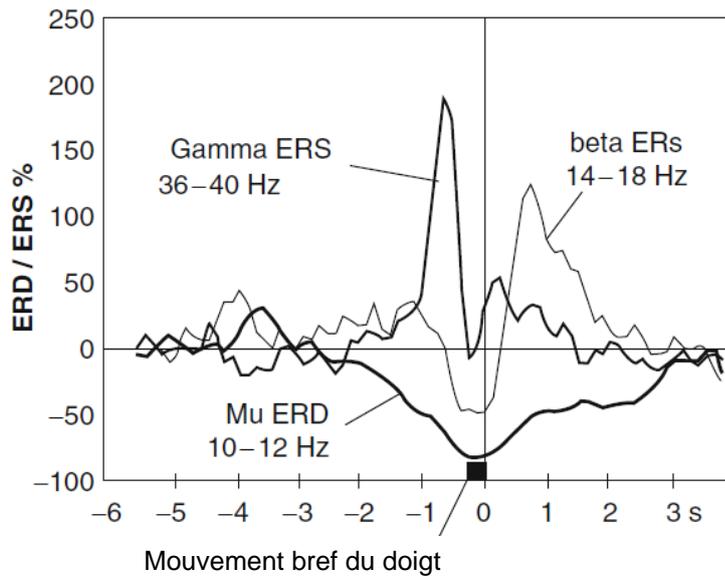


Figure 5 : Désynchronisation (ERD) et synchronisation (ERS) de l'activité EEG du cortex moteur associée au mouvement volontaire du doigt pour les trois bandes de fréquences mu, bêta et gamma. Noter les différentes dynamiques de synchronisation pour chacune des bandes de fréquences avant et après l'initiation du mouvement ($t = 0$). Une seconde avant le début du mouvement on observe une diminution de synchronie dans la bande mu et bêta associée à une augmentation de synchronie dans la bande gamma. Une augmentation de synchronie dans la bande bêta juste après le mouvement peut être associée à une déactivation du cortex moteur. D'après Lopes da Silva, 2010.

Cette augmentation de synchronie de la population neuronale corticale est également visible lorsque le mouvement volontaire est simplement imaginé : elle peut s'interpréter comme un état « désactivé » du cortex moteur. A l'inverse de la synchronisation dans la bande bêta, l'augmentation de synchronie précédant le mouvement dans la bande gamma reflète, elle, plutôt un état actif de traitement de l'information (Lopes da Silva, 2010).

Les oscillations gamma semblent aussi engagées dans de nombreux processus cognitifs tels que la prise de conscience (Crick et Koch, 1998), ou les processus mnésiques. En effet, les oscillations gamma pourraient permettre un couplage fonctionnel entre différentes aires corticales notamment au cours d'un apprentissage associatif (Miltner et coll., 1999).

Le rythme thêta

Le rythme thêta, associé chez les primates à des activités situées dans la bande de fréquences 4-8 Hz et largement distribuées à travers le cerveau, semble également impliqué dans le traitement sensoriel ainsi que dans de nombreuses tâches cognitives comme l'apprentissage, l'attention et la mémoire. Il a été montré que cette activité thêta, dans l'hippocampe, avait un rôle important dans le codage de l'information lié à la navigation spatiale (O'Keefe et Recce, 1993). Lorsque le rat explore un environnement, les oscillations thêta sont spécifiquement reliées à la décharge des cellules de lieu hippocampiques codant la position de l'animal.

Chez l'homme, Kahana et ses collaborateurs (1999) ont montré que ces activités *thêta* de grandes amplitudes, pouvaient être enregistrées dans de nombreuses régions corticales et qu'elles pouvaient avoir une importance dans la cognition spatiale (Kahana et coll., 1999). Dans cette étude, les oscillations *thêta* survenaient plus fréquemment lorsque les patients étaient placés dans un labyrinthe virtuel complexe. Cette étude montrait en outre une augmentation de la puissance spectrale des oscillations *thêta* lors de tâches cognitives, et notamment de mémorisation verbale ou spatiale (Gevins et coll., 1997 ; Kahana et coll., 2001).

Le sommeil paradoxal

Le sommeil paradoxal correspond à un stade du sommeil survenant après le stade 4 de sommeil. Il est classiquement associé à la période de rêve (Aserinsky et Kleitman, 1953). Ce stade de sommeil est caractérisé par une perte du tonus musculaire, en raison de l'hyperpolarisation des motoneurones spinaux (Steriade et coll., 1990), ainsi que par la présence de mouvements oculaires rapides (*Rapid Eye Movement*, REM sleep en anglais). L'EEG associé à cet état de sommeil est « paradoxalement » assez similaire à celui d'un individu éveillé. Il est composé d'activités rapides de faible amplitude, globalement désynchronisées et comparables à celles observées sur un EEG de veille. Tout comme dans l'état cérébral de veille, on parle d'état « activé » du fait de l'activation de certains noyaux du système réticulé ascendant au niveau du tronc cérébral (Fuller et coll., 2007).

Des rythmes *alpha* compris entre 8 à 11 Hz avec une puissance spectrale maximale dans les régions pariéto-occipitales ont été mis en évidence lors du sommeil paradoxal (Roth et coll., 1999), indiquant une distribution spatiale similaire à celle du rythme *alpha* de veille. Ces activités sont également modulées par les mouvements rapides des yeux. Des bouffées d'activités de fréquence similaire au rythme *alpha* de même distribution topographique mais sans modulation par les mouvements des yeux ont aussi été mises en évidence (Cantero et coll., 2000).

A l'aide d'enregistrement magneto-encéphalographique chez l'homme, Llinás et Ribary (1993) ont montré qu'il existait des oscillations rapides (40 Hz) et cohérentes pendant le sommeil paradoxal de la même façon que pendant l'éveil (Llinás et Ribary, 1993). La présence d'oscillations rapides pendant le sommeil paradoxal a aussi été mise en évidence chez le chat (Steriade, 1997) et le rat (Franken et coll., 1994). L'activation de ces oscillations rapides semblerait être influencée par les systèmes neuromodulateurs dont les efférences

larges et diffuses peuvent synchroniser à hautes fréquences des populations corticales et sous-corticales distantes (Lydic et Baghdoyan, 2005 ; Corsi-Cabrera et coll., 2015).

La similarité de cet état cortical à celui de veille a amené Llinás et Paré (1991) à proposer l'hypothèse selon laquelle la veille et le sommeil paradoxal sont des états fonctionnels fondamentalement similaires et dont la principale différence résiderait, pour le sommeil paradoxal, dans l'incapacité des entrées sensorielles à activer l'« appareil générateur de conscience thalamo-cortical », et à provoquer des conséquences cognitives. Autrement dit, l'éveil se définirait comme un état de rêve modulé par les contraintes produites par les entrées sensorielles (Llinás et Paré, 1991).

c) Les oscillations du sommeil

Le développement des phases de sommeil, de l'endormissement au sommeil profond, s'accompagne sur l'EEG d'un ralentissement progressif des oscillations couplé à une augmentation de leur amplitude. Les différents stades (stade I à IV) s'enchaînant de façon plus ou moins cyclique au cours de la nuit (Dement et Kleitman, 1957), ont pu être répertoriés, entre autres grâce à l'identification des différents rythmes présents lors du sommeil.

Les fuseaux de sommeil

Les fuseaux de sommeil (*spindles* en anglais) correspondent à des oscillations dont les fréquences sont comprises entre 7 et 14 Hz. Ces fuseaux sont définis par l'association d'ondes d'amplitudes croissantes puis décroissantes sur une période relativement courte (une à deux secondes) et par la survenue périodique de cette séquence à une fréquence de 0.2 à 0.5 Hz. Ces oscillations apparaissent lors de l'endormissement ainsi que durant les stades précoces du sommeil, essentiellement en stade 2 mais aussi en stade 3. Elles surviennent d'abord dans les régions du vertex et de façon plus accentuée, dans les aires frontales avec un maximum d'amplitude au niveau de la ligne frontale médiane. La présence de ces oscillations est souvent combinée à des grapho-éléments de grandes amplitudes appelés « complexes K », comprenant une onde positive ample suivie d'une composante négative lente. Morison et Bassett (1945) ont montré, après avoir effectué une décortication chez le chat, que ces fuseaux étaient toujours enregistrés, laissant supposer qu'ils avaient une origine thalamique (Morison et Bassett, 1945). Cependant, leur forme et la synchronisation entre les aires thalamiques sont influencées par l'activité corticale (Steriade et Llinás 1988 ; Contreras et coll., 1997 ; Amzica et Steriade 2000 ; Figure 6). Les propriétés intrinsèques des neurones du noyau réticulaire du

thalamus jouent un rôle essentiel dans la génèse de ces oscillations (voir section 1-2.2.c de l'Introduction).

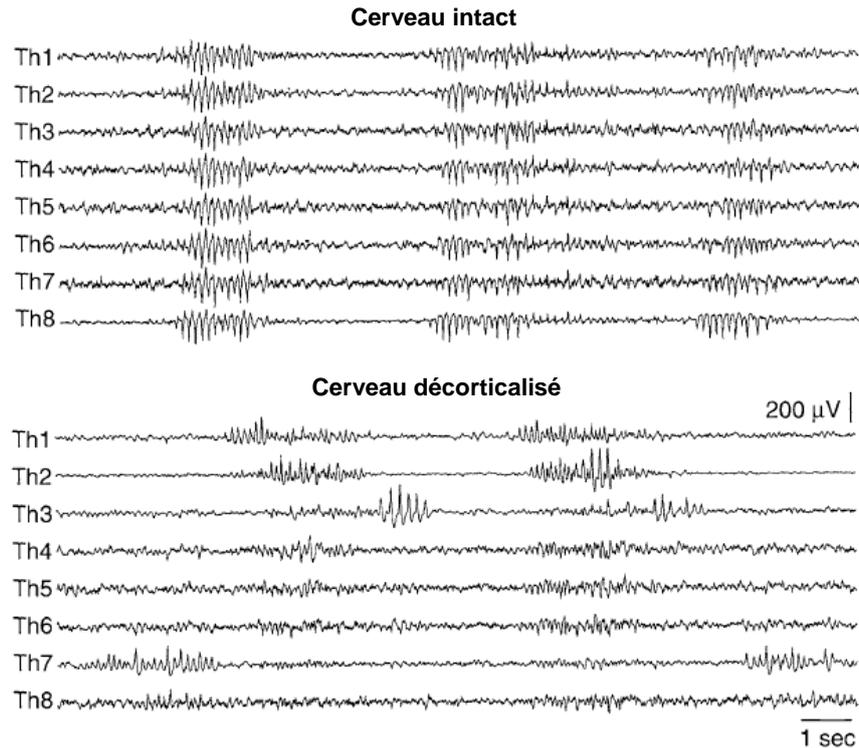


Figure 6 : Effet de la suppression du cortex cérébral sur les fuseaux de sommeil thalamiques de chat. Enregistrements des potentiels de champs locaux de 8 régions thalamiques dans un réseau thalamo-cortical intact (haut) et après avoir effectué une ablation du cortex de l'hémisphère gauche (bas). Dans le cerveau intact, trois séquences de fuseaux de sommeil de 8 à 9 Hz de 1 à 3 s surviennent simultanément dans les potentiels de champs locaux. Noter que après décorticalisation, les fuseaux de sommeil persistent mais la synchronie de ces oscillations entre les différentes électrodes thalamiques est fortement altérée. D'après Amzica et Steriade, 2000.

Les ondes delta

Le stade 3, ou sommeil profond est caractérisé par un ralentissement de la fréquence des oscillations corticales dans les fréquences *delta* (1 à 4 Hz). Ces activités à basse fréquence sont composées de fluctuations de potentiels amples suggérant une synchronie importante et le recrutement d'une grande population de neurones pyramidaux. Ces activités EEG lentes sont généralisées dans tous le cortex mais sont particulièrement proéminentes dans les régions antérieures (Niedermeyer, 2005). La présence de ces oscillations est, elle aussi, associée à la présence de complexes K.

L'origine thalamique des ondes *delta* a été proposée par Steriade et ses collaborateurs (1987), en montrant que ces oscillations lentes restaient présentes après déconnexion du cortex cérébral (Steriade et coll., 1987). Une origine corticale a cependant été proposée en montrant le maintien de ces oscillations après thalamectomie chez le chat (Villablanca, 1974).

Les ondes lentes

Le passage en stade 4 s'accompagne d'un ralentissement des oscillations sur l'EEG. Les ondes *delta* laissent place à des oscillations très lentes inférieures à 1 Hz de plus grandes amplitudes et associées à une synchronie spatio-temporelle à grande échelle dans tout le cortex (Sejnowski et Destexhe, 2000). Leur origine corticale a pu être démontrée en tenant compte de la persistance de leurs activités après thalamectomie (Steriade et coll., 1993*b*) et l'absence de ce rythme dans le thalamus d'animaux décorticalisés (Timofeev et Steriade, 1996). Ces oscillations lentes omniprésentes sur l'enregistrement EEG sont néanmoins associées à des activités à hautes fréquences dans la bande *bêta/gamma*. Ces brefs épisodes d'activités rapides survenant uniquement pendant la composante positive de l'onde lente ont des propriétés similaires aux oscillations rapides et soutenues de l'éveil (Steriade et coll., 1996 ; Destexhe et coll., 1999).

Selon plusieurs études, ces oscillations lentes pourraient participer à la consolidation à long terme de la mémoire (Sejnowski et Destexhe, 2000 ; Marshall et coll., 2006). Plus précisément, les brèves périodes d'oscillations rapides survenant de manière alternées lors de l'onde lente permettraient de rejouer les informations perçues pendant l'éveil et de les stocker (Sejnowski et Destexhe, 2000).

d) Les activités cérébrales induites par les anesthésiques

Les anesthésiques sont des molécules dont la propriété est d'altérer l'état d'éveil, en produisant un effet analgésiant, et tranquillisant, pouvant aller jusqu'à une perte de conscience totale. Il existe différentes familles d'anesthésiques classées en fonction de leur mode d'action.

Les agonistes des récepteurs opioïdes comme la morphine ou le fentanyl ont une action principalement analgésique et neuroleptique mais peuvent à forte dose provoquer une perte de conscience (Sebel et coll., 1981). Les récepteurs opioïdes sont exprimés principalement au sein du tronc cérébral par les neurones de la substance grise periaqueducule (PAG) et de la médulla rostroventrale (RVM) mais aussi dans d'autres structures telles que les ganglions de la base, l'amygdale, la moelle épinière ou le néocortex (Férezou et coll., 2007 ; Brown et coll., 2011). Le principal mécanisme d'action de ces drogues réside dans l'activation des récepteurs opioïdes qui ont pour effet de diminuer la transmission de l'information nociceptive en activant la voie inhibitrice descendante (Brown et coll., 2010).

C'est principalement par l'inhibition du traitement nociceptif que le fentanyl altère l'état d'éveil. Cependant, le fentanyl a aussi un effet modéré sur le système ascendant cholinergique en diminuant l'activité cholinergique des neurones du tegmentum pedunculopontin (PPT) et latérodorsal (LDT) projetant sur le thalamus (Lydic et Baghdoyan, 2005).

Freeman et Ingvar (1967) ont montré que L'EEG de chats sous fentanyl était relativement proche d'un EEG activé de veille. Il est composé d'activité désynchronisée et de rythmes rapides associés à l'éveil (Freeman et Ingvar, 1967). Chez le rat, à des concentrations induisant un état de sédation ($10 \mu\text{g.kg}^{-1}$), l'injection de fentanyl entraîne un EEG désynchronisé similaire à un EEG de veille (Mahon et coll., 2001 ; Bruno et Sakmann, 2006). Dans le même sens, Simons et collaborateurs (1992) ont montré que la latence de la réponse extracellulaire évoquée par des stimulations sensorielles des vibrisses était similaire dans un état d'éveil et dans un état de sédation au fentanyl (Simons et coll., 1992). A forte dose chez l'homme ($70 \mu\text{g.kg}^{-1}$), l'injection de fentanyl peut cependant provoquer des oscillations dans la bande *delta* sur l'EEG (Scott et coll., 1985).

Les molécules ayant pour caractéristique de potentialiser la transmission GABAergique en agissant sur les récepteurs GABA_A – c'est le cas des barbituriques, des benzodiazépines, de l'isoflurane ou du propofol – conduisent à une sédation suivie d'une apnée, d'une atonie et d'une perte de conscience (effet hypnotique) (Brown et coll., 2011). Les barbituriques atteignent rapidement les neurones GABAergiques des centres respiratoires du pons et du bulbe rachidien ainsi que les centres de veille du tronc cérébral de l'hypothalamus et du prosencéphale basal, induisant ainsi la perte de conscience (Saper et coll., 2005). De plus, les hypnotiques GABAergiques contribuent à cette perte de conscience en augmentant l'activité inhibitrice des interneurons du noyau réticulaire thalamique et du cortex. Ces molécules produisent, à faible concentration, une activité EEG qui a pour particularité d'être dominée par des ondes biphasiques oscillant périodiquement dans une bande de fréquences similaire aux fuseaux de sommeil enregistrés pendant les premiers stades de sommeil chez le chat et le rat (Gottesmann, 1992 ; Steriade et coll., 1993b ; Mahon et coll., 2006). A plus forte dose, ces molécules sont la cause d'un ralentissement de l'activité cérébrale, menant à un patron d'activité EEG discontinue de *burst-suppression*, caractérisé par des périodes d'inactivités complètes, alternant périodiquement avec des bouffées d'activités amples (*burst* en anglais) oscillant entre 2 à 15 Hz (Steriade et coll., 1994 ; Kroeger et Amzica, 2007). Cette dépression globale de l'activité du système nerveux central

peut être utilisée pour stopper des décharges épileptiques lors d'états de mal hyper réfractaire (Dan et Boyd, 2006). A des doses encore plus forte, un tracé EEG totalement isoélectrique peut être obtenu correspondant à un arrêt complet des activités électro-cérébrales (Sutton et coll.,1982 ; Husain, 2006 ; Figure 7).

Les antagonistes des récepteurs NMDA tels que la kétamine ont un effet analgésique et dissociant. L'effet hallucinatoire de cette famille d'anesthésique est supposé être lié à l'augmentation de l'activité excitatrice qu'il induit en inhibant préférentiellement l'activité des interneurons GABAergiques (Brown et coll., 2011). L'activité cérébrale associée est composée d'oscillations assez rapides. Chez l'animal, l'anesthésie générale est provoquée par une injection de kétamine couplée à de la xylazine, un agoniste des adrénorécepteurs alpha 2 inhibant les centres d'éveil ascendants via l'inactivation du locus coeruleus. La combinaison de ces deux drogues a pour effet de générer une activité cérébrale spontanée composée d'oscillations lentes inférieurs à 1 Hz similaire à celle obtenue lors du sommeil profond (Steriade et coll., 1993b).

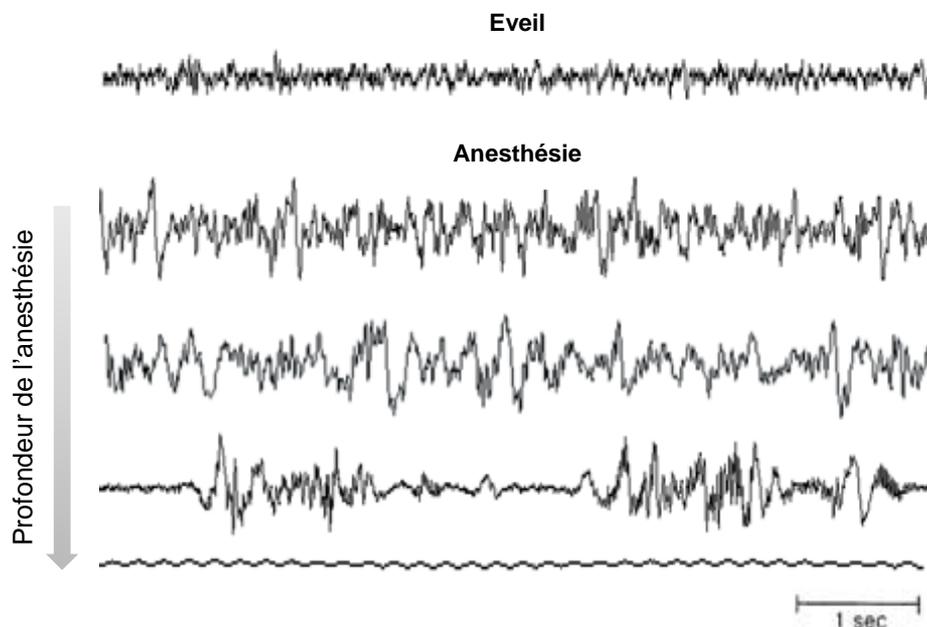


Figure 7 : Effet dose-dépendant des anesthésiques agissant sur les récepteurs GABA_A sur l'activité EEG. L'augmentation de la dose d'anesthésie induit un ralentissement progressif des activités EEG jusqu'à l'apparition de période d'inactivité de plus en plus longue. Le stade le plus profond correspond à un tracé totalement isoélectrique associé à un arrêt des activités électriques spontanées. D'après Brown et coll., 2010.

e) Les comas

Le coma correspond à un état cérébral pathologique défini par une absence de réactivité comportementale à l'environnement et par une abolition de la vigilance non réversible par des stimulations sensorielles. Généralement, il est provoqué par des lésions cérébrales sévères d'origine diverses (traumatique, toxique, hypoxique). A ce stade, l'activité synaptique spontanée associée apparaît, elle aussi, très variée et dépend de l'étiologie du coma et de la sévérité de la lésion cérébrale (Young, 2000 ; Husain, 2006 ; Brown et coll., 2011). De ce fait, l'analyse de l'activité EEG est essentielle dans la caractérisation du coma bien qu'elle ne soit pas forcément spécifique à une étiologie.

Des ondes diffuses et continues dans la bande *thêta* ou *delta* sont caractéristiques d'états comateux indépendamment de l'étiologie du coma (Sharbrough, 2005). On peut retrouver dans un EEG de coma des patrons typiques de sommeil, comme des fuseaux de sommeil ou des complexes K. Le patron en ondes triphasiques consistant en une répétition de déflexions de grande intensité à faibles fréquences (2-3 Hz) peut survenir à la suite de diverses encéphalopathies telles que l'anoxie, l'urémie ou l'hypoglycémie (Husain, 2006). Le coma résultant d'une lésion du tronc cérébral ou d'une anoxie encéphalopathique sévère, peut provoquer une activité spontanée corticale dont l'EEG est composé d'activités rythmiques dans la bande de fréquences correspondant au rythme *alpha*. La distribution de ces oscillations *alpha* est cependant diffuse dans tout le cortex par opposition au rythme *alpha* de veille.

Un des patrons les plus critiques d'EEG de coma est le patron de *burst-suppression*. La profondeur du coma est d'autant plus grande que les périodes de suppression augmentent et les périodes de bouffées diminuent (Young, 2000). Ce patron d'activité est le signe d'une encéphalopathie sévère, dont les étiologies les plus fréquentes sont l'anoxie à la suite d'un arrêt cardiaque, l'hypothermie ou l'intoxication médicamenteuse. Le pronostic associé dépend fortement de l'étiologie du coma (Husain, 2006). Certaines études ont pu montrer qu'à la suite d'un traitement aux barbituriques lors d'états de mal épileptique hyper réfractaire, il pouvait subsister lors des périodes de « suppression », une réactivité sensorielle (Jäntti et coll., 1994; Dan et Boyd, 2006). De même, chez le chat et le rat, des études ont pu montrer que dans des états de *burst-suppression* induit par l'isoflurane ou l'urethane, une réactivité sensorielle persistait (Steriade et coll., 1994 ; Kroeger et Amzica, 2007 ; Ferron et coll., 2009).

Le silence électro-cérébral est associé à un tracé EEG totalement plat, ou isoélectrique correspondant à l'absence d'activité synaptique spontanée. On qualifie d' « isoélectrique » un tracé lorsque, dans les conditions standards d'enregistrement, l'amplitude des fluctuations de potentiels enregistrées est inférieure à 10 μ V (Young, 2000 ; Stecker et coll., 2001 ; Husain, 2006 ; André-Obadia et coll., 2014). Le tracé isoélectrique est la forme la plus sévère de coma et constitue un des critères définissant la mort encéphalique, d'un point de vue juridique et neurobiologique. Les étiologies associées à ce patron sont diverses : elles peuvent être anoxique (Fink et coll., 2004), hypothermique (Stecker et coll., 2001), liées à une intoxication (Belze et coll., 2013), ou à une encéphalite (Trojaborg et Jorgensen, 1973). D'un point de vue clinique, le pronostic vital ainsi que la probabilité de sortie du coma « isoélectrique » dépendent fortement de l'étiologie associée. L'EEG isoélectrique résultant d'une intoxication médicamenteuse ou d'une hypothermie peut être réversible (Bental et Leibowitz, 1961 ; Young, 2001 ; Husain, 2006 ; Kroeger et Amzica, 2007). La suppression de toute activité synaptique spontanée est généralement associée, dans le cortex et le thalamus, à une perte de réactivité à des stimuli provenant de l'environnement (Domino et al., 1963; Kirshbaum et al., 1970; Friedberg et coll., 1999 ; Kroeger & Amzica, 2007) ainsi qu'à une suppression des réflexes du tronc cérébral (Chatrian et coll., 1996).

1-2.2 Corrélat intracellulaires des rythmes cérébraux : Le « bruit synaptique » néocortical

a) Origine du bruit synaptique

Nous venons de voir dans la sous partie précédente qu'il existait une grande diversité de profil d'activités EEG, variant en fréquence et en amplitude selon les différents états de vigilance physiologiques et pathologiques. Ces fluctuations de potentiels EEG plus ou moins rythmiques, résultent de l'activité spontanée des neurones corticaux.

A l'échelle du neurone, cette activité électrique spontanée prend la forme de variations du potentiel transmembranaire du neurone. En 1950, Fatt et Katz ont mis en évidence la présence d'activités synaptiques spontanées dans les fibres musculaires de la grenouille (Fatt et Katz ; Figure 1). Ces fluctuations sous-liminales, enregistrées au niveau postsynaptique de la jonction neuromusculaire, étaient décrites comme étant spontanées, d'amplitude variable et

survenant à des fréquences comprises entre 0.1 Hz à 100 Hz (Fatt et Katz, 1952). Le caractère aléatoire de cette activité, affectant la réponse du neurone à la stimulation du nerf moteur, lui valut d’être qualifiée initialement de « bruit », (Fatt et Katz, 1950).

Ce bruit électrique neuronal présent *in vivo* dans tous les neurones du système nerveux central, résulte essentiellement d’un mélange d’activités synaptiques excitatrices et inhibitrices reflétant les décharges spontanées des neurones afférents (Destexhe et coll., 2003). Dans le cortex cérébral, l’activité synaptique spontanée est particulièrement importante étant donné la connectivité extrêmement dense de cette structure (Binzegger et coll., 2004). En effet une cellule pyramidale corticale donnée reçoit approximativement plus de 5 000 entrées synaptiques (DeFelipe et Farinas, 1992 ; Binzegger et coll., 2004) et est connectée en sortie à approximativement 10 000 neurones présents localement, via des collatérales récurrentes, ainsi qu’à distance via des fibres cortico-corticales ou corticofugales (Figure 8).

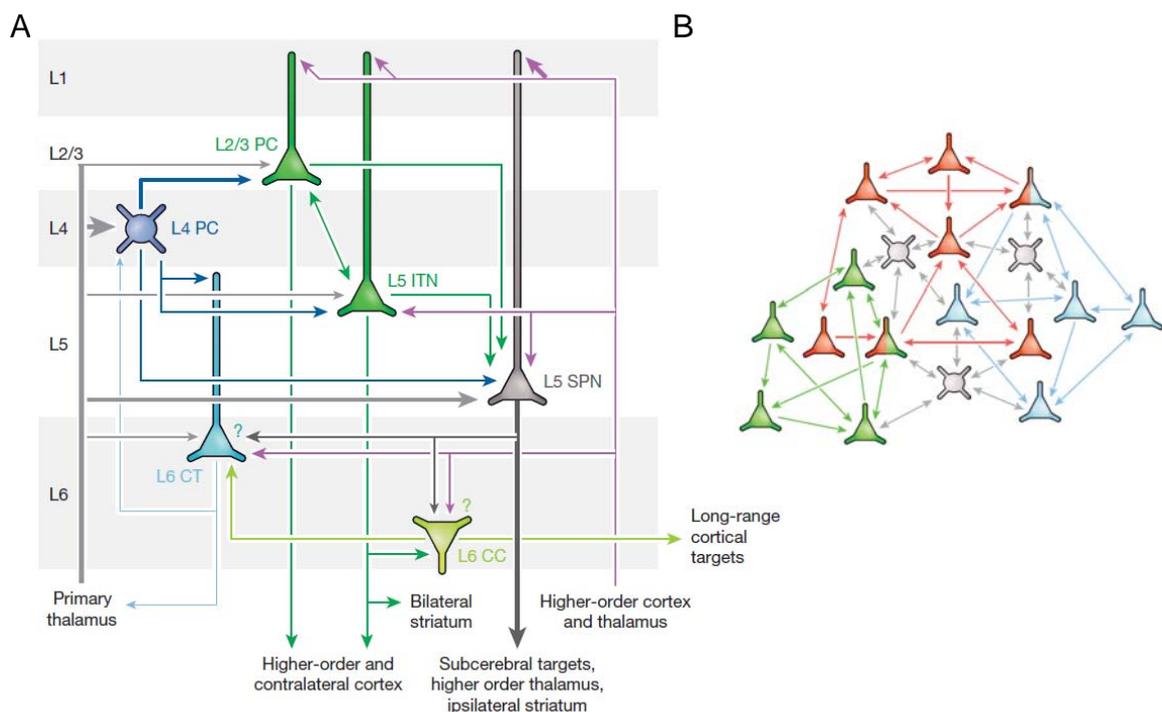


Figure 8 : La connectivité néocorticale. A, Représentation schématique de la connectivité excitatrice canonique au sein de la colonne corticale. PC, cellule principale, CT, cellule cortico-thalamique, ITN, neurone intra-téleencéphalique ; CC, neurone cortico-thalamique, SPN, neurone de projection sous cérébrale. B, Représentation schématique de la circuiterie corticale en sous-réseaux de cellules excitatrices (vert, rouge, bleu) fortement interconnectées. Les cellules excitatrices peuvent être intégrées dans plusieurs sous-réseaux, et ne sont pas forcément toutes interconnectées au sein d’un même sous-réseau. Les interneurons inhibiteurs (gris) connectent localement (flèches grises) et de façon non spécifique les neurones excitateurs. Les flèches bleues, rouges, vertes représentent la connectivité entre chaque sous-réseau. A et B, d’après Harris et Mrsic-Flogel, 2013.

De plus, une des particularités de la connectivité corticale réside dans le fait que la majeure partie de ces connexions sont intracorticales (Braitenberg et Schüz, 1998 ; Douglas et Martin, 2004). Bien que le cortex reçoive aussi des entrées synaptiques du thalamus, susceptible d'induire différents états corticaux (Poulet et coll., 2012), ainsi que des projections du tronc cérébral (Lee et Dan, 2012) et d'autres aires corticales, la majeure partie des connexions synaptiques provient du réseau local interconnecté via des connexions récurrentes (Douglas et Martin, 2004 ; Harris et Mrsic-Flogel, 2013, Figure 8).

Un neurone cortical est donc constamment soumis à un flux d'entrées synaptiques spontanées plus ou moins important et de structure temporelle variable, responsables des fluctuations de potentiels transmembranaires enregistrées dans le neurone.

b) Etat de « haute conductance »

L'équipe de Steriade (2001) a caractérisé chez le chat, à travers divers états de vigilance, l'activité intracellulaire de neurones corticaux (Steriade et coll., 2001 ; Figure 9). Selon cette étude, le patron d'activité intracellulaire observé lors de l'éveil apparaissait relativement similaire à celui observé lors du sommeil paradoxal. De même, lors du sommeil lent, le potentiel membranaire alternait entre des « états » hauts (*up states*), de dynamique

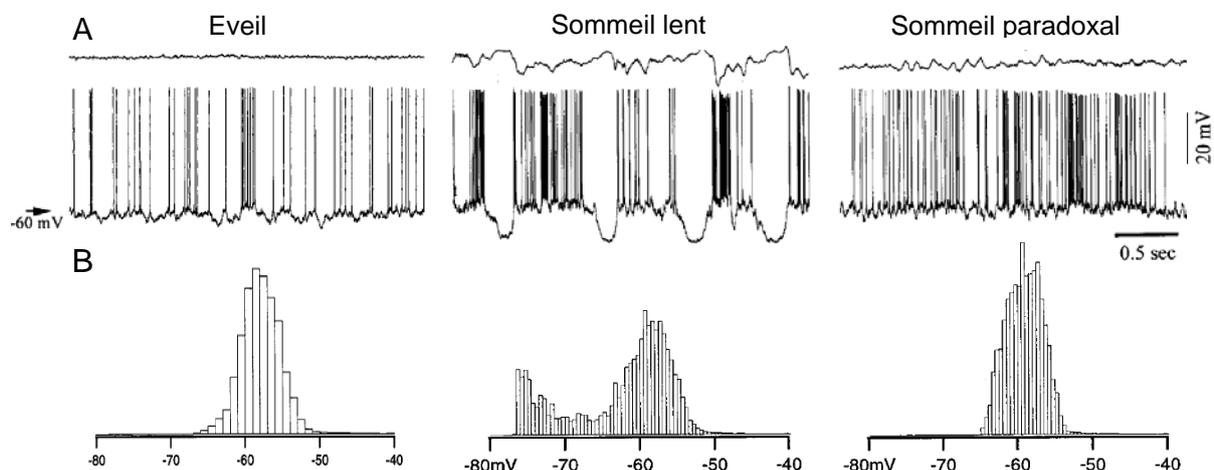


Figure 9 : Activité intracellulaire des neurones corticaux à décharge régulière pendant les états actifs. A, Enregistrements EEG (haut) et intracellulaires (bas) simultanées de neurones pyramidaux des couches V du cortex cérébral de chat pendant l'éveil, le sommeil à onde lente et le sommeil paradoxal. B, Histogramme représentant la distribution du potentiel membranaire des neurones enregistrés en A. Noter le potentiel membranaire et la fréquence de décharge similaire lors de l'éveil du sommeil paradoxal et pendant les phases dépolarisés du sommeil à onde lente. D'après Steriade et coll., 2001.

membranaire comparable à celle de l'éveil (Destexhe et coll., 2007), et des « états » bas (*down states*) hyperpolarisés.

Dans ces états, l'activité synaptique spontanée prend la forme de variations irrégulières et apparemment aléatoires du potentiel membranaire dont la distribution est unimodale (Steriade et coll., 2001 ; Figure 9). Ces fluctuations de faibles amplitudes surviennent à des fréquences hautes (Matsumura et coll., 1988 ; Steriade et coll., 2001). Le

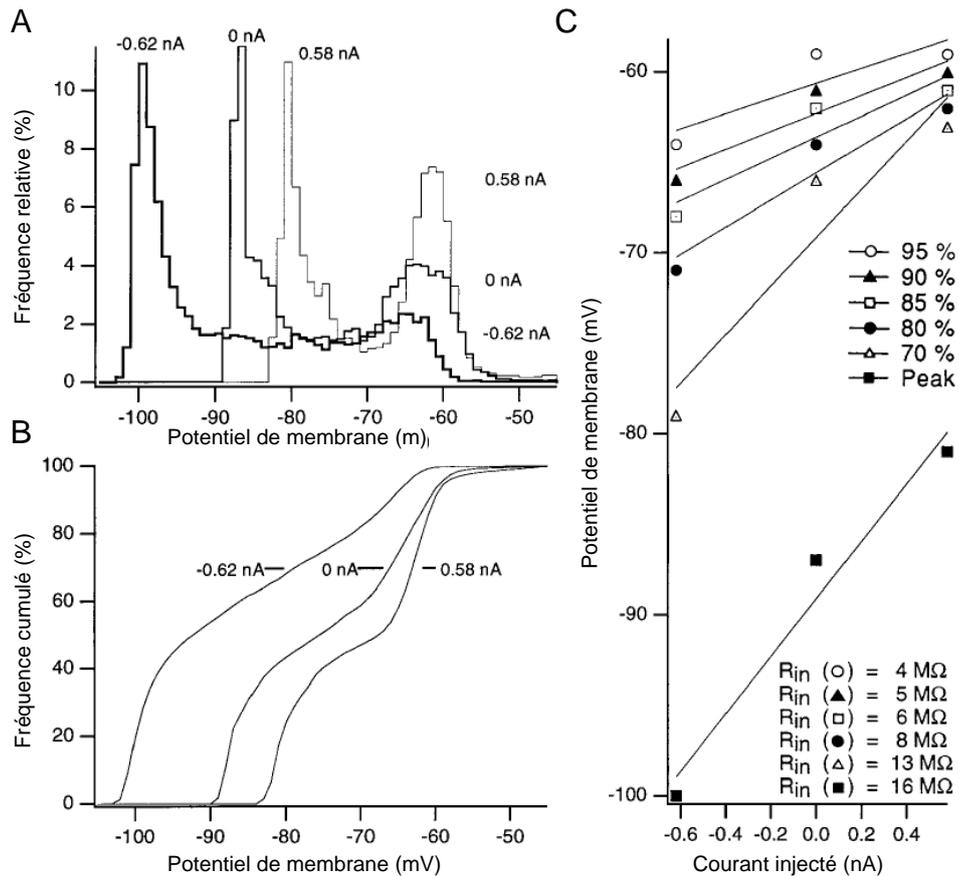


Figure 10 : Impact de l'activité synaptique sur la résistance membranaire. A, Distribution normalisée du potentiel membranaire (V_m) spontanée d'une cellule pyramidale et à la suite de deux injections de courant ($I = -0.62, 0.58 \text{ nA}$) chez le chat anesthésié à la kétamine/xylazine. Noter l'effet différentiel des injections de courant sur chacun des modes de la distribution du V_m . **B,** distribution cumulée du V_m pour chacune des trois conditions de courant injecté. **C,** Mesure du potentiel membranaire en fonction du courant injecté lorsque 70, 80, 85, 90 ou 95 % des valeurs de V_m sont atteintes en B. En présence d'activité synaptique, correspondant au mode dépolarisé de la distribution du V_m (A) la résistance membranaire (R_{in}) est fortement diminuée en comparaison aux périodes d'inactivité synaptique. D'après Paré et coll., 1998.

potentiel membranaire moyen est lui, relativement dépolarisé, aux alentours de -60 mV, proche du seuil de déclenchement du potentiel d'action (PA) (Steriade et coll., 2001 ; Chen et Fetz, 2005).

Concernant l'activité supra-liminaire, la fréquence de décharge spontanée des neurones est soutenue (de 5 à 20 Hz) dans les neurones pyramidaux des couches profondes du cortex (Timofeev et coll., 2001 ; Steriade et coll., 2001) et les PA surviennent aléatoirement dans le temps, suivant un processus de Poisson (Shadlen et Newsome, 1998 ; Ermentrout et coll., 2008). La forte fréquence de décharge de ces neurones dans ces états suggère que les fluctuations rapides du potentiel membranaire résultent d'un flux massif d'entrées synaptiques excitatrices et inhibitrices. Dans ces états, les conductances excitatrices et inhibitrices peuvent être modélisées par des variables aléatoires de distribution gaussienne (Piwkowska et coll., 2008). Etant donné la forte densité de la connectivité corticale, certaines études ont proposé que, dans ces états, le neurone était soumis à un bombardement synaptique intense provoquant une forte augmentation de la conductance synaptique et mettant le neurone dans un état de « haute conductance » (Paré et coll., 1998 ; Paré et Destexhe, 1999 ; Destexhe et coll., 2003 ; Figure 10).

L'intensité du bombardement synaptique excitateur et inhibiteur semble néanmoins varier en fonction de la couche corticale étudiée (Figure 11). Plusieurs études ont montré que la fréquence de décharge neuronale enregistrée au niveau des couches superficielles était plus faible (Crochet et Petersen, 2006 ; Waters et Helmchen, 2006 ; Lee et coll., 2007 ; de Kock et Sakmann, 2009) en comparaison avec l'activité enregistrée simultanément dans les couches profondes (Sakata et Harris, 2009). Ces différents patrons d'activité spontanée peuvent s'expliquer notamment par l'architecture spécifique du réseau dans chaque couche corticale. Les neurones pyramidaux des couches V sont fortement connectés entre eux et sur de grandes distances, contrairement aux cellules pyramidales des couches superficielles (Sakata et Harris, 2009). Ces dernières sont, en conséquence, davantage hyperpolarisées, et leur potentiel membranaire est caractérisé par des fluctuations plus amples ainsi qu'une fréquence de décharge plus faible (Crochet et Petersen, 2009).

De plus, l'intensité du bombardement synaptique varie, lors de l'éveil, en fonction de l'état d'attention. En effet, un comportement de *wisking* chez le rat est associé à une fréquence de décharge élevée des neurones dans le cortex à tonneaux (de Kock et Sakmann, 2009) en opposition à la faible fréquence de décharge lors d'un éveil tranquille (Crochet et Petersen,

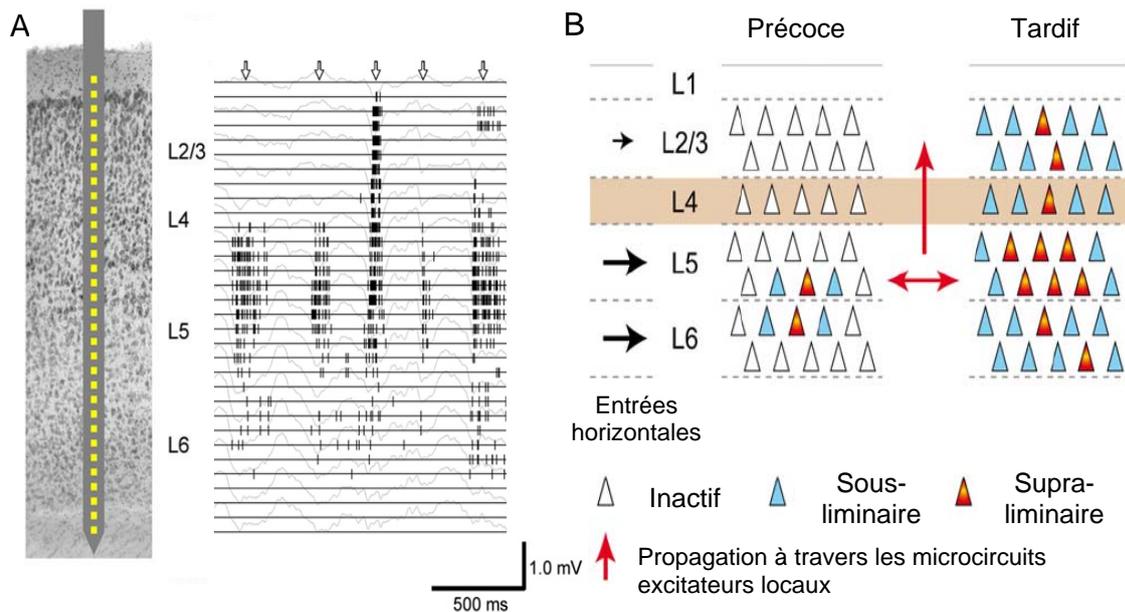


Figure 11 : Dynamiques spatio-temporelles de l'activité spontanée corticale. **A**, Représentation schématique des sites d'enregistrements de l'activité multi-unitaire (MUA) et des potentiels de champs locaux (LFP) chez le rat anesthésié à l'uréthane (Gauche). *Raster plot* des activités MUA superposées sur l'activité LFP (gris). Les flèches représentent la survenue spontanée d'états « hauts » (Droite). Noter la faible activité des cellules corticales des couches II/III si on la compare à celle de la couche V. **B**, Représentation schématique des dynamiques spatio-temporelles de l'activité spontanée corticale. L'activité spontanée initiée dans une colonne corticale pourrait débuter dans les neurones de la couche V, et se propager aux couches supra-granulaires et latéralement. Les événements précoces générant l'activité spontanée sont donc très différents de l'activité évoquée sensorielle débutant majoritairement dans la couche IV de la colonne corticale. A, d'après Sakata et Harris, 2009 ; B, d'après Crochet et Petersen, 2009

2006 ; Poulet et Petersen, 2008). A l'inverse, l'augmentation d'attention pourrait expliquer la diminution de la fréquence de décharge spontanée des neurones du cortex visuel primaire observé lors d'un comportement moteur tel que la locomotion (Bennett et coll., 2013 ; Vinck et coll., 2015).

Dans ces états corticaux, il semble que les connexions inhibitrices et excitatrices dans le réseau local récurrent, soit proportionnelles (Shu et coll., 2003b ; Haider et coll., 2006). Le bombardement synaptique est considéré comme étant « balancé », dans le sens où les conductances moyennes, excitatrice et inhibitrice, sont relativement équivalentes (Salinas et Sejnowski, 2001 ; Abbott et Chance, 2005 ; Haider et coll., 2006). Cependant, des estimations faites à partir d'enregistrements somatiques *in vivo* ont montré que pendant les états hauts, le ratio des conductances inhibitrices et excitatrices, G_I/G_E pouvait être assez variable d'une cellule à l'autre (Haider et coll., 2006). De même, des modèles théoriques se basant sur l'activité spontanée des neurones lors des états hauts, ou lors de l'état de veille, ont montré

que ce ratio pouvait être dominé par l'excitation (Waters et Helmchen, 2006), ou inversement, par l'inhibition (Rudolph et coll., 2005 ; Destexhe, 2010).

Les fluctuations irrégulières et de faibles amplitudes du potentiel membranaire ont conduit certains auteurs à penser que les entrées synaptiques arrivaient de façon désynchronisée sur le neurone, malgré la quantité d'entrées synaptiques partagées par plusieurs neurones dans un réseau récurrent (Renart et coll., 2010). Cependant des enregistrements de potentiels de champs locaux couplés à des enregistrements intracellulaires, ou encore des enregistrements intracellulaires de paires de neurones, suggèrent que lors de la veille, les fluctuations de potentiels membranaires, fortement corrélées avec l'activité spontanée du réseau, résultent d'entrées synaptiques excitatrices et inhibitrices synchrones (Okun et Lampl, 2008 ; Okun et coll., 2010 ; Tan et coll., 2014).

c) Oscillations et fluctuations bimodales

Les oscillations rythmiques observées sur l'EEG de surface supposent l'activation simultanée d'une population plus ou moins grande de neurones à la même fréquence (Steriade et coll., 1990). Quand le neurone est intégré dans un réseau oscillant, les entrées synaptiques récurrentes qu'il reçoit arrivent périodiquement (Tiesinga et coll., 2008). Le potentiel membranaire fluctue alors à la fréquence dictée par les entrées synaptiques. La fréquence et l'amplitude des oscillations dépendent cependant du réseau mis en jeu, et des propriétés intrinsèques des neurones qui le composent.

Lors des phases précoces du sommeil, les fuseaux de sommeil mettent en jeu le noyau réticulaire du thalamus (nRT) responsable de l'initiation de ces oscillations (Steriade et Llinás, 1988). Ce noyau est constitué de neurones GABAergiques interconnectés. Le cortex et le thalamus constituent les entrées principales sur ce noyau bien qu'il existe également des afférences du tronc cérébral et du prosencéphale basal. Le nRT se projette sur le thalamus dorsal et secondairement sur le tronc cérébral (Figure 12). Ces activités rythmiques sont générées par des interactions entre les connexions réciproques des neurones GABAergique du nRT associées à une conductance calcique produisant un courant transitoire à bas seuil (I_T). Ce courant calcique est inactivé à des potentiels membranaires dépolarisés (entre -55 et -60mV) et dé-inactivé quand le potentiel membranaire s'hyperpolarise (Steriade, 2005). Dans cet état dé-inactivé une légère dépolarisation permet d'activer ce courant I_T et de provoquer

un rebond rapide du potentiel membranaire et la genèse d'une bouffée de PA à bas seuil. Pendant le sommeil, l'hyperpolarisation des neurones du nRT, a pour effet de dé-inactiver ces conductances calciques à bas seuil. Les neurones du nRT se synchronisent à la fréquence des fuseaux et par conséquent inhibent rythmiquement les neurones thalamo-corticaux. Les potentiels d'action de rebond des neurones thalamo-corticaux, suivant l'inhibition des neurones du nRT, produisent des potentiels post synaptiques excitateurs rythmiques dans le

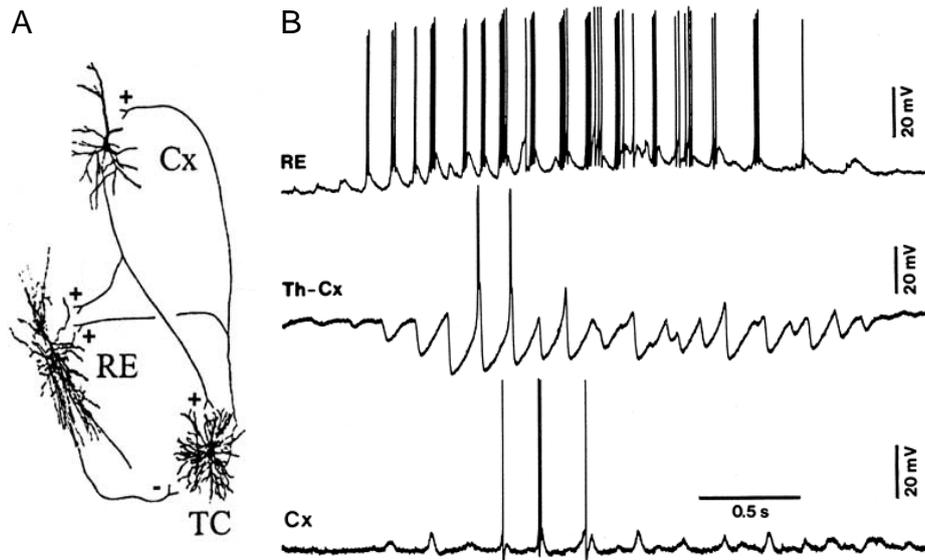


Figure 12 : Rythme des fuseaux de sommeil dans la boucle thalamo-corticale. **A**, schéma du circuit entre les trois types neuronaux impliqués dans les fuseaux de sommeil : RE, neurone réticulaire thalamique ; Th-Cx, neurone relai thalamo-cortical ; Cx, neurone cortical. **B**, Enregistrements intracellulaires dans chacun des trois types cellulaires chez le chat anesthésié aux barbituriques. La forte activité de décharge en bouffées de PA rythmiques des neurones réticulaires entraîne la génération de potentiels postsynaptiques inhibiteurs rythmiques entre 7 à 14 Hz dans les neurones relai du thalamus. L'hyperpolarisation induit occasionnellement la genèse de bouffée de PA de rebond à haute fréquence. D'après Steriade et Deschênes, 1988.

cortex (Figure 12). Les afférences corticales sur le thalamus permettent, elles, de renforcer et de synchroniser les fuseaux thalamiques (Figure 6).

Contrairement aux fuseaux générés de façon synaptique par une interaction entre le nRT et les neurones thalamo-corticaux, les oscillations *delta* d'origine thalamique sont des oscillations dépendant de deux courants entrants dans les neurones thalamo-corticaux (Steriade, 2005). McCormick et Pape (1990) ont montré que, *in vitro*, ces oscillations résultaient de l'interaction de deux conductances intrinsèques ; le courant I_T et un courant cationique mixte sodique et potassique I_H (rectificateur entrant) activé à des potentiels

hyperpolarisés et générant une dépolarisation progressive du potentiel de membrane (McCormick et Pape, 1990). Pendant le sommeil, l'hyperpolarisation des neurones thalamo-corticaux active le courant I_H et le courant I_T est dé-inactivé. La lente dépolarisation induite par le courant I_H a pour effet d'activer le courant I_T produisant une bouffée de PA. Cette dépolarisation intense dé-active le courant I_H et inactive le courant I_T . Cela résulte en une repolarisation de la membrane ayant pour effet d'activer à nouveau le courant I_H , reproduisant ainsi le cycle.

Les ondes lentes du sommeil sont caractérisées dans les neurones corticaux par de longues périodes dépolarisées (états hauts) interrompues périodiquement par des longues périodes hyperpolarisées (état bas). Le potentiel membranaire associé à cette activité synaptique est bimodal (Figure 10). Lors de la période dépolarisée, les fluctuations membranaires ainsi que la fréquence de décharge du neurone sont comparables à des activités intracellulaires de veille (Destexhe et coll., 2007). Cette longue dépolarisation est associée à une activité synaptique, excitatrice et inhibitrice, à haute fréquence couplée à l'activation d'un courant sodique persistant I_{NaP} (Steriade et coll., 1993b). L'état bas correspond probablement à un processus de disfacilitation du réseau cortico-thalamique étant donné l'absence de décharge spontanée des neurones excitateurs et inhibiteurs (Timofeev et coll., 2001). De plus, la mise en jeu d'une conductance potassique dépendante du calcium semble être responsable d'une part de l'hyperpolarisation. En effet la stimulation des noyaux cholinergiques du tronc cérébral supprime ces états bas (Figure 13), probablement via l'activation de récepteurs muscariniques diminuant plusieurs courants potassiques (Steriade et coll., 1993b ; Rudolph et

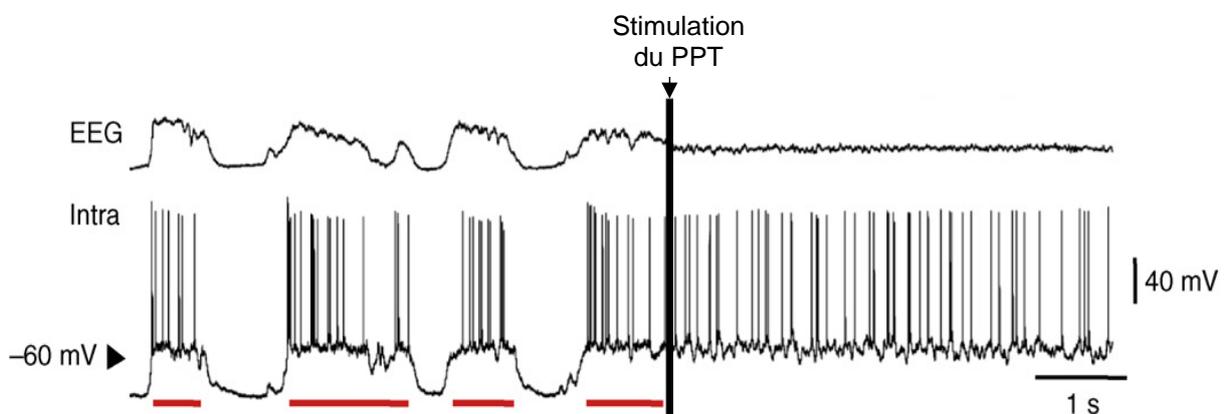


Figure 13 : Modulation de la synchronisation de l'activité EEG suite à la stimulation du noyau pédunculo-pontin (PPT) chez le chat anesthésié à la kétamine-xylazine. L'activité EEG synchronisée à basse fréquence induit par l'anesthésie est associée à une alternance d'état « haut » (barres rouges) interrompu par des périodes d'inactivité synaptique. La stimulation du PPT induit un état activé associé à une activité EEG désynchronisée de faible amplitude et une activité intracellulaire qui semble maintenue dans l'état « haut ». D'après Destexhe et coll., 2007.

coll., 2005).

d) Anesthésie et bruit synaptique

En se fixant sur leurs récepteurs cibles, les molécules anesthésiantes, peuvent modifier l'interaction synaptique spécifique entre deux neurones ainsi que leur excitabilité intrinsèque, provoquant des changements plus ou moins importants dans la dynamique de l'activité synaptique spontanée du réseau cortical.

Les opioïdes, en agissant principalement sur la voie inhibitrice descendante, affectent relativement peu l'activité synaptique corticale. Lors d'une sédation au fentanyl chez le rat, l'activité synaptique spontanée et évoquée est sensiblement similaire (Bruno et Sakmann, 2006). La plupart du temps, les neurones corticaux sont actifs spontanément, avec une fréquence de décharge assez forte, similaire à celle de l'éveil (Mahon et coll., 2001). Malgré l'impact inhibiteur du fentanyl sur les noyaux cholinergiques ascendants, le potentiel membranaire est comparable à celui des neurones dans des états activés ; il est composé de fluctuations de potentiel à haute fréquence caractérisées par une distribution unimodale du potentiel membranaire (Constantinople et Bruno, 2011).

Les anesthésiques tels que les barbituriques agissent principalement sur les récepteurs GABA_A des neurones corticaux en augmentant leur temps d'ouverture (Richards, 1972). De cette façon, les barbituriques ont la capacité de potentialiser l'action du neurotransmetteur GABA à la synapse inhibitrice en prolongeant son effet inhibiteur au niveau postsynaptique (Curtis et Lodge, 1977 ; Matsumura et coll., 1988 ; Rudolph et Antkowiak, 2004). En diminuant la cinétique de fermeture du récepteur GABA_A (R-GABA_A) dans les neurones du tronc cérébral, du thalamus et du cortex, ces molécules ont pour effet d'inhiber la décharge des neurones corticaux. *In vivo*, l'anesthésie aux barbituriques a souvent été utilisée pour mimer les rythmes en fuseaux de sommeil car elle génère une activité synaptique synchrone dans les mêmes gammes de fréquence (Steriade et coll., 1993b ; Contreras et coll., 1997). En effet, le potentiel membranaire des neurones corticaux est caractérisé par de larges dépolarisations rythmiques corrélées avec l'onde négative du fuseau sur l'EEG. L'activité synaptique oscillatoire du réseau afférent résulte en une distribution unimodale du potentiel membranaire. Ces neurones ont une fréquence de décharge spontanée faible, générés au pic de la dépolarisation synaptique (Mahon et coll., 2001). A plus forte dose, les potentialisateurs des récepteurs GABA_A produisent un patron de *burst-suppression* sur l'EEG. Des bouffées d'activités spontanées correspondent à des périodes dépolarisées avec des fluctuations amples

du potentiel membranaire dans les neurones. Les périodes de « silence », associées au profil isoélectrique de l'EEG, reflètent l'absence d'activité synaptique dans le réseau cortical et l'absence de fluctuation de potentiel membranaire dans les neurones (Kroeger et Amzica, 2007). Ces périodes de silence ont pu notamment être assimilées à un processus de disfacilitation des réseaux corticaux, thalamiques et du tronc cérébral (Steriade et coll., 1994).

L'anesthésie à l'uréthane ou à la kétamine/xylazine induit une activité synaptique proche de celle observée pendant les ondes lentes du sommeil. Le potentiel membranaire, dont la distribution est bimodale, est composé de l'alternance d'une période dépolarisée et d'une période hyperpolarisée pendant laquelle l'activité synaptique est provisoirement interrompue (Steriade et coll., 1993*b* ; Chauvette et coll., 2011).

e) Rôle de la neuromodulation

Les systèmes neuromodulateurs du tronc cérébral de l'hypothalamus et du prosencéphale basal sont activés de manière différentielle en fonction des différents états de vigilance. Ces noyaux contribuent à la modification de l'activité synaptique spontanée via des projections distantes et diffuses sur le cortex et le thalamus. Les neuromodulateurs agissent en modulant les propriétés d'excitabilité neuronales aux niveaux somatique, dendritique et axonal, et en modifiant la communication synaptique aux niveaux pré et postsynaptique (Nadim et Bucher, 2014). Les neurones monoaminergiques et cholinergiques du système activateur réticulaire ascendant du tronc cérébral se projettent largement sur l'hypothalamus, le prosencéphale basal, le thalamus et le cortex (Lee et Dan, 2012). Les neurones cholinergiques déchargent à hautes fréquences pendant l'éveil et le sommeil paradoxal (Lydic et Baghdoyan, 2005). L'activation, par l'acétylcholine, des récepteurs métabotropiques muscariniques a pour effet, en diminuant les courants potassiques lents activés par le calcium (I_{AHP}) et le courant potassiques dépendant du voltage I_M activés, de dépolariser le neurone cortical (McCormick, 1992). De cette façon, ces neuromodulateurs semblent responsables de la genèse et du maintien de la désynchronisation de l'activité synaptique corticale (Lee et Dan, 2012 ; Figure 13). La désynchronisation corticale peut être aussi la conséquence de l'activation du système monoaminergique du locus coeruleus. L'injection d'antagonistes des récepteurs noradrénergiques dans le cortex, tout comme la lésion du locus coeruleus, empêchent, lors de la veille, la dépolarisation soutenue des neurones corticaux et produit des périodes d'inactivité synaptique ainsi qu'un potentiel de membrane bimodal (Constantinople

et Bruno, 2011). Lors du sommeil paradoxal, contrairement à l'état de veille, les neurones monoaminergiques sont silencieux (Jones, 2005). De même, la modulation du profil des fluctuations de potentiel membranaire avec le niveau d'attention semble corrélée à une activation différentielle des systèmes cholinergiques et noradrénergiques (Polack et coll., 2013). Les systèmes neuromodulateurs semblent donc contrôler de façon précise la transition entre les différents états de vigilance.

1-3 IMPACT DU BRUIT SYNAPTIQUE SUR L'EXCITABILITE CELLULAIRE ET LES REPONSES NEURONALES

1-3.1 Typologie morpho-fonctionnelle des neurones corticaux

Il existe une très grande diversité de types cellulaires corticaux, décrite en détail par Ramon y Cajal en 1904 (Ramon y Cajal, 1904). Une certaine catégorisation, fondée sur différents critères morpho-fonctionnels, demeure néanmoins possible.

Les cellules pyramidales des couches I à VI ainsi que les neurones épineux étoilés de la couche IV sont les cellules excitatrices du cortex ayant pour neurotransmetteur le glutamate et représentant près de 85 % de l'ensemble des neurones corticaux (Braitenberg et Schüz, 1998). La cellule pyramidale est très représentée dans le cortex. Elle est composée d'une arborisation dendritique variable en fonction des couches corticales (Larkman et Mason, 1990), de la région corticale et de l'espèce étudiée (Spruston, 2008). Les dendrites basales qui connectent directement le soma et s'étendent horizontalement essentiellement dans la même couche que le soma, reçoivent principalement les entrées excitatrices locales. Les dendrites distales sont connectées au soma par une dendrite apicale plus ou moins ramifiée et orientée perpendiculairement à la surface du cortex (Figure 14). Les neurones provenant de régions distantes connectent plutôt, généralement, ces dendrites distales (Spruston, 2008). Ces cellules excitatrices ont, en outre, la particularité de posséder de nombreuses épines tout le long de l'arborisation dendritique.

Les 15 % restant sont des cellules inhibitrices dont le principal neurotransmetteur est le GABA. Ces cellules qui sont plus petites que les cellules pyramidales, ne possèdent pas ou peu d'épines dendritiques et font uniquement des connexions synaptiques locales. La diversité morphologique de ces interneurons est très grande (Markram et coll., 2004 ; Figure 14). On peut cependant les classer en trois familles en fonction des protéines spécifiques qu'ils expriment. Les cellules en panier et les cellules en chandelier représentent plus de la moitié des interneurons, elles expriment la parvalbumine et sont situées principalement dans les couches II à VI du cortex (Contreras, 2004). Les interneurons exprimant la somatostatine sont principalement les cellules de Martinotti. Elles ciblent les dendrites distales des neurones pyramidaux ainsi que d'autres interneurons inhibiteurs. Enfin les cellules exprimant le récepteur 5HT3A, qui sont les plus nombreuses dans la couche I, regroupent les cellules de type neurogliales et les neurones à peptide en double bouquet (Harris et Mrsic-Flogel, 2013).

D'un point de vue électrophysiologique, on peut distinguer quatre à cinq types cellulaires corticaux différents en fonction du patron temporel de décharge du neurone en réponse à une injection de courant (Figure 14). La plupart des neurones ont une décharge régulière (*Regular Spiking*, RS). Ils génèrent un train régulier de PA avec cependant une adaptation variable, c'est-à-dire une diminution plus ou moins progressive de la fréquence de décharge au cours du temps (Connors et Gutnick, 1990 ; Contreras, 2004).

Les neurones à décharge en bouffée de PA (*Intrinsic Bursting*, IB), génèrent des bouffées de 3 à 5 PA à environ 200 Hz avec une réduction progressive de l'amplitude du PA dû à l'inactivation de canaux sodiques. A la suite d'une dépolarisation soutenue, ces bouffées surviennent rythmiquement à la fréquence de 5 à 15 Hz. Les neurones à décharge en bouffées rythmiques rapides (*Fast rhythmic bursting*, FRB) génèrent des bouffées de PA à hautes fréquences (200 à 600 Hz). Ces neurones possèdent une hyperpolarisation suivant le PA (*after-hyperpolarisation*, AHP) distinguable mais de faible amplitude et suivie par une dépolarisation responsable du PA suivant. Les bouffées se répètent à une fréquence comprise entre 20 à 80 Hz (Contreras, 2004). Les neurones à décharges rapides (*Fast Spiking*, FS) génèrent des potentiels d'action à hautes fréquences pouvant aller jusqu'à 800 Hz sans adaptation apparente (Connors et Gutnick, 1990). L'AHP est prononcée et rapide, ce qui se traduit par un PA de très courte durée (environ 0.5 ms). Enfin les neurones générant des potentiels d'action à bas seuil (*Low Threshold Spike*, LTS) génèrent de petites bouffées de potentiels d'action dues à l'activation du courant I_T , ils sont donc générés uniquement par l'hyperpolarisation (Contreras, 2004).

Les patrons de type RS, IB et FRB sont généralement associés à l'activité des cellules excitatrices. Cependant, des interneurons de type cellule en panier peuvent aussi avoir une décharge de type RS ou FRB (Markram et coll., 2004). Les neurones de type FS et LTS sont principalement des interneurons GABAergiques (Connors et Gutnick, 1990 ; Markram et coll., 2004). L'intégration synaptique ainsi que le patron de décharge spécifique de chaque neurone dépend du répertoire de canaux ioniques spécifique à chaque neurone (Llinás, 1988). Les enregistrements intracellulaires réalisés sur des tranches de cerveau ont permis de caractériser une multitude de canaux, dépendant du voltage et/ou d'ions spécifiques, dans la membrane des neurones corticaux et qui contrôle l'excitabilité des neurones.

a) Les courants sodiques

Le courant sodique transitoire responsable de la genèse et la propagation de PA dans l'axone est aussi présent dans l'arborisation dendritique et dans le soma. Il est activé entre -50 et -60 mV et inactivé vers -60 mV (Gutnick et Crill, 1995). Dans les cellules pyramidales des couches profondes sa densité est relativement haute et homogène le long de l'arborisation dendritique (Migliore et Shepherd, 2002).

Le courant sodique persistant I_{NaP} décrit dans les neurones pyramidaux du cortex de chat *in vitro* (Stafstrom et coll., 1982 ; Gutnik et Crill, 1995) est un courant généré par une sous population de canaux sodiques voltage-dépendant, activés vers -65 mV et dont la cinétique d'activation est très rapide, mais dont l'inactivation est très lente. Suite à la genèse d'un PA, ce courant est activé et génère une dépolarisation soutenue ou « potentiel de plateau » ayant pour effet d'amplifier la réponse générée par une entrée synaptique excitatrice.

Le courant rectificateur entrant I_H induit une augmentation de conductance provoquée par l'hyperpolarisation du neurone. Ce courant mixte, sodique et potassique a un potentiel d'inversion aux alentours de -50 mV. Dans la cellule pyramidale, la densité des canaux responsables de ce courant augmente progressivement et de façon proportionnelle à la distance par rapport au soma (Migliore et Shepherd, 2002). Un effet important de ce courant au niveau dendritique est de raccourcir la durée du PPSE en diminuant la constante de temps membranaire. La fenêtre temporelle permettant la sommation d'entrées synaptiques est donc plus restreinte au niveau des dendrites distales que proximales. I_H a donc un rôle fondamental dans l'intégration d'entrées synchrones. Ce courant participe aussi à la forme de l'AHP car il accélère le retour au potentiel seuil. Ainsi, il a pour effet de diminuer l'intervalle de temps entre deux potentiels d'action (Contreras, 2004).

b) Les courants calciques

On distingue les courants calciques, activés à haut seuil de types L, N et P des canaux de type T, activés pour de faibles dépolarisations du potentiel membranaire. Dans les cellules pyramidales les canaux de type L sont majoritairement somatiques alors que les canaux de types N et P sont présents dans l'arborisation dendritique et le soma. On trouve aussi des canaux de type N au niveau axonal (Gutnik et Crill, 1995). Les canaux calciques ont un rôle important dans la forme du PA et la fréquence de décharge du neurone. Ils sont en général

activés après la phase de montée du PA, attribuable aux canaux sodiques de cinétique d'activation plus rapide

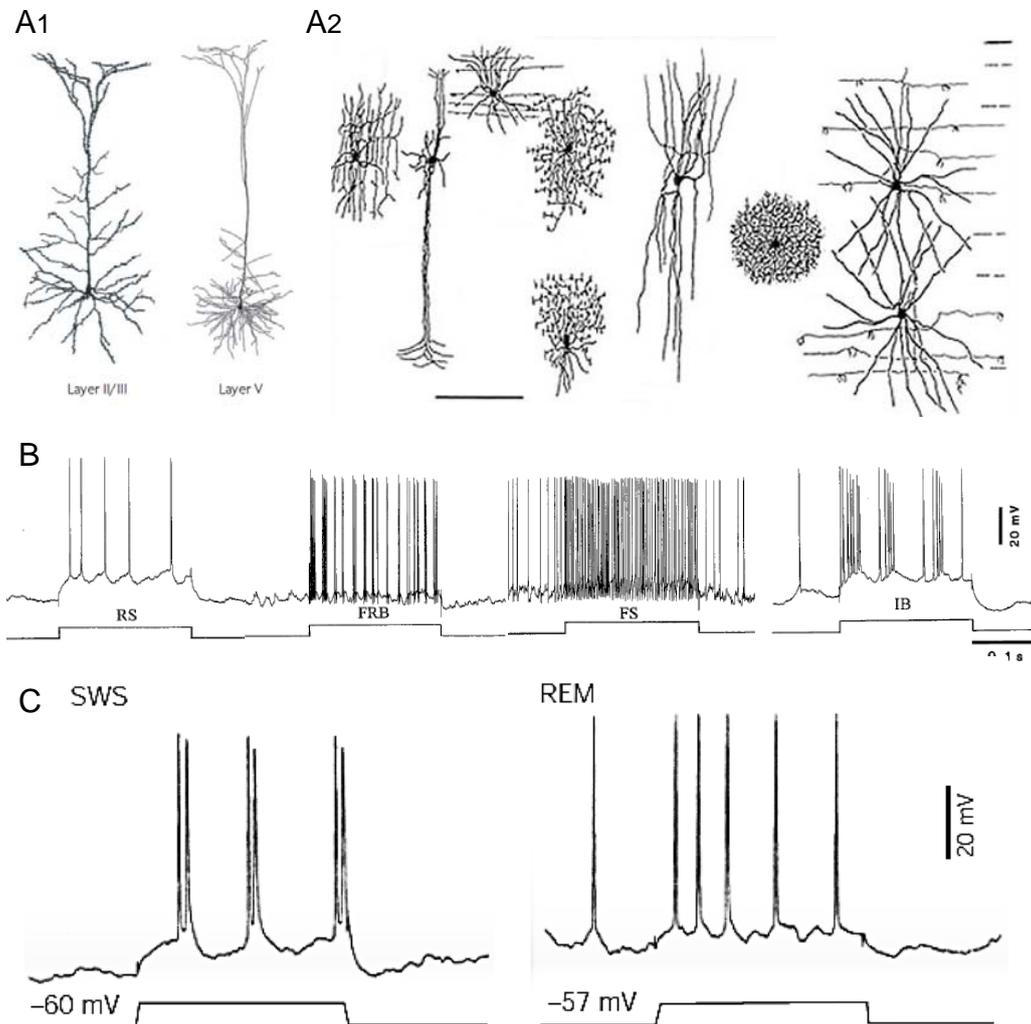


Figure 14 : Diversité morpho-fonctionnelle dans le néocortex et changement du patron temporel de décharge en fonction des états de vigilance. **A**, Exemples de cellules pyramidales (A1) des couches II/III et V, et d'interneurones GABAergiques (A2). De gauche à droite, neurone en arcade, neurone en double bouquet, neurone en petit panier, neurones en chandelier, neurone bitouffu, cellule neurogliale, neurone en grand panier. **B**, Enregistrements intracellulaires de neurones corticaux de chats. Patron temporel de décharge de neurones de type RS, FRB, FS et IB en réponse à un échelon de courant dépolarisant (0.8nA, 200ms). **C**, Réponses intracellulaires d'un même neurone cortical en réponse à un échelon de courant chez le chat en sommeil lent (SWS, *Slow Wave Sleep*) et en sommeil paradoxal (REM). Noter la transformation du patron de décharge passant de type IB à RS lors de la transition d'un état de vigilance à un autre. A1, d'après Spruston, 2008. A2, d'après Jones, 1975. B et C d'après Steriade, 2004.

(Bean, 2007). Les canaux calciques transitoires sont activés au niveau dendritique par la propagation rétrograde de PA et modulent ainsi l'intégration de nouvelles entrées synaptiques.

c) Les courants potassiques

Les courants potassiques impliqués dans l'AHP et dans l'adaptation de la décharge se différencient par leurs cinétiques d'activation et d'inactivation. On distingue trois principaux types d'AHP dans les cellules pyramidales (Connors et coll., 1982) :

- L'AHP dite rapide est dépendante de courants voltage-dépendants I_A ainsi que du courant I_{BK} voltage- et calcium-dépendant. Ces courants potassiques ont une cinétique d'activation et d'inactivation rapide de quelques millisecondes après chaque PA (Contreras, 2004).
- L'AHP moyenne s'étendant sur environ 50 à 200 ms est générée, entre autres, par un courant potassique voltage-dépendant I_M inhibé par des antagonistes cholinergiques (Gu et coll., 2005).
- L'AHP lente a une cinétique d'activation de quelques centaines de millisecondes et peut durer jusqu'à deux secondes (Gu et coll., 2005). Des canaux potassiques dépendant du sodium ou du calcium, et dont la cinétique d'activation est lente contrôlent la décharge prolongée du neurone en produisant une diminution d'excitabilité neuronale (Contreras, 2004).

En modulant l'AHP des neurones les courants potassiques influencent la durée de l'intervalle entre chaque PA (*Interspike interval*, ISI), et donc la fréquence de décharge ainsi que le patron temporel de décharge.

Cette typologie morpho-fonctionnelle simplifiée ne reflète ni l'immense diversité morphologique des cellules corticales, ni le continuum qui existe en terme de patron temporel de décharge. De plus, chaque neurone n'est limité à un patron de décharge spécifique. En effet, l'injection d'un courant dépolarisant de faible intensité dans un neurone IB transforme les bouffées rythmiques en un patron de décharge régulier de potentiels d'action (Steriade, 2004). *In vivo*, la dépolarisation induite par la transition d'état entre le sommeil lent et le sommeil paradoxal peut provoquer ce changement du patron de décharge d'une cellule IB en RS. C'est ce qui explique la faible proportion de neurones de type IB pendant l'éveil (Steriade et coll., 2001 ; Figure 14). A l'inverse un neurone ayant une décharge de type RS peut, à la

suite d'une forte dépolarisation, générer des bouffées de PA de type IB, voire de type FRB du fait de l'activation du courant I_{NaP} et de la réduction de conductance potassique rapide (Steriade, 2004). Le patron de décharge peut donc être modifié par la dynamique d'activité synaptique spontanée dans le réseau cortical.

1-3.2 Les propriétés électriques « passives »

Le potentiel membranaire de repos (V_R) correspond au potentiel théorique entre le milieu intracellulaire et extracellulaire quand le neurone ne reçoit aucune information du réseau afférent. V_R est déterminé par la conductance totale membranaire dépendant principalement du mouvement des ions K^+ , Na^+ et Cl^- à travers la membrane. La conductance membranaire basale est appelé conductance de fuite G_L . On peut exprimer V_R selon l'équation de Goldman-Hodgkin-Katz :

$$V_R = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{p_K[K^+]_e + p_{Na}[Na^+]_e + p_{Cl}[Cl]_i}{p_K[K^+]_i + p_{Na}[Na^+]_i + p_{Cl}[Cl]_e} \right)$$

Avec p_i la perméabilité de la membrane pour l'ion I, et $[I]$ la concentration de l'ion I dans le milieu intracellulaire (i) et extracellulaire (e). V_R est négatif et généralement proche de -75 mV en raison de la perméabilité plus forte de la membrane pour les ions potassiques dont le potentiel d'inversion E_K est aux alentours de -90 mV. *In vitro*, les cellules pyramidales ont un potentiel de membrane de repos hyperpolarisé et stable compris entre -70 et -80 mV (Connors et coll., 1982 ; Bindman, 1988 ; Mason et Larkman, 1990).

On peut modéliser le neurone par un circuit électrique composé d'un seul compartiment. La membrane plasmique constituée d'une bicouche lipidique isolante agit comme un condensateur de capacité C_m . De plus, de nombreux canaux ioniques spécifiques rendent la membrane perméable à certains ions. La conductance d'une espèce ionique quantifie la perméabilité de la membrane pour cette espèce d'un point de vue électrique. Ainsi, la conductance membranaire G_m , qui est l'inverse de la résistance R_m , est la somme des conductances de chaque espèce ionique, montées en parallèle dans le circuit équivalent. Au repos, les propriétés électriques membranaires peuvent être modélisées par un circuit RC parallèle de force électromotrice $V(t)$. Lorsqu'un courant est appliqué au circuit RC, il réagit de façon passive selon l'équation différentielle :

$$I_{STIM} = I_C + I_R = C_m \frac{dV(t)}{dt} + V(t)G_m$$

à l'état stationnaire $I_C = 0$:

$$I_{STIM} = V_S G_m$$

La solution complète de l'équation étant :

$$V_m = V_S + R_m I_{STIM} (1 - e^{-t/\tau_m})$$

Avec V_S correspondant au potentiel membranaire à l'état stationnaire et τ_m la constante du temps du circuit dont dépend le temps nécessaire pour atteindre le potentiel de membrane à l'état stationnaire :

$$\tau_m = R_m C_m$$

L'amplitude de la réponse à un courant donné est déterminée par R_m . La résistance membranaire d'une cellule corticale mesurée au soma *in vivo* est assez variable d'un type cellulaire à l'autre, et dépend de la taille de la cellule mais aussi de la technique d'enregistrement (Connors et coll., 1982 ; Mason et Larkman 1990 ; Spruston et Johnston, 1992).

In vivo, la décharge spontanée et continue des réseaux afférents excitateurs et inhibiteurs provoque une activité synaptique intense. Au niveau d'une synapse, la libération de neurotransmetteurs dans la fente synaptique active les récepteurs-canaux postsynaptiques excitateurs ou inhibiteurs selon le type de synapse. L'ouverture du canal entraîne alors localement l'augmentation d'une conductance synaptique spécifique à certaines espèces ioniques. Le courant transmembranaire I_{Syn} résultant d'une entrée synaptique est donné par la loi d'Ohm :

$$I_{Syn} = G_{Syn} (V_m - E_{Syn})$$

Avec G_{Syn} la conductance synaptique, V_m le potentiel membranaire de la cellule et E_{Syn} le potentiel d'inversion de l'entrée synaptique. Une entrée synaptique excitatrice induite par la fixation du glutamate sur les récepteurs AMPA et NMDA, a un potentiel d'inversion d'environ 0 mV. La fixation du neurotransmetteur GABA sur le R-GABA_A a une action inhibitrice car elle entraîne l'ouverture d'une conductance sélective aux ions chlorure dont le potentiel d'inversion est inférieur au seuil de déclenchement d'un PA (estimé à -75 mV) (Paré et Destexhe, 1999). De plus, chaque courant synaptique génère un potentiel postsynaptique excitateur (PPSE) ou inhibiteur (PPSI) modifiant le potentiel membranaire du neurone. Le

bombardement synaptique continu qui résulte de l'activité spontanée de plusieurs milliers de neurones influence fortement les propriétés passives du neurone cortical.

Plusieurs modèles neuronaux ont simulé l'impact de l'activité synaptique de fond sur les propriétés membranaires du neurone (Bernander et coll., 1991 ; Destexhe et Paré, 1999 ; Rudolph et Destexhe, 2003a). La simulation d'un bombardement synaptique, équivalent à l'activité de 5 000 synapses à la fréquence de 2 Hz sur une cellule pyramidale de la couche V (soit 10 évènements synaptiques par milliseconde), a pour effet de réduire d'un facteur 10 la résistance membranaire du neurone (Bernander et coll., 1991). *In vitro*, l'apparition de périodes d'activité synaptique spontanée est associée à une diminution de la résistance membranaire plus ou moins importante (McCormick et coll., 2003 ; Shu et coll., 2003a). *In vivo*, les neurones sont constamment soumis à un barrage d'activité synaptique spontanée. Cependant, des injections locales de TTX à proximité du neurone permettent de bloquer la décharge de PA et d'abolir de façon transitoire l'activité spontanée du réseau afférent (Paré et coll., 1998 ; Polack et coll., 2009). Des études menées chez le chat *in vivo* ont montré que la suppression, par des injections de TTX, du bruit synaptique dans le neurone augmentait d'un facteur 5 la résistance membranaire du neurone cortical. La conductance synaptique globale serait donc responsable de près de 80 % de la conductance membranaire totale enregistrée au soma (Paré et coll., 1998 ; Destexhe et Paré 1999 ; Figure 15). Le neurone cortical se trouve alors, dans ces conditions de bombardement synaptique intense, dans un état de haute conductance (Destexhe et coll., 2003).

L'alternance d'états spontanément actif (état haut) et inactif (état bas) lors du sommeil lent, ou sous anesthésie à l'uréthane ou à la kétamine/xylazine, a servi de modèle pour étudier, *in vivo*, l'impact du bruit synaptique sur la résistance membranaire. La comparaison de la résistance membranaire pendant ces deux états a confirmé, dans la plupart des études, qu'en présence d'un bombardement synaptique intense (état haut), la résistance membranaire était nettement plus faible (Contreras et coll., 1996 ; Paré et coll., 1998 ; Léger et coll., 2005 ; Figure 10). Cette diminution de la résistance membranaire dans les états hauts a été confirmée chez différentes espèces, dans plusieurs aires corticales et sous différentes conditions d'anesthésie (Contreras et coll., 1996 ; Paré et coll., 1998 ; Steriade et coll., 2001 ; Destexhe et coll., 2003 ; Sachdev et coll., 2004 ; Léger et coll., 2005 ; Rudolph et coll., 2005 ; Haider et coll., 2006 ; Reig et coll., 2015). Cependant, d'autres études, réalisées dans le cortex à tonneaux du rat, ont montré que les états hauts ne provoquaient pas de changement de

résistance membranaire (Zou et coll., 2005) ou seulement une légère augmentation, masquée par la présence d'une rectification entrante anormale dans les neurones pyramidaux des couches II/III (Waters et Helmchen, 2006).

Si l'on considère l'ensemble des études, il apparaît que l'impact de l'activité synaptique spontanée sur la résistance membranaire est assez variable. En effet, pendant les états hauts, la résistance membranaire était diminuée 1.5 fois dans certaines études et jusqu'à 4 fois dans d'autres (Paré et coll., 1998 ; Léger et coll., 2005 ; Rudolph et coll., 2005). Cette variabilité peut s'expliquer par les différentes conditions des enregistrements menés entre chaque étude (type d'anesthésie, électrodes utilisées, modèle animal, réseau cortical étudié)

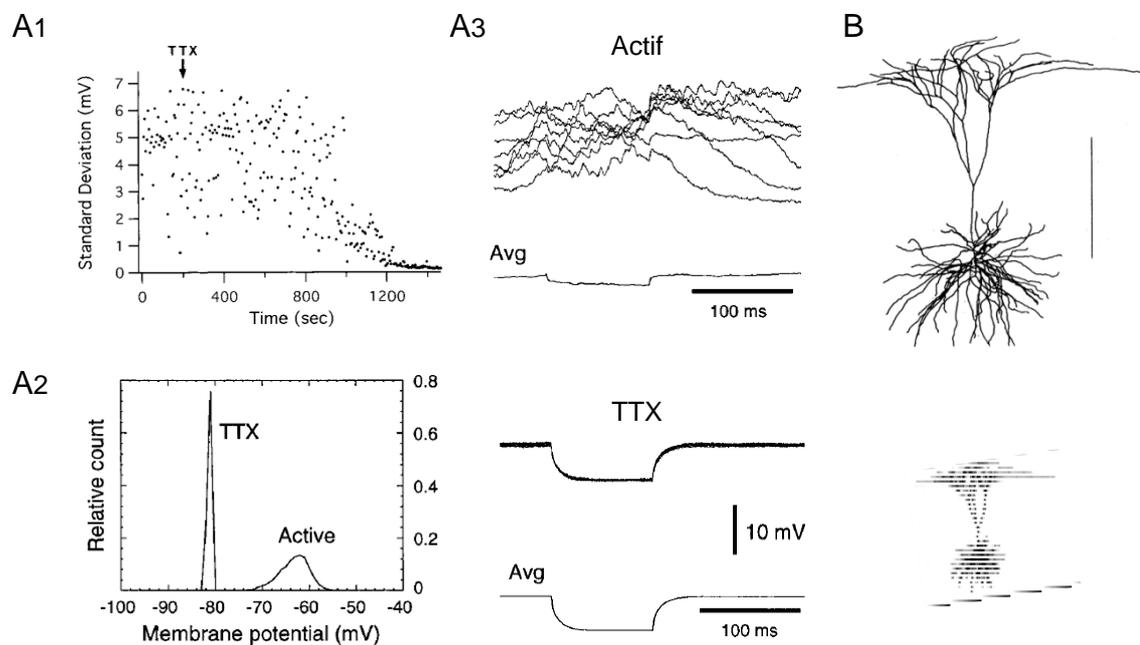


Figure 15 : Impact de l'activité du réseau synaptique sur les propriétés membranaires de la cellule pyramidale. **A**, Mesure des fluctuations de voltage (A1), de la distribution du potentiel membranaire (A2) et de la résistance membranaire d'une cellule pyramidale des couches profondes en présence d'activité spontanée, lors des états hauts induit par l'anesthésie à la kétamine/xylazine (Actif) et après injection de TTX bloquant l'activité synaptique spontanée. A1, La suppression d'activité synaptique spontanée s'accompagne d'une progressive suppression des fluctuations membranaires. A2, Distribution du potentiel membranaire lors des états hauts (Actif) et après injection de TTX. Le neurone est plus dépolarisé et a une distribution membranaire plus large en présence d'une activité synaptique de fond. A3, Mesure de la résistance membranaire lors de l'injection d'un échelon de courant hyperpolarisant (-0.1nA, 100ms) avant et après injection de TTX. Noter l'augmentation de la résistance membranaire et de la constante de temps après suppression de l'activité spontanée des réseaux afférents. **B**, Comparaison de la taille électrotonique d'une cellule pyramidale modèle en présence d'activité spontanée (top) et en absence de conductance synaptique de fond. La barre d'échelle correspond à une unité de constante d'espace. A1, d'après Paré et coll., 1998 ; A2, A3, d'après Paré et Destexhe, 1999 ; B, d'après Bernander et coll., 1991.

ainsi que par les techniques d'analyses utilisées pour mesurer la résistance membranaire. La différence d'activité synaptique à travers les couches corticales explique aussi cette hétérogénéité observée dans les différentes études (Sakata et Harris, 2009).

La diminution de la résistance membranaire provoquée par le bruit synaptique entraîne plusieurs conséquences sur les propriétés intégratives du neurone. Tout d'abord, pour une entrée synaptique donnée, le courant synaptique génère un potentiel postsynaptique de plus faible amplitude, dans un état de haute conductance. La présence d'une activité synaptique continue a donc un effet de « *shunt* » sur chaque entrée synaptique. Plus l'activité synaptique de fond est intense, moins le potentiel de membrane du neurone sera modifié par une entrée synaptique donnée. L'amplitude des PPSE étant réduite, la probabilité de générer un PA au niveau somatique est plus faible (Hô et Destexhe 2000 ; Chance et coll., 2002 ; Shu et coll., 2003a ; Figure 16). L'excitabilité du neurone est donc directement affectée par l'augmentation de la conductance membranaire.

La diminution de la résistance membranaire par le bombardement synaptique entraîne une diminution de la constante de temps de la membrane (Léger et coll., 2005). Lors de l'arrivée d'un courant postsynaptique, le temps nécessaire à la charge et à la décharge de la membrane plasmique, modélisée par un condensateur, est donc plus court. En d'autres termes, le potentiel postsynaptique relatif à un certain courant est atteint plus rapidement. Une conséquence directe de la diminution de résistance membranaire est donc de diminuer l'intervalle de temps au cours duquel deux entrées synaptiques peuvent se sommer. La probabilité de générer, au soma, un potentiel postsynaptique suffisamment élevé pour déclencher un PA est donc restreinte à des entrées synaptiques excitatrices suffisamment synchrones. Ainsi, le bruit synaptique impose une fenêtre de synchronisation très courte (Haider et McCormick, 2009), le neurone se comporte donc, en présence d'activité synaptique de fond, comme un détecteur de coïncidence (Bernander et coll., 1991 ; Destexhe et coll., 2003). Le bruit synaptique, c'est-à-dire l'activité du réseau afférent, contrôle ainsi l'excitabilité du neurone car il module la façon dont le neurone intègre différentes entrées synaptiques dans le temps (Haider et McCormick, 2009).

Une autre conséquence de cet état de haute conductance est d'augmenter l'atténuation spatiale de l'amplitude des potentiels postsynaptiques le long des dendrites. En effet, la

constante d'espace qui caractérise la distance à laquelle l'amplitude du potentiel postsynaptique diminue d'environ 63 % de son amplitude maximale, est d'autant plus faible que la résistance membranaire est faible. L'augmentation de conductance membranaire a donc pour effet d'« étirer » la distance de la synapse au soma. (Bernander et coll., 1991 ; Figure 15B). Une synapse distale dont la longueur électrotonique est intrinsèquement grande, en raison la forte résistance longitudinale liée à son petit diamètre, est encore plus longue en présence de bruit synaptique. La distance fonctionnelle permettant la sommation efficace de deux entrées synaptiques est donc restreinte. Ainsi le bruit synaptique diminue la capacité des entrées distales à influencer la décharge de PA au niveau somatique. L'activité du réseau afférent, par l'intermédiaire de son impact sur la conductance membranaire, contrôle donc l'intégration spatiotemporelle des entrées synaptiques.

Une étude computationnelle modélisant l'état de haute conductance dans des neurones pyramidaux, a néanmoins montré que les entrées synaptiques avaient une efficacité similaire le long de l'arborisation dendritique indépendamment de leur distance au soma (Rudolph et Destexhe, 2003a). Cela implique qu'il pourrait exister des mécanismes compensant la diminution d'efficacité dendritique induite par l'état de haute conductance. Cette propriété peut s'expliquer par la présence de fluctuations de voltage associées à une résistance membranaire distale plus grande permettant une probabilité de genèse et de propagation de PA dendritiques plus grande dans les régions distales (Rudolph et Destexhe, 2003a).

Une autre conséquence majeure de l'activité synaptique spontanée est d'induire de façon constante des fluctuations de potentiel membranaire, donnant une apparence bruitée au potentiel membranaire enregistré (Figure 15A1). Après suppression de l'activité spontanée dans le réseau cortical, la distribution du potentiel membranaire était nettement plus fine, traduisant l'absence de fluctuation de potentiel membranaire (Paré et Destexhe, 1999 ; Figure 15A2). L'ensemble des entrées synaptiques excitatrices et inhibitrices plus ou moins corrélées dans le temps, et distribuées tout le long de l'arborisation somato-dendritique, est responsable de la distribution plus ou moins large du potentiel de membrane (Figure 15A2). L'écart type de la distribution du potentiel membranaire caractérise l'amplitude de ce bruit de voltage.

Le niveau de corrélation dans le temps entre les entrées synaptiques, la nature de la corrélation (corrélation excitatrice, inhibitrice ou mixte) ainsi que la balance entre la conductance excitatrice moyenne et la conductance inhibitrice moyenne ont pour effet de

moduler la distribution du potentiel membranaire (Salinas et Sejnowski, 2001). Dans un système balancé, une activité synaptique synchrone, qui génère des fluctuations de V_m de haute amplitude, a pour effet d'augmenter d'autant plus la probabilité du neurone de déclencher un PA pour de faibles entrées synaptiques (Bernander et coll., 1991 ; Hô et Destexhe, 2000 ; Salinas et Sejnowski, 2001).

La technique du *dynamic-clamp* a beaucoup été utilisée afin de mieux comprendre l'impact d'un bombardement synaptique sur le neurone car elle permet de mimer en temps réel les fluctuations de conductances excitatrices et inhibitrices associées au bruit. De nombreuses études ont montré qu'en plus de provoquer une augmentation de la conductance membranaire et des fluctuations de voltage, le bruit synaptique affecte le potentiel de membrane moyen de la cellule (Destexhe et coll., 2001 ; Shu et coll., 2003a). *In vivo*, les états hauts du sommeil lent sont, par définition, plus dépolarisés que les états bas. De plus, la suppression des activités synaptiques *in vivo* après injection de TTX a pour effet d'hyperpolariser le neurone de plusieurs millivolts (Destexhe et Paré 1999, Figure 15, A2). Le bombardement synaptique a donc un effet dépolarisant sur le potentiel moyen de la cellule (Bernander et coll., 1991 ; Destexhe et coll., 2001 ; Fellous et coll., 2003). Le niveau de dépolarisation moyen dépend cependant du ratio entre la conductance totale excitatrice et inhibitrice du neurone.

En résumé, l'activité synaptique spontanée des neurones corticaux affecte différents paramètres membranaires dont les effets apparaissent contradictoires en terme d'excitabilité neuronale. Le bombardement synaptique provoque une diminution de la résistance membranaire, associée à une diminution de la constante de temps et de la constante d'espace. En conséquence l'amplitude des PPSE et leur intégration est restreinte à des entrées proximales et synchrones. En revanche, l'activité spontanée entraîne une dépolarisation tonique des neurones ainsi que des fluctuations du potentiel membranaire augmentant la probabilité d'entrées synaptiques de faible amplitude à générer des potentiels d'action.

L'impact du bruit synaptique a principalement été décrit ci-dessus au niveau somatique. L'activité synaptique de fond affecte cependant les propriétés membranaires à différents niveaux de l'intégration neuronale. La stimulation répétée d'une synapse, due à une forte fréquence de décharge du réseau afférent, peut entraîner une saturation dendritique,

provoquant une dépression à court terme des entrées synaptiques (Silver, 2010). Au niveau dendritique, la diminution de la constante de temps induite par les états de hautes conductances peut favoriser une propagation rapide de potentiels d'action dendritiques ayant pour effet de diminuer la dépendance spatiale entre les potentiels postsynaptiques et donc de faciliter l'association d'entrées distantes (Destexhe et coll., 2003). De plus, l'activité synaptique de fond, en modulant le potentiel membranaire du neurone a un effet sur les conductances actives voltage-dépendante qui sculptent le PA et déterminent le patron temporel de décharge. Le bruit synaptique semble donc agir de façon complexe sur l'intégration d'entrées synaptiques et la décharge de PA (Nowak et coll., 2003 ; Steriade, 2004).

1-3.3 Les fonctions de transfert

Le bruit synaptique, en modulant les propriétés passives du neurone à chaque instant, permet de contrôler dynamiquement la genèse de PA, c'est-à-dire la sortie de l'information. De cette façon, l'activité spontanée du réseau contrôle, à chaque instant la connectivité fonctionnelle entre les différents sous-réseaux neuronaux (Haider et McCormick, 2009).

La façon dont le neurone intègre des entrées synaptiques et les transforme en décharge de PA peut être analysée en mesurant la relation entrée-sortie ou fonction de transfert du neurone. Cette fonction caractérise la relation entre, d'une part, l'entrée d'information arrivant au neurone, caractérisée par l'intensité d'un évènement synaptique ou par le nombre d'entrées synaptiques coïncidentes sur le neurone, et, d'autre part, la sortie d'information, définie en termes de probabilité de décharge du neurone ou de fréquence de décharge (Azouz, 2005 ; Silver, 2010). Par extension, on peut associer l'entrée à un courant ou à une conductance directement injectée dans le neurone, et la sortie à la fréquence de décharge du neurone (courbe $F-I$). La fonction de transfert est représentée graphiquement par une courbe sigmoïdale dont la portion intermédiaire est linéaire.

Le neurone peut moduler de façon rapide (de l'ordre de la milliseconde) sa fonction de transfert selon différentes opérations (Figure 17A). On parle d'opérations additives lorsque seule la sensibilité du neurone est modulée : celles-ci correspondent à un décalage de la courbe le long de l'axe des abscisses. Ce type d'opération linéaire altère le nombre d'entrées requises pour atteindre le seuil de PA ou encore la fenêtre de corrélation nécessaire durant laquelle le neurone peut générer un PA. Une opération multiplicative consiste en une modulation du gain de la fonction de transfert. Le gain de la fonction de transfert définit la

valeur de la variation de sortie en réponse à une variation d'entrée. Une modulation du gain est donc une opération non linéaire se traduisant par une modification de la pente de la relation entrée-sortie. En d'autres termes, cette opération consiste en un ré-échelonnage des réponses neuronales pour des entrées de différentes intensités (Haider et McCormick, 2009 ; Mahon et Charpier, 2012). La modulation du gain permet de varier l'amplification d'un signal. Dans un réseau connecté synaptiquement, la capacité de modifier la fonction de transfert neuronale est essentielle car elle permet de contrôler la connectivité fonctionnelle de différents sous-réseaux impliqués dans différentes tâches computationnelles (Abbott et Chance, 2005 ; Silver, 2010).

Le bruit synaptique peut influencer de différentes façons cette fonction de transfert. De nombreuses études modélisant l'activité synaptique, ou reproduisant le bombardement

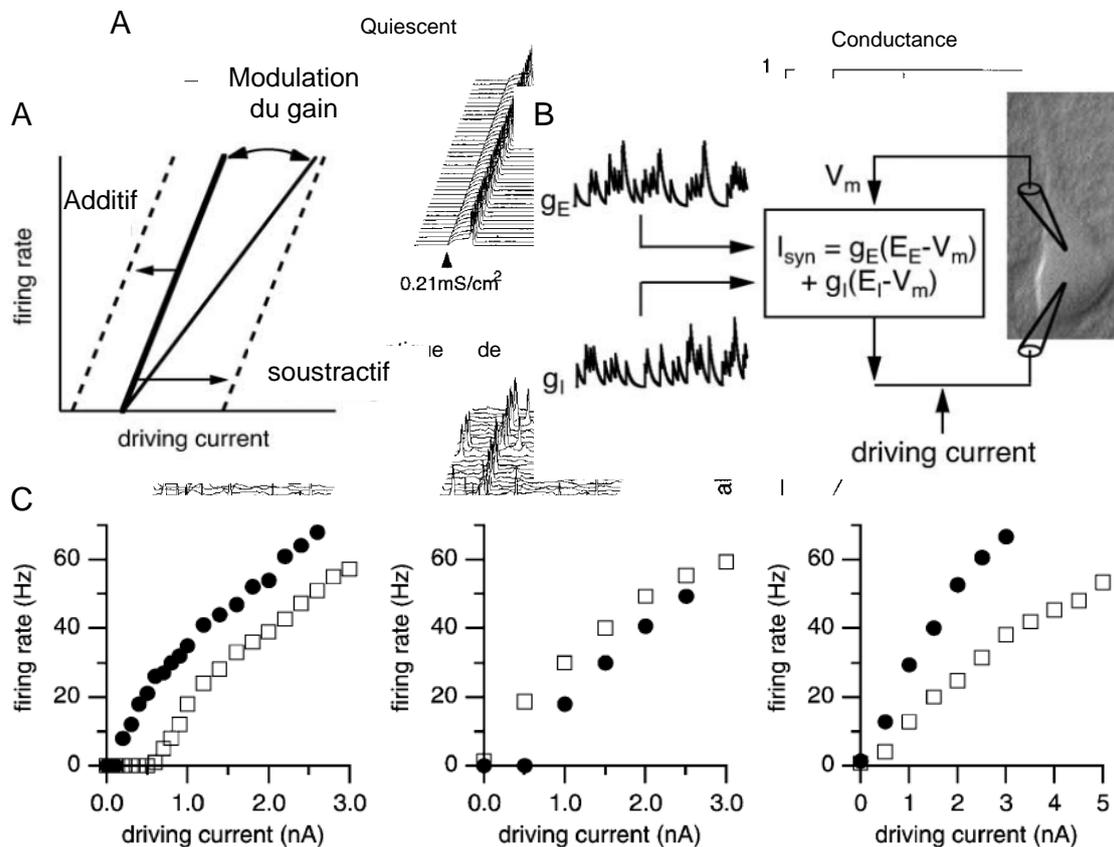


Figure 17 : Modulation de la relation entrée-sortie d'une cellule pyramidale par la technique du *dynamic-clamp in vitro*. **A**, Représentation schématique de la relation entre l'intensité du courant injecté et la fréquence de décharge et des différentes opérations effectuées par le neurone. La modification linéaire de la relation entrée-sortie est associée à un décalage de la courbe vers la gauche (opération additive) ou vers la droite (opération soustractive). Une opération multiplicative (ou divisive) est associée à un changement de gain et est représentée par une modification de la pente de la relation entrée-sortie. **B**, Représentation schématique de la technique de *dynamic-clamp*, permettant d'injecter en temps réel un train de conductances synaptiques excitatrices (g_E) et inhibitrices (g_I) balancées mimant l'activité synaptique de fond. **C**, Gauche, effet « *shuntant* » dû à l'injection d'une conductance constante (carré blanc). Milieu, effet divisif et additif dû à l'augmentation des fluctuations de voltage correspondant à une augmentation de la fréquence des entrées synaptiques mais sans modification de la conductance globale (carré blanc). Droite, effet divisif uniquement dû à l'augmentation de la fréquence des entrées synaptiques, générant une augmentation des fluctuations de voltage et une augmentation de la conductance membranaire. D'après Chance et coll., 2002.

synaptique *in vitro* à l'aide du *dynamic-clamp*, se sont intéressées à l'impact différentiel de différentes propriétés électriques membranaires sur la fonction de transfert neuronale (Figure 17).

Le niveau de polarisation moyen du neurone affecte la relation entrée-sortie de manière additive (McCormick et coll., 2003 ; Abbott et Chance 2005 ; Cardin et coll., 2008). Le potentiel membranaire moyen au soma contrôle la différence de potentiel requise pour atteindre le seuil de voltage responsable de la genèse d'un PA. La dépolarisation tonique induite par le bruit synaptique agit de manière additive sur la relation entrée-sortie en décalant la courbe vers la gauche, augmentant ainsi la probabilité de faibles entrées synaptiques de générer un PA (Hô et Destexhe, 2000 ; McCormick et coll., 2003 ; Shu et coll., 2003a ; Silver, 2010). De plus, la dépolarisation peut, en plus de son effet additif, augmenter le gain de la relation entre le niveau de corrélation des entrées synaptiques et la probabilité de décharge du neurone (Azouz, 2005).

Le bruit synaptique peut affecter la façon dont le neurone opère en contrôlant la valeur de la résistance membranaire du neurone. L'augmentation de conductance, en diminuant l'amplitude des événements synaptiques ainsi que la fenêtre spatiotemporelle nécessaire à la sommation de ces entrées, a pour conséquence de diminuer la probabilité de générer un PA lorsque des entrées de faibles intensités arrivent au soma. Cet effet purement soustractif a été mis en évidence à l'aide du *dynamic-clamp in vitro* dans un système balancé (Hô et Destexhe, 2000 ; Chance et coll., 2002 ; McCormick et coll., 2003 ; Shu et coll., 2003a ; Figure 16A, 17C) démontrant qu'un *shunt* tonique décalait la courbe *F-I* vers la droite. L'étude de la conductance inhibitrice sur la relation entrée-sortie du neurone a beaucoup été étudiée. Etant donné le potentiel d'inversion du chlore relativement proche du potentiel de repos de la cellule, les entrées inhibitrices ont un grand impact sur la conductance membranaire mais un impact limité sur le potentiel membranaire du neurone. Holt et Koch ont montré dans une étude théorique que cette conductance inhibitrice *shuntante* avait uniquement un effet soustractif sur la fonction de transfert neuronale (Holt et Koch, 1997). D'autres études ont montré que l'ajout d'une conductance inhibitrice tonique pouvait à elle seule induire une modulation du gain de la fonction de transfert (Graham et Schramm, 2009 ; Fernandez et White, 2010). Ainsi, une augmentation de l'adaptation de la fréquence de décharge, liée à une dépolarisation du seuil de décharge dépendant de la conductance tonique, permettait de diminuer la pente de la courbe *F-I* (Fernandez et White, 2010).

Les fluctuations de potentiels générées par le bruit synaptique, modulent à elles seules, l'excitabilité neuronale. Plusieurs études ont montré, que les fluctuations de potentiel permettaient d'augmenter la probabilité du neurone à décharger un PA (Hô et Destexhe 2000 ; Shu et coll., 2003a ; Figure 16). En effet, une entrée sous-liminaire en absence de bruit synaptique peut, si le potentiel membranaire fluctue au cours du temps, se sommer à l'activité de fond et déclencher un PA avec une probabilité non nulle (Hô et Destexhe, 2000 ; Chance et coll., 2002 ; Haider et McCormick, 2009). Cet effet facilitateur des fluctuations de V_m s'apparente au phénomène de résonance stochastique, car la réponse à de faibles entrées est optimale en présence de bruit dans le système (Destexhe et coll., 2003). Dans un tel état, l'efficacité d'une entrée à générer un PA est définie en termes de probabilité car elle dépend de la valeur du potentiel membranaire au moment de l'arrivée du PPSE. Cet effet est d'autant plus important que le potentiel membranaire moyen est à proximité du potentiel seuil. Les fluctuations membranaires vont donc linéariser la fonction de transfert (Miller et Troyer, 2002). Le bruit augmente ainsi la sensibilité du neurone à de faibles entrées (Hô et Destexhe, 2000) et diminue, pour des entrées fortes, la probabilité de générer un PA qui serait de 1 dans un système sans bruit (Fellous et coll., 2003). En conséquence, la gamme des entrées pour lesquelles le neurone est capable de répondre est augmentée. Cette linéarisation entraîne une diminution de la pente de la relation entrée-sortie, en présence de bruit. Ces fluctuations de potentiel membranaire ont donc un effet à la fois additif et divisif sur la relation entrée-sortie du neurone (Chance et coll., 2002 ; Fellous et coll., 2003 ; Mitchell et Silver 2003 ; Shu et coll., 2003a ; Azouz 2005 ; Figure 17C). Plus la variance du bruit augmente plus la sensibilité du neurone à de faibles entrées est grande et plus le gain de la fonction de transfert diminue conjointement (Hô et Destexhe, 2000 ; Shu et coll., 2003a). Le bruit de voltage généré par le bombardement synaptique s'avère dès lors un moyen puissant de moduler la façon dont le neurone calcule.

In vivo, les fluctuations de potentiels membranaires générées par l'activité synaptique de fond s'accompagnent d'une augmentation tonique de la conductance membranaire. La technique du *dynamic-clamp in vitro* a été beaucoup utilisée dans la compréhension des mécanismes de modulation de la fonction de transfert par le bruit car elle permettait de contrôler simultanément ces deux paramètres (Abbott et Chance, 2005). Cependant, les résultats décrits sont assez controversés. Lorsque les conductances excitatrices et inhibitrices

sont balancées, l'augmentation de sensibilité induite par les fluctuations de voltage est contrecarrée par l'effet soustractif dû à l'augmentation globale de conductance, ne laissant apparaître qu'une modulation du gain de la relation entrée-sortie (Hô et Destexhe, 2000 ; Chance et coll., 2002 ; Figure 17C). Dans une autre étude, cependant, l'effet divisif dû à une augmentation de conductance est masqué en présence de fluctuation de voltage (Fernandez et coll., 2011). Les auteurs démontrent que lorsque la cellule est placée dans un état de haute conductance, les fluctuations de voltage permettent de restaurer le courant sodique responsable de la genèse du PA, *shunté* par l'augmentation de conductance (Fernandez et coll., 2011). L'activité synaptique de fond peut moduler dynamiquement le gain de la fonction de transfert neuronale en modulant individuellement la variance de la conductance inhibitrice ou excitatrice sans moduler la conductance membranaire moyenne. Ainsi, une étude a montré qu'une augmentation de la variance de la conductance inhibitrice ou excitatrice pouvait induire une augmentation du gain alors que la résistance membranaire, définie principalement par la conductance inhibitrice moyenne, affectait, elle, la sensibilité neuronale (Fellous et coll., 2003). Une autre étude *in vitro* a montré de manière intéressante qu'une augmentation de l'amplitude des fluctuations de voltage pouvait avoir, d'une part, un effet multiplicatif sur les cellules pyramidales à décharge régulière de type RS et, d'autre part, un effet divisif sur les interneurons à décharge rapide de type FS. Cette observation suggère que les changements de fluctuations de voltage peuvent être intégrés de façon différente selon le type cellulaire (Higgs et coll., 2006).

L'effet attribuable à la conductance en présence de fluctuation de voltage s'avère lui aussi controversé. Il semble être associé à un effet purement soustractif dans un système balancé (Chance et coll., 2002 ; Abbott et Chance, 2005). L'effet de la conductance inhibitrice *shuntante* semble aussi avoir un effet purement soustractif sur la fonction de transfert neuronale (Holt et Koch, 1997 ; Chance et coll., 2002 ; Mitchell et Silver, 2003). Cependant, d'autres études laissent penser qu'un changement de gain peut survenir en présence de bruit de voltage, en augmentant la conductance membranaire (Prescott et De Koninck, 2003).

L'aspect contradictoire de ces résultats peut notamment provenir de la mesure de la relation entrée-sortie utilisée. En effet l'étude de la probabilité de décharge, ou de la fréquence de décharge moyenne met en jeu des mécanismes différents. Le patron temporel de décharge n'est pas constant dans le temps, car la dépolarisation met en jeu différentes conductances intrinsèques de cinétique d'activation et d'inactivation spécifique. Par

conséquent, le temps utilisé pour mesurer la fréquence de décharge altère la relation entrée-sortie et son interprétation (Shu et coll., 2003a ; Fernandez et coll., 2011).

L'ensemble de ces résultats proviennent d'études de modélisation ou d'expériences réalisées dans des conditions *in vitro*, en tentant de reproduire les conditions d'un bombardement synaptique. Une étude *in vivo* a montré qu'une diminution du gain associée à un décalage vers la gauche de la relation entrée-sortie pouvait être provoquée par l'association combinée d'une dépolarisation, d'une augmentation des fluctuations de voltage et d'une diminution de la résistance d'entrée générée par des stimuli visuels de contrastes croissants (Cardin et coll., 2008). En revanche une dépolarisation ou une augmentation d'amplitude des fluctuations de voltage stimulus- dépendante ne permettait pas, seule, de produire une modulation du gain de la fonction de transfert (Figure 18). Étonnamment, l'augmentation de l'amplitude des fluctuations membranaires sans modification ni du potentiel membranaire moyen, ni de la résistance membranaire, ne reproduisait pas les effets additif et divisif observé *in vitro*.

La relation entrée-sortie neuronale est aussi modulée par l'intégration non linéaire d'évènements synaptiques au niveau dendritique. Notamment, la dépression synaptique peut moduler le gain en agissant comme un filtre passe-bas lorsque la fréquence de décharge présynaptique est trop élevée. La dépression à court terme peut convertir des opérations soustractives comme l'augmentation de conductance membranaire due à l'augmentation de la fréquence de décharge présynaptique, en opérations divisives (Silver, 2010).

Le bombardement synaptique contrôle donc de façon complexe le gain de la fonction de transfert neuronale en agissant sur les propriétés membranaires intrinsèques. Il semble néanmoins, que la présence de fluctuations de potentiels membranaire associé à un niveau moyen dépolarisé, ce bruit permet d'augmenter la sensibilité du neurone pour de faibles entrées. L'activité spontanée du réseau afférent affecte aussi la variabilité de la décharge de PA, ainsi que les propriétés de codage des entrées dans le temps.

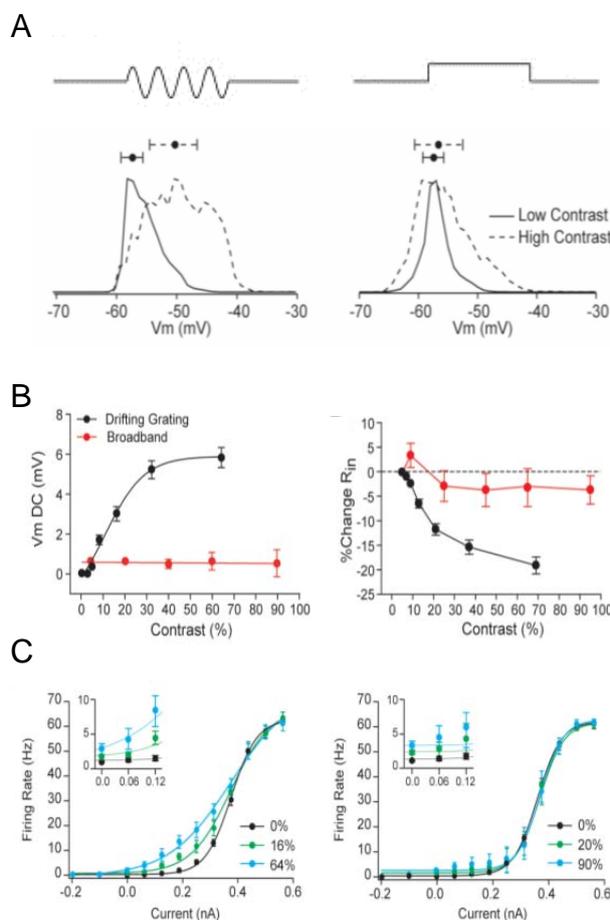


Figure 18 : Modulation stimulus-dépendante de la relation entrée-sortie chez le chat anesthésié au thiopentane *in vivo*. **A**, Impact différentiel de l'augmentation d'intensité (contraste) de deux types de stimuli visuels (« grilles dérivantes », gauche ; « bandes larges », droite) sur la distribution du potentiel membranaire d'un neurone du cortex visuel primaire. L'augmentation d'intensité induit une augmentation de l'amplitude des fluctuations membranaires associées à une dépolarisation membranaire uniquement lorsque l'animal est exposé à des grilles dérivantes (gauche). **B**, Comparaison des variations de potentiel membranaire moyen (V_m DC) et de résistance membranaire (R_{in}) induites par l'augmentation d'intensité de chaque stimulus. L'intensité du stimulus de type « bandes larges » n'affecte ni le potentiel membranaire moyen ni la résistance membranaire. **C**, Modulation de la relation entrée-sortie du neurone par l'augmentation de l'intensité du stimulus. La dépolarisation de potentiel membranaire associée à une augmentation de l'amplitude des fluctuations de voltage ainsi qu'à une diminution de résistance membranaire affecte le gain et la sensibilité du neurone. En revanche, la modulation de l'amplitude des fluctuations de voltage n'affecte pas la relation entrée-sortie du neurone. D'après Cardin et coll., 2008.

1-3.4 Temporalité et fiabilité neuronales

a) Variabilité de décharge

In vitro la réponse du neurone à un échelon de courant génère un train de PA relativement régulier. *In vivo* en revanche, lorsque le neurone est soumis à un bombardement synaptique intense, l'activité de décharge spontanée du neurone, ou évoqué par un échelon de courant ou une stimulation sensorielle, est très irrégulière (Holt et coll., 1996 ; Stevens et Zador, 1998 ; Azouz et Gray, 1999 ; Rudolph et Destexhe, 2003b).

Dans les neurones du néocortex, en absence de toute stimulation, la fréquence de décharge de PA spontanée est, particulièrement irrégulière dans les états de hautes conductances. Les potentiels d'action semblent survenir de manière stochastique au cours du temps suivant un processus de Poisson (Shadlen et Newsome 1998 ; Rudolph et Destexhe 2003b ; Ermentrout et coll., 2008 ; Faisal et coll., 2008 ; Figure 19A, B). Le coefficient de variation (CV) des intervalles entre potentiels d'action (ISI) associés à la décharge spontanée est un moyen de quantifier la variabilité du train de potentiels d'action. Il est défini par le rapport entre l'écart type (σ) et l'intervalle moyen ($\langle ISI \rangle$).

$$CV = \frac{\sigma}{\langle ISI \rangle}$$

Une étude théorique a montré que le degré d'irrégularité des entrées synaptiques avait seulement un faible impact sur la régularité des ISI du neurone (Figure 19) qui restaient irréguliers même lorsque, dans un neurone modèle avec une excitation et une inhibition balancées, les entrées étaient régulières. Ces observations laissent penser que l'irrégularité de la décharge n'est pas due au reflet de l'irrégularité des trains de PA du réseau afférent (Shadlen et Newsome, 1998).

Plusieurs études théoriques et *in vitro* se sont appliquées à comprendre par quels mécanismes le bruit synaptique peut affecter la régularité de la décharge lorsque cette dernière suit un processus de Poisson. Une étude théorique a montré que lorsque la variabilité de l'activité synaptique de fond augmentait dans un état de haute conductance, cela entraînait une augmentation de la régularité de la décharge du fait notamment de l'augmentation de la fréquence de décharge (Ozer et coll., 2007).

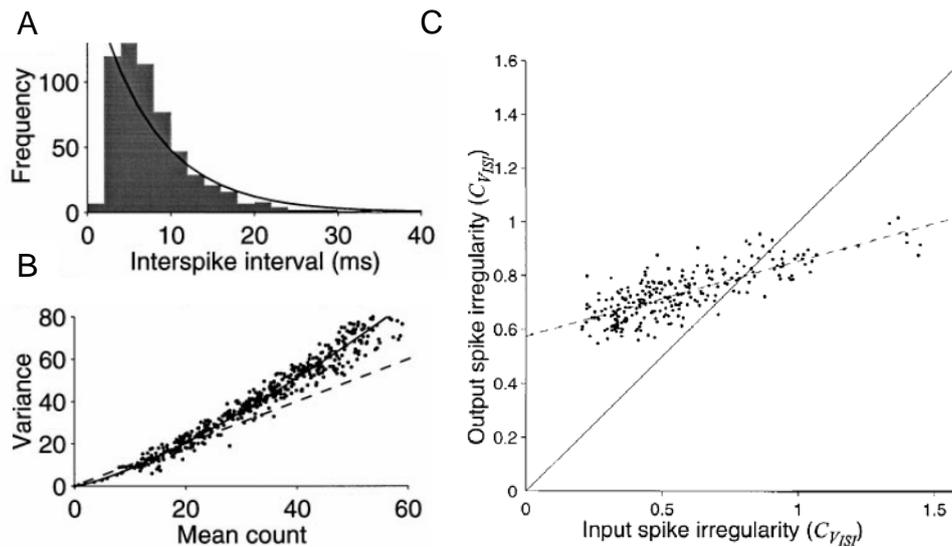


Figure 19 : Impact de la variabilité de décharge du réseau sur l'irrégularité de décharge intracellulaire. **A**, Distribution des intervalles entre potentiels d'action (ISI) d'un neurone de l'aire visuelle de singe éveillé. **B**, Variance du nombre de potentiels d'action en fonction du nombre moyen de potentiels d'action. **C**, Comparaison de la variabilité des ISI produite par des entrées synaptiques balancées (mesurée par le coefficient de variation, CV_{ISI}) dans un modèle neuronal, en fonction de l'irrégularité des trains de potentiels d'action auquel il est soumis. Noter la faible dépendance de l'irrégularité des ISI en entrée sur l'irrégularité de la décharge du neurone. D'après Shalden et Newsome, 1998.

Il semble que c'est bien la corrélation entre les entrées qui peut produire un coefficient de variation élevé similaire à celui observé *in vivo* et non la survenue d'entrées indépendantes les unes des autres (Stevens et Zador, 1998). De la même façon, une étude théorique a montré que l'augmentation de la corrélation des entrées, en modulant l'amplitude des fluctuations membranaires, augmentait la variabilité de la décharge neuronale dans un modèle de système balancé (Salinas et Sejnowski, 2000). Dans cette étude, la diminution de la constante de temps du neurone avait pour effet d'augmenter le coefficient de variation de la décharge. En accord avec cette observation, une autre étude a montré, en utilisant plusieurs modèles de neurones corticaux et en mimant l'activité synaptique de fond présente *in vivo*, que l'état de haute conductance était une condition déterminante pour reproduire la grande variabilité de décharge présente spontanément *in vivo*, que le neurone reçoive des entrées synaptiques balancées ou non (Rudolph et Destexhe, 2003b). Lors des états dit « activés », le potentiel membranaire des cellules étant relativement proche du seuil de décharge, les fluctuations sous-liminales de potentiel sont principalement responsables de la grande variabilité de décharge car le neurone est dans un état de haute conductance (Rudolph et Destexhe, 2003b).

Lorsque le réseau afférent génère une décharge synchrone et périodique, les entrées synaptiques synchrones entraînent des oscillations amples du potentiel membranaire. La probabilité de décharge spontanée du neurone est alors plus grande dans la phase dépolarisée du potentiel membranaire et quasiment nulle dans la phase hyperpolarisée. Ainsi, l'activité spontanée synchrone du réseau restreint la décharge à un moment précis de l'oscillation du potentiel membranaire (Tiesinga et coll., 2008). Dans un tel état, les potentiels d'action sont séparés par des intervalles relativement stables et le patron de décharge est donc plutôt régulier (Ermentrout et coll., 2008).

b) Mode d'intégration neuronale

On peut distinguer deux principaux modes d'intégration neuronale. Lorsque le neurone traite et code l'information en utilisant la fréquence de décharge, c'est-à-dire le nombre total de potentiels d'action dans un temps donné, le neurone opère comme un intégrateur. Ainsi, le neurone intègre l'information en sommant les entrées synaptiques qu'il reçoit. A l'inverse, le neurone peut être sensible au moment précis où le PA arrive dans une fenêtre de temps courte : il agit alors comme détecteur de coïncidence. Il a cependant été proposé qu'il puisse exister un continuum de modes d'intégration (Kisley et Gerstein, 1999)

Le bruit synaptique, en modulant les propriétés membranaires, peut contrôler la façon dont le neurone intègre l'information dans le temps. La diminution de la constante de temps associée aux états de haute conductance a pour effet de raccourcir la fenêtre temporelle permettant la sommation de deux PPSE. Ainsi, la probabilité de réponse du neurone est

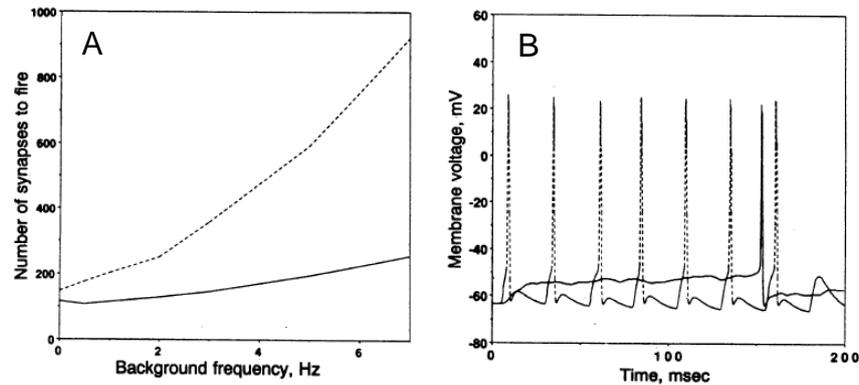


Figure 20 : Impact de l'activité synaptique de fond sur l'intégration d'entrées excitatrices synchronisées et désynchronisées dans un modèle de neurone pyramidal. A, Nombre minimum de synapses synchrones (ligne pleine) et asynchrones (ligne pointillée) permettant de générer un PA en fonction de la force (fréquence des entrées synaptiques) de l'activité synaptique de fond. Les entrées synchrones sont plus efficaces pour générer un PA, et le nombre de synapses nécessaires augmente beaucoup moins vite en fonction de l'activité synaptique de fond si on les compare à des entrées asynchrones. **B,** Variation du potentiel membranaire en réponse à l'activité de 150 synapses activées périodiquement de façon synchrones (pointillé) ou de manière temporellement dispersées (plein) en présence d'une activité synaptique de fond de 1 Hz. Noter la forte fréquence de décharge ainsi que la fiabilité de la genèse de la réponse associée à la stimulation périodique et synchrone des entrées synaptiques si on la compare au même groupe de synapses activées de façon asynchrone à chaque cycle. D'après Bernander et coll., 1991.

restreinte à des entrées synaptiques fortement synchrones (Salinas et Sejnowski, 2001 ; Destexhe et coll., 2003). Le nombre d'entrées synaptiques nécessaires à faire décharger le neurone est donc plus petit si ces entrées sont synchrones (Bernander et coll., 1991 ; Figure 20A). En revanche, lorsque des entrées asynchrones arrivent aux neurones en présence de bruit, le nombre d'entrées synaptiques nécessaire à faire décharger le neurone est plus grand et il est beaucoup plus sensible à la force du bruit synaptique. En présence d'un bombardement synaptique, la probabilité d'évoquer une réponse à chaque stimulation est nettement plus grande lorsque les entrées surviennent périodiquement et de façon synchrone que lorsque les entrées sont dispersées dans le temps (Figure 20B).

A l'échelle du réseau, une étude menée *in vitro* a montré que l'ajout de bruit peut générer des oscillations synchrones entre neurones non directement connectés permettant ainsi de passer dans une dynamique oscillatoire (Galán et coll., 2006). Cette synchronie par le bruit requiert que les neurones reçoivent des entrées partiellement corrélées. Dans le néocortex, étant donné le nombre de projection d'un neurone vers plusieurs milliers d'autres neurones du réseau local, son activité permet de générer une entrée corrélée à un grand nombre de neurone (Ermentrout et coll., 2008). Cependant, la synchronie dépendant aussi des propriétés intrinsèques des neurones du réseau, ce mécanisme ne permet de générer une oscillation synchrone qu'entre neurones ayant les mêmes propriétés de décharges (Galán et coll., 2006).

c) Précision temporelle

La précision temporelle ainsi que la fiabilité de survenue d'un PA permettent de décrire le codage temporel du neurone. A la suite d'une stimulation répétée d'un même signal, si le nombre de PA généré par le neurone est stable, la genèse de PA est fiable. Si chacun des potentiels d'action du train surviennent au même moment pour chaque essai, le neurone est dit précis (Tiesinga et coll., 2008). Malgré les fluctuations constantes du potentiel membranaire *in vivo*, le neurone est capable de répondre, dans certaines conditions, de façon relativement précise en présence de bruit synaptique (Pidoux et coll., 2011).

In vitro, des études ont montré que la précision de la décharge était bien plus grande lorsque le neurone était soumis à un même échelon de courant fluctuant (Mainen et Sejnowski 1995 ; Figure 21). Une autre étude de *current-clamp in vitro* a montré que la précision temporelle du patron de décharge était d'autant plus grande que la composante haute fréquence était augmentée (Nowak et coll., 1997). Le timing du PA est en revanche plutôt imprécis lorsque le courant injecté est constant. Cette sensibilité de la précision de la décharge à la fréquence des oscillations peut s'expliquer par le fait que le seuil de décharge est plus hyperpolarisé en présence de fluctuations membranaires à hautes fréquences (Mainen et Sejnowski, 1995). Les canaux responsables de la genèse de PA agissent comme un filtre passe-haut et rendent donc le neurone plus sensible à des fluctuations de potentiel membranaire transitoires (Azouz et Gray, 1999). *In vitro*, une étude a montré que l'injection d'un courant sinusoïdal de faible intensité avait la capacité, par un phénomène de résonance, d'augmenter la précision de la décharge lorsque la fréquence de l'oscillation était similaire à la fréquence de décharge spontanée du neurone (Hunter et coll., 1998).

Lorsque le bruit synaptique consiste en un flux d'entrées synaptiques périodiques, la synchronie des neurones connectant un même neurone cible, permet de le dépolariser plus efficacement et donc d'augmenter la fiabilité de genèse de PA. Ce rôle de la synchronisation suggère que l'échelle de temps la plus pertinente pour la synchronisation est comparable à la constante de temps du neurone cible afin de permettre une sommation optimale des entrées excitatrices (Ermentrout et coll., 2008). Dans un système oscillatoire, la précision et la fiabilité de la décharge du neurone sont contrôlées par la phase de l'oscillation plus que par l'entrée d'un stimulus (Tiesinga et coll., 2008).

En résumé, dans un état de haute conductance, le bruit induit une décharge irrégulière restreinte à des entrées excitatrices synchrones. Lorsque l'activité spontanée est de type oscillatoire, la décharge est calée sur la phase dépolarisée du potentiel membranaire assurant une décharge fiable et précise. En relation avec les propriétés intrinsèques spécifiques de chaque neurone, l'activité synaptique endogène peut permettre d'augmenter la précision et la fiabilité de la réponse.

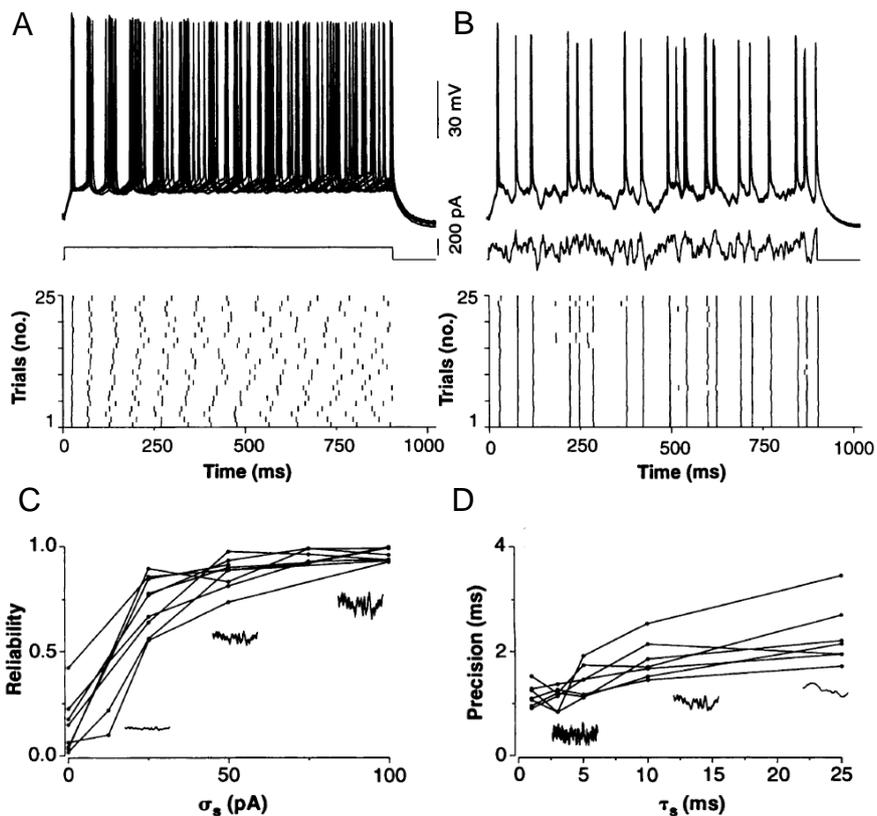


Figure 21 : Fiabilité et précision du patron temporel de décharge à un stimulus d'intensité constante ou fluctuante *in vitro*. **A**, Réponses neuronales superposées à des pulses de courant supra-liminaire répétés (haut). Rastergramme du timing de survenue des potentiels d'action pour 25 stimulations successives (bas). **B**, Réponses neuronales superposées du même neurone qu'en A, répondant à un pulse de courant répété de même intensité moyenne qu'en A mais non constant. Noter la forte précision du patron temporel de décharge lorsque le courant injecté fluctue dans le temps. **C**, Dépendance de la fiabilité du patron de décharge à l'amplitude des fluctuations de courant. **D**, Dépendance de la précision du patron temporel de décharge au contenu fréquentiel du courant injecté, filtré à différentes constantes de temps. La fiabilité du signal est fortement corrélée à l'amplitude des fluctuations. La précision de la décharge est d'autant plus grande que la constante de temps des fluctuations de courant est faible. D'après Mainen et Sejnowski, 1995.

1-3.5 Impact sur les réponses sensorielles

L'impact de l'activité synaptique spontanée sur les propriétés membranaires du neurone cortical peut expliquer les propriétés des réponses sensorielles neuronales observées *in vivo*. Plusieurs études ont comparé la réponse neuronale à la suite de stimulations sensorielles pendant les états hauts et bas de l'onde lente. Cependant les résultats de ces études sont assez contradictoires. Dans certains cas, la réponse sous-liminaire du neurone était moins ample et plus courte en présence de bruit synaptique (Petersen et coll., 2003 ; Sachdev et coll., 2004 ; Civillico et Contreras 2012 ; Figure 22A). Le niveau dépolarisé du potentiel membranaire entraînant une diminution de la force électromotrice pouvait expliquer l'amplitude réduite du potentiel postsynaptique dépolarisant (PPSd) dans l'état haut. Par ailleurs, l'augmentation de la conductance membranaire induite par le bombardement synaptique dans l'état haut, amplifiait cette différence en shuntant la dépolarisation du PPSd (Sachdev et coll., 2004). La diminution de la constante de temps membranaire avait pour effet de diminuer le temps de dépolarisation et de repolarisation de l'évènement postsynaptique, réduisant ainsi la durée du PPSd (Petersen et coll., 2003). Ces résultats étaient cohérents avec la diminution de l'amplitude des réponses synaptiques obtenues dans l'état haut, suite à des stimulations électriques intracorticales chez le chat anesthésié à la kétamine/xylazine (Timofeev et coll., 1996 ; Crochet et coll., 2006), ou sur des tranches thalamo-corticales de souris (Rigas et Castro-Alamancos, 2009).

En revanche, à la suite de stimulations visuelles chez le chat, d'autres études ont observé une réponse sous-liminaire d'amplitude étonnamment similaire entre ces deux états (Haider et coll., 2007, 2013). En conséquence, la présence d'activité synaptique de fond, induisait une augmentation de la réponse corticale supra-liminaire évoquée par des stimulations sensorielles ou électriques (Azouz et Gray, 1999 ; Rosanova et Timofeev, 2005 ; Haider et coll., 2007 ; Figure 22C). Dans ces études, l'augmentation de la sensibilité neuronale était expliquée par la dépolarisation tonique du potentiel membranaire (Sanchez-Vives et McCormick, 2000) ainsi que par la présence de fluctuations de potentiel membranaire augmentant la sensibilité du neurone (Haider et coll., 2007).

Les études observant un PPSd moins ample dans l'état haut observaient à l'inverse, une diminution de la probabilité de décharge (Petersen et coll., 2003 ; Sachdev et coll., 2004 ; Hasenstaub et coll., 2007 ; Figure 22B). Ce résultat apparaît contradictoire au regard de l'effet facilitateur associé aux fluctuations de voltage et à la dépolarisation membranaire en présence de bruit synaptique. Une accommodation du seuil du PA lors des états hauts, contrebalançant

l'effet facilitateur du bruit, a été proposée comme un mécanisme pouvant expliquer la diminution de sensibilité neuronale dans cet état (Sachdev et coll., 2004). De plus, la diminution de la constante de temps membranaire en présence d'activité synaptique, restreint la fenêtre de sommation temporelle et peut expliquer la diminution de sensibilité neuronale observée lors des états hauts (Léger et coll., 2005).

Le caractère contradictoire de ces études peut s'expliquer notamment par les différences de modalité sensorielle et d'espèce étudié dans chaque étude. Une autre hypothèse pourrait résider dans l'intensité de la stimulation sensorielle (ou électrique) utilisée. En effet, une étude récente a montré, dans le cortex auditif du rat anesthésié à la kétamine/xylazine, que le bombardement synaptique présent lors des états hauts, avait un effet divisif sur la relation entre l'intensité de la stimulation auditive et l'amplitude du PPSd évoqué. Ainsi, en comparaison avec l'état bas, le PPSd évoqué dans les états hauts était plus ample pour de faibles intensités de stimulation, mais moins ample pour des intensité plus forte (Reig et coll., 2015 ; Figure 22D).

L'activité synaptique de fond peut affecter de façon « indirecte » l'intégration synaptique en modulant l'activité de tout le réseau sensoriel mis en jeu lors de la stimulation. Plus précisément, le bruit synaptique, en régulant le patron temporel de décharge des neurones, leurs propriétés d'intégration et leur sensibilité, peut affecter le réseau sensoriel à plusieurs niveaux d'intégration de l'information sensorielle. Ainsi, le nombre de neurones, la propagation, la sélectivité spatiale de la réponse (Petersen et coll., 2003), le poids synaptique (Meeren et coll., 1998) et la balance excitatrice et inhibitrice reçue par le neurone néocortical (Bennett et coll., 2013 ; Zhou et coll., 2014) peuvent être modulés en fonction de l'activité synaptique spontanée. Une étude a montré notamment que la diminution de sensibilité observée lors des états hauts n'était pas associée à une diminution d'excitabilité car la probabilité de décharge du neurone était plus grande suite à l'injection de conductances excitatrices (Hasenstaub et coll., 2007). La diminution de la sensibilité semble donc provoquée non pas par une modulation des propriétés intrinsèques du neurone mais par la dynamique du réseau synaptique mis en jeu. Dans cette étude, la diminution de la probabilité de décharge était associée à une conductance synaptique excitatrice plus faible et un courant synaptique inhibiteur plus important, dans l'état haut (Hasenstaub et coll., 2007). Il est possible que la dépression synaptique à court terme, induite par le bombardement synaptique

à haute fréquence lors des états hauts, participe aussi à la réduction d'amplitude des potentiels post-synaptiques (Petersen et coll., 2003).

Sous anesthésie, plusieurs études ont montré que dans différents systèmes sensoriels, l'excitation reçue par le neurone cortical était rapidement suivie d'une inhibition, et la réponse précoce était constituée d'un mélange de conductance excitatrice et inhibitrice (Wilent et Contreras, 2004 ; Haider et coll., 2013). Pendant l'éveil, à l'inverse, les neurones du cortex visuel sont largement dominés par une conductance inhibitrice de sélectivité spatiale beaucoup moins importante que sous anesthésie (Haider et coll., 2013). En conséquence, la réponse sensorielle est plus brève et plus spécifique à la localisation spatiale du stimulus visuel que sous anesthésie (Haider et coll., 2013). Par ailleurs, la diminution de la probabilité de genèse de potentiels d'action en présence d'activité synaptique observé dans certaines études, a pour conséquence de limiter la propagation de l'activité dans le réseau et de générer une réponse plus confinée spatialement (Petersen et coll., 2003 ; Muller et Destexhe, 2012).

Le niveau d'attention influence l'intégration sensorielle en modulant la dynamique de l'activité synaptique spontanée corticale. Là encore, l'état cortical semble affecter la réponse neuronale de façon contradictoire en fonction de la modalité sensorielle étudiée (Poulet, 2014).

Un comportement moteur tel que la locomotion, ou le *whisking*, affecte fortement la dynamique de l'activité corticale spontanée (Crochet et Petersen, 2006 ; Polack et coll., 2013 ; Reimer et coll., 2014). Une activité spontanée relativement ample oscillant à basses fréquences lors de l'éveil « tranquille », contraste avec les activités rapides de faibles amplitudes de type « désynchronisés » générées lors d'un comportement moteur. Des études récentes ont montré que la réponse corticale à un stimulus auditif était diminuée lors d'un mouvement ou d'une tâche sensorielle associée à un niveau d'attention élevé (Otazu et coll., 2014 ; Schneider et coll., 2014 ; Zhou et coll., 2014). Une étude a montré qu'une augmentation de l'inhibition locale modulant la balance excitation-inhibition pendant le mouvement provoquait une diminution de la réponse sensorielle corticale (Schneider et coll., 2014). Dans le cortex visuel, l'activité spontanée corticale induite par un mouvement locomoteur associé à un état d'attention élevé (Vinck et coll., 2015), induisait un potentiel membranaire dépolarisé, composé de fluctuations de faibles amplitudes (Niell et Stryker, 2010 ; Polack et coll., 2013 ; Bennett et coll., 2013). Contrairement à la stimulation auditive, la dépolarisation membranaire provoquée par la locomotion était responsable d'une

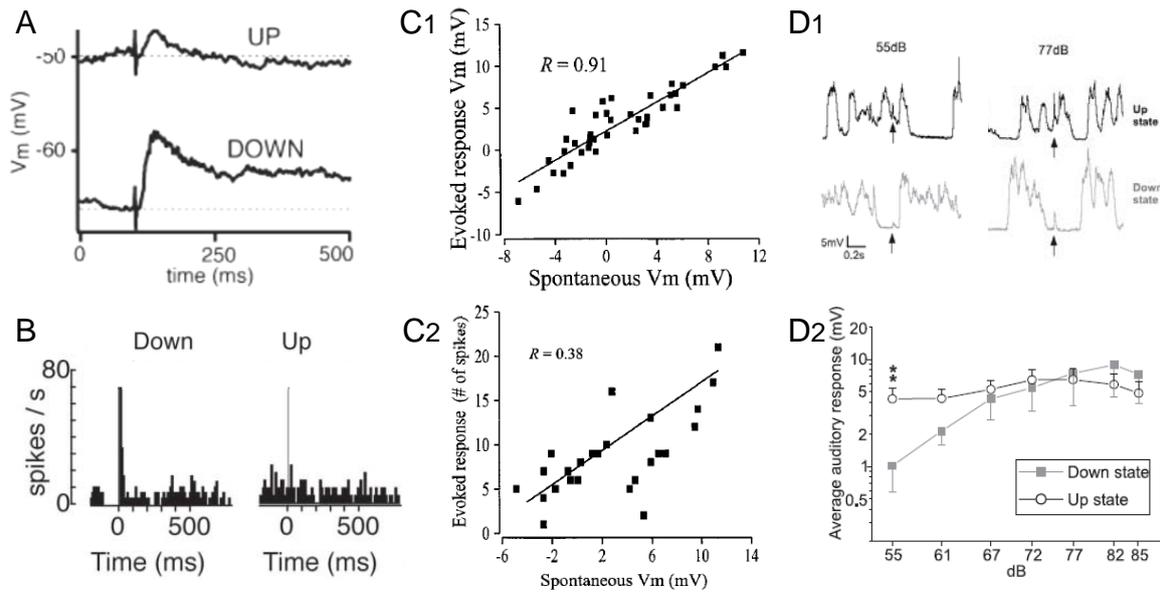


Figure 22 : Variabilité de la réponse intracellulaire évoquée par une stimulation sensorielle dans différentes conditions de bruit synaptique induit par l'anesthésie. **A**, Réponse sous-liminaire moyenne d'un neurone des couches II/III du cortex à tonneaux évoquée par la stimulation des vibrisses chez le rongeur anesthésié à l'uréthane. **B**, Histogramme de fréquence de PA suivant la stimulation des vibrisses (PSTH) d'un neurone du cortex à tonneaux chez le rat anesthésié à la kétamine/xylazine. En absence d'activité synaptique (Down) la probabilité de réponses supra-liminaires est beaucoup plus grande. **C**, Corrélations entre le potentiel membranaire précédant la stimulation visuelle et la réponse évoquée sous-liminaire (C1) et supra-liminaire (C2) chez le chat anesthésié à l'halothane. Noter la forte corrélation entre le niveau de potentiel membranaire et l'amplitude de la réponse évoquée sous-liminaire ainsi qu'avec la fréquence de PA évoquée. Le sens de la corrélation semble inversé par rapport aux résultats obtenus en A et B. **D**, Modulation de la réponse sous-liminaire évoquée par une stimulation auditive d'intensité variable chez le rat anesthésié à la kétamine/xylazine. D1, Réponse évoquée par un neurone du cortex auditif primaire pendant l'état haut (Up state) et bas (Down state) à deux stimuli auditifs d'intensité différente. D2, Réponse sous-liminaire moyennée sur l'ensemble de la population. Le rapport entre l'amplitude de la réponse pendant les états hauts et bas est inversé en fonction de l'intensité de la stimulation auditive. A, d'après Petersen et coll., 2003 ; B, d'après Sachdev et coll., 2004; C, d'après Azouz et Gray, 1999 ; D, d'après Reig et coll., 2015.

amplification de la réponse à un stimulus visuel (Niell et Stryker, 2010 ; Polack et coll., 2013).

De plus, l'activité synaptique spontanée influence la latence de la réponse sensorielle de différentes façons (Shu et coll., 2003a ; Haider et coll., 2007 ; Hasenstaub et coll., 2007). La latence du PA est linéairement corrélée avec le potentiel membranaire précédant la réponse sensorielle (Azouz et Gray, 1999). En présence d'activité synaptique, le potentiel membranaire est plus dépolarisé, ce qui entraîne une diminution de la différence de potentiel par rapport au seuil de décharge. Par conséquent, la latence du PA évoqué, pour une même entrée synaptique et un même seuil de PA, est raccourcie en présence d'activité synaptique spontanée (Shu et coll., 2003a). De plus, la constante de temps membranaire est diminuée,

réduisant le temps nécessaire à la charge de la membrane et ainsi la latence de la réponse sous- et supra-liminaire.

Par ailleurs, plusieurs études *in vivo* ont montré qu'en présence d'une affluence d'activités synaptiques, excitatrices et inhibitrices, la réponse sensorielle dans le cortex était très variable d'un essai à l'autre (Arieli et coll., 1996 ; Azouz et Gray, 1999 ; Petersen et coll., 2003 ; Fontanini et Katz, 2008) si on la compare à celle obtenue dans les réseaux sous-corticaux impliqués dans les premiers niveaux de traitement de l'information sensorielle (Kara et coll., 2000 ; Schölvinck et coll., 2015). Cette variabilité, semble corrélée linéairement aux fluctuations de potentiel membranaire, laissant penser qu'elles sont la source principale de ces variabilités (Arieli et coll., 1996 ; Azouz et Gray 1999 ; Petersen et coll., 2003 ; Figure 22C). De plus, lorsqu'un neurone est stimulé *in vitro* en absence d'activité spontanée, il peut générer une réponse extrêmement stéréotypée et précise (Mainen et Sejnowski, 1995). Il semble donc que la variabilité observée n'est pas la conséquence d'une variabilité intrinsèque au neurone et au processus de genèse de PA. En effet, une étude a montré que, sur la base de l'activité synaptique spontanée survenant à un instant donné, il était possible de prédire le patron de réponse à une stimulation visuelle en prenant en compte le fait que l'activité évoquée contient une composante reproductible (Arieli et coll., 1996 ; Fontanini et Katz, 2008).

1-3.6 Critiques et limites des approches *in vitro* et *in vivo*

L'étude du bruit synaptique *in vitro* est limitée car la tranche prélevée ne génère pas ou très peu d'activité spontanée, contrairement à l'intense bombardement synaptique observé *in vivo* (Paré et coll., 1998). L'injection en mode *current-clamp* d'un courant bruité permet de mimer les fluctuations de voltage mais ne prend pas en compte l'impact du bombardement synaptique sur la conductance membranaire du neurone. La technique du *dynamic-clamp in vitro* permet, en revanche, de reproduire artificiellement un bruit synaptique en mimant la fréquence des entrées synaptiques et les fluctuations de conductances excitatrices et inhibitrices provoquées par l'activité spontanée du réseau. Cependant, cette approche ne prend pas en compte la dynamique complexe d'intégration présente *in vivo* dans un réseau synaptique intact, ni la corrélation dans le temps et l'espace des entrées synaptiques, et l'impact différentiel de chaque entrée dans les différents compartiments cellulaires. *In vivo*, la propagation le long de l'arborisation dendritique est contrôlée de façon complexe par

l'interaction entre le bruit synaptique et le répertoire de conductances intrinsèques distribuées le long de l'arborisation dendritique. De plus, l'entrée synaptique étudiée étant colocalisée spatialement avec l'activité synaptique de fond, cette approche simplifie considérablement les interactions entre ces deux conductances.

In vivo, à l'inverse, le neurone est intégré dans un réseau dont la connectivité anatomique et fonctionnelle est préservée. Cependant, l'étude du bruit *in vivo* est difficile à appréhender. En effet, le caractère spontané de l'activité synaptique enregistrée est complexe à définir expérimentalement car le cerveau est constamment stimulé par le milieu extérieur. De plus, le cortex est intégré au cerveau, ainsi qu'à l'organisme dans son ensemble. L'activité corticale *in vivo* n'est donc pas isolable de l'activité des réseaux sous-corticaux, et notamment de celle des réseaux neuromodulateurs du tronc cérébral et du prosencéphal basal qui influencent l'excitabilité intrinsèque des neurones et la balance excitatrice et inhibitrice corticale (Pinto et coll., 2013). Dans ces conditions, la spécificité de l'activité synaptique spontanée corticale est limitée. Enfin, les expériences réalisées sur l'animal éveillé montrent que l'activité spontanée est constamment modulée en fonction du contexte, interne ou externe, dans lequel se trouve l'animal. Ainsi, la notion d'un « état » cortical correspondant à un patron spécifique d'activité corticale spontanée peut être remise en question. L'activité spontanée est constamment modulée et s'apparente davantage à un continuum d'états corticaux qui affectent de différentes manières l'activité spontanée corticale (Harris et Thiele, 2011).

1-4 LE CORTEX A TONNEAUX COMME MODELE D'ETUDE

1-4.1 Le système des vibrisses : rôle fonctionnel

Chez les rongeurs, animaux majoritairement nocturnes, l'intégration des informations de l'environnement passe avant tout par leur sens tactile (Diamond et coll., 2008). Cette modalité sensorielle est assurée par des poils ou vibrisses situés sur le museau de l'animal. Elles sont disposées selon une organisation bien précise en plusieurs arcs et rangées (5 chez le rat, composés de 4 à 7 vibrisses), formant la matrice mystaciale (Figure 23). Quatre vibrisses plus épaisses (« straddlers ») constituent l'arc le plus caudal de la matrice mystaciale. Ces vibrisses permettent à l'animal de s'orienter, d'identifier les positions relatives de différents objets dans l'espace, et de se faire une représentation spatiale de son environnement (Petersen, 2007 ; Kleinfeld et Deschênes, 2011). Elles permettent aussi de discriminer de manière fine, les propriétés physiques (texture, forme) des objets avec lesquels elles sont en contact (Carvell et Simons, 1990 ; Brecht et coll., 1997). Cette modalité sensorielle est donc essentielle à l'animal pour se mouvoir dans l'espace, explorer un nouvel environnement ou encore capturer ses proies. L'information peut être intégrée à la suite d'un contact passif avec un objet, ou bien suite à un mouvement actif des vibrisses appelé « whisking ». Ce comportement moteur consiste en un mouvement d'avant en arrière de large amplitude, rythmique (de 4 à 10 Hz) et synchrone, de l'ensemble des vibrisses le long de l'axe rostro-caudal (Kleinfeld et Deschênes, 2011). Il permet à l'animal de « palper » les objets qui l'entourent.

La connaissance des différents réseaux synaptiques impliqués dans le codage de l'information associé aux vibrisses fait de ce système un bon modèle d'étude de l'intégration sensorielle. Les informations sensorielles sont transmises de la vibrisse au cortex à tonneaux par un réseau poly-synaptique excitateur utilisant le glutamate comme neurotransmetteur. L'information est d'abord transmise des fibres sensorielles primaires du ganglion trigéminal aux cellules du noyau trigéminal. L'axone des neurones de ce noyau croise la ligne médiane et contacte les noyaux thalamiques ventral postéro-médial (VPM) et postéro-médial (POm) controlatéraux (Figure 24). Cette deuxième synapse entraîne la décharge des neurones thalamo-corticaux excitateurs qui se projettent sur le cortex à tonneaux de l'aire somatosensorielle primaire (Brecht, 2007). La vaste représentation corticale de ces vibrisses sous-tend un traitement sensoriel indispensable pour l'animal.

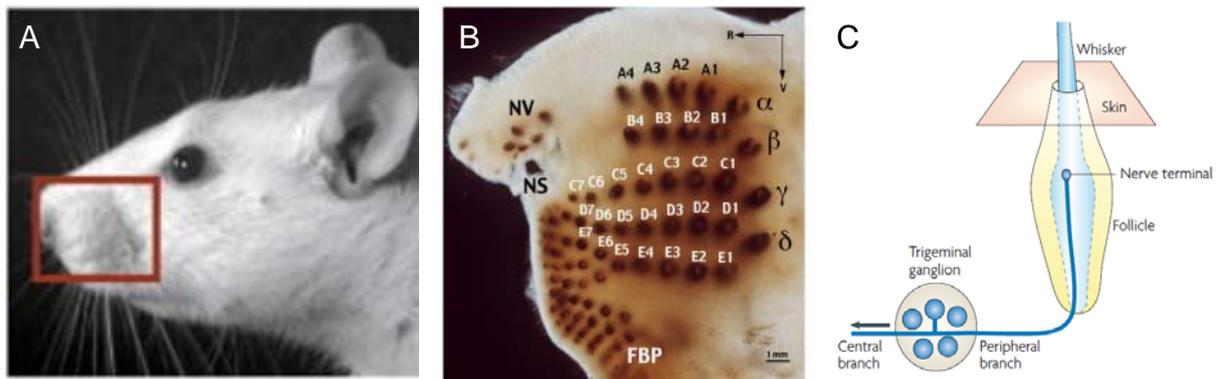


Figure 23 : La matrice mystaciale. **A**, Photographie de la matrice mystaciale (rectangle rouge) sur le museau d'un rat. **B**, Marquage au Xylène des sinus veineux des complexes follicule-sinus de chaque vibrisse. Noter l'organisation en rangées (A à E) et arcs (1 à 7) auxquels s'ajoutent quatre « straddlers » (α à δ). **C**, Organisation schématique d'une innervation du complexe follicule-sinus. L'information sensorielle codée au niveau de la terminaison de la fibre sensorielle primaire arrive au ganglion trigéminal via la branche infra-orbitale du nerf trigéminal puis est transmise au noyau trigéminal ipsilatéral du tronc cérébral (flèche). A, d'après Knutsen et Ahissar, 2009 ; B, d'après Haidarliu et Ahissar, 1997 ; C, d'après Diamond et coll., 2008.

Une des caractéristiques de ce système est la représentation de chaque vibrisse par une structure spécifique bien définie, appelée « tonneau » (« *barrel* » en anglais), dans la couche IV du cortex somatosensoriel primaire (Woolsey et van der Loos, 1970). Chaque tonneau est composé d'un regroupement dense de corps cellulaires, entouré d'aires de faible densité neuronale, appelées septa, séparant les tonneaux adjacents. A chaque organisation cyto-architectonique en tonneau est associée une colonne corticale qui représente un réseau fonctionnel composé de neurones de l'ensemble des six couches corticales et qui est impliqué dans le traitement de l'information sensorielle relatif à une vibrisse. De plus, ces tonneaux sont organisés de façon somatotopique, respectant de manière précise l'arrangement des vibrisses dans la matrice mystaciale. La représentation physique de la matrice mystaciale est relativement conservée à chaque stade de l'intégration sensorielle, de la périphérie au cortex. A chaque vibrisse correspond une « barrette » dans le noyau trigéminal, un « barreloïde » dans le VPM du thalamus et un barrel dans la couche IV du cortex à tonneaux (Figure 24).

Pour chaque cellule du système vibrissal, on peut définir son champ récepteur comme l'ensemble des vibrisses induisant une réponse de la cellule lorsqu'elles sont stimulées. La vibrisse principale est celle entraînant la réponse d'amplitude maximale et dont la latence est la plus courte dans la cellule enregistrée. Les vibrisses adjacentes peuvent néanmoins également évoquer une réponse, bien qu'elle soit de plus faible amplitude (Simons et Carvell, 1989). Les propriétés du champ récepteur dépendent de la connectivité du réseau mais aussi de l'état cérébral dans lequel se trouve l'animal (Simons et coll., 1992 ; Minnery et Simons, 2003).

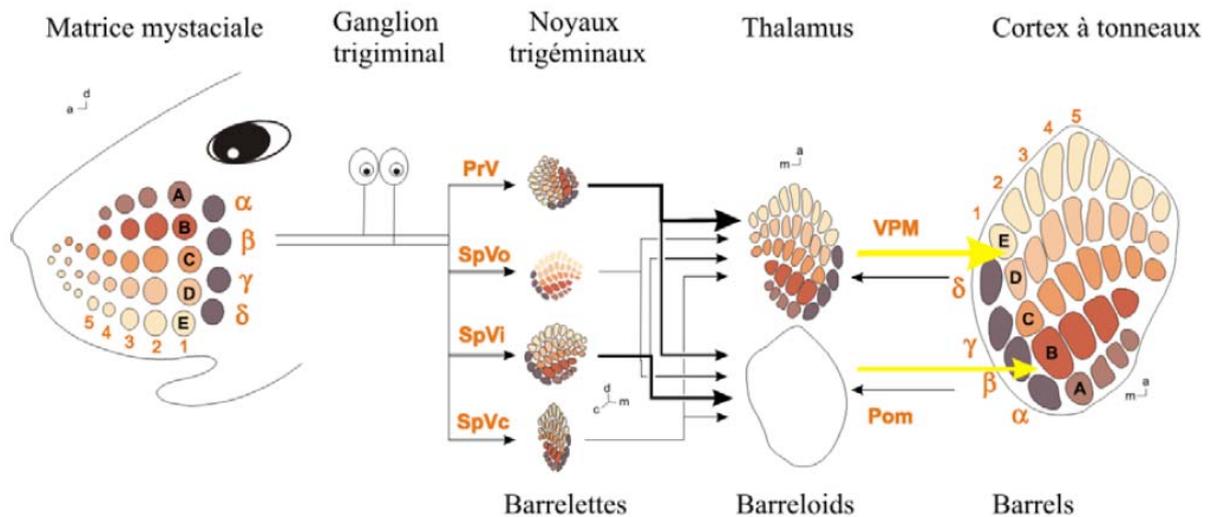


Figure 24 : Transmission de l'information des vibrisses au cortex à tonneaux. L'information sensorielle se propage de la vibrisse aux noyaux trigéminaux du tronc cérébral, via les fibres sensorielles primaires dont le corps cellulaire est situé dans le ganglion trigéminal. L'information est transférée dans le thalamus contralatéral jusque dans le cortex à tonneaux du cortex somatosensoriel primaire. Chaque vibrisse est associée à une « barrelette » du noyau trigéminal, un « barreloïde » du VPM du thalamus et un « barrel » ou tonneau du cortex à tonneaux. Les barrelettes, barreloïdes et barrels, sont organisés somatotopiquement. D'après Yuste et Simons, 1997

1-4.2 De la vibrisse au noyau trigéminal

La vibrisse est un poil intégré à sa base dans une structure appelée « complexe follicule-sinus » (Rice et coll., 1993). Ce complexe est composé d'une gaine dérivée de l'épiderme et d'une enveloppe externe, la capsule, dérivée du derme. Le muscle papillaire connecté au follicule permet le mouvement indépendant de chaque vibrisse. L'activité du nerf facial VII permet la contraction du muscle papillaire tirant la base du follicule vers l'arrière et permettant un mouvement protractif de la vibrisse. La rétraction est assurée par l'élasticité du tissu ainsi que par la contraction de muscles extrinsèques à la matrice mystaciale.

Chaque vibrisse est innervée par un nerf vibrissal profond et de nombreux nerfs vibrissaux superficiels (Rice et coll., 1993). Lors du mouvement des vibrisses, l'étirement, la compression et la vibration induite dans le complexe follicule-sinus provoquent l'ouverture d'une grande diversité de canaux mécanosensibles situés sur les terminaisons nerveuses des fibres sensorielles primaires. Trois principaux types de terminaisons nerveuses innervent le complexe follicule-sinus : les terminaisons de Merkel qui codent une information de pression, les terminaisons lancéolées et les terminaisons réticulaires qui codent l'étirement. Les différentes propriétés d'adaptation de ces fibres suggèrent le codage d'informations

sensorielles spécifiques (Leiser et Moxon, 2006 ; Lumpkin et coll., 2010). La discrimination d'objets par leur forme et leur texture pourrait être codée par des cellules à adaptation lente déchargeant pendant toute la durée du mouvement des vibrisses. La localisation de l'objet serait codée plutôt par des cellules à adaptation rapide déchargeant uniquement à l'initiation du mouvement. Les fibres nerveuses des nerfs vibrissaux aboutissant à ces terminaisons sensorielles sont principalement de type A β fortement myélinisées. A l'extrémité des fibres A δ faiblement myélinisées et des fibres C non myélinisées se trouvent des terminaisons libres innervant la base du complexe follicule-sinus et transmettant l'information nociceptive (Bosman et coll., 2011). L'ensemble de ces fibres forment le nerf infra-orbital qui rejoint le ganglion trigéminal par le nerf maxillaire (Figure 25). Au total, le complexe follicule-sinus est innervé par environ 150 fibres nerveuses dont les corps cellulaires sont situés dans le ganglion trigéminal.

Les cellules du noyau trigéminal véhiculent l'information des vibrisses jusqu'au tronc cérébral. Elles constituent donc l'entrée de l'information dans le système vibrissal. Chaque neurone sensoriel primaire ne transmet l'information que d'une seule vibrisse. L'organisation des cellules dans le ganglion trigéminal suit en partie l'arrangement des vibrisses, démontrant une forme de somatotopie dans le ganglion trigéminal (Figure 25). Les cellules répondant aux vibrisses caudales plus épaisses et plus longues sont plus nombreuses et donc plus représentées que les cellules répondant aux vibrisses rostrales (Leiser et Moxon, 2006). Les fibres afférentes primaires innervant les vibrisses codent différentes informations dont l'amplitude, la vitesse, la durée, la fréquence et la direction angulaire (Gibson et Welker, 1983). La fréquence de décharge des neurones ganglionnaires augmente lorsque l'animal a un comportement de *whisking*, et la décharge est corrélée avec la fréquence du mouvement. Lorsque l'animal contacte un objet, la fréquence de décharge de ces neurones augmente fortement. En revanche, lorsque les vibrisses sont immobiles, la fréquence de décharge spontanée de ces neurones est nulle (Leiser et Moxon, 2007).

L'information sensorielle se propage ensuite jusque dans le noyau trigéminal sensoriel du tronc cérébral via le nerf trijumeau V. Le noyau trigéminal est composé de plusieurs sous-noyaux ; le noyau principal trigéminal (PrV) et les noyaux spinaux trigéminaux (SpV) oral (SpVo) intermédiaire (SpVi) et caudal (SpVc). A l'exception du SpVo, l'ensemble des noyaux trigéminaux possède des barrelettes correspondant à des regroupements de neurones recevant l'information d'une même vibrisse (Bosman et coll., 2011). L'ensemble de ces barrelettes est organisé suivant une somatotopie inversée de la distribution des vibrisses

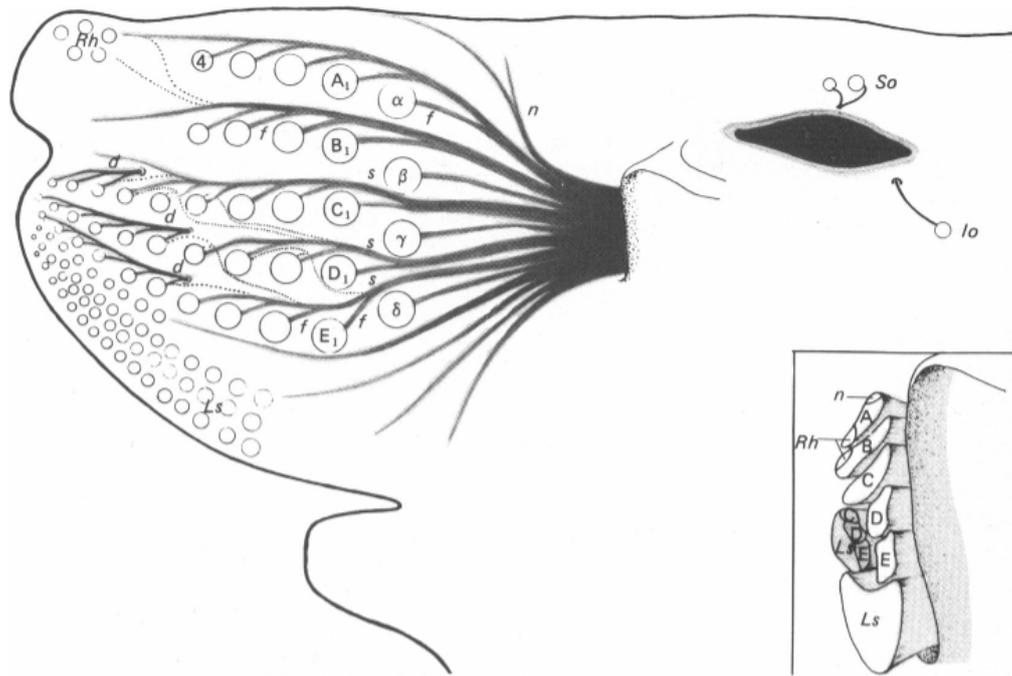


Figure 25 : Innervation sensorielle de la matrice mystaciale. Schéma de la distribution des différentes branches du nerf infra-orbitaire. Encart, section du nerf somato-orbitaire représentant son organisation somatotopique. *f*, nerf folliculaire ; *s* et *d*, divisions superficielles et profondes des nerfs vibrissaux des rangées C à E ; *Io*, follicule infra-orbitaire ; *Rh*, follicules des vibrisses nasales ; *So*, follicules supra-orbitaux ; *n*, nerf de la partie dorsale du museau ; *Ls*, follicules de la lèvre supérieure. D'après Dörfl, 1985.

(Erzurumlu et coll., 2010). Les vibrisses dorsales ont une représentation ventrale et les vibrisses rostrales sont représentées dans la région médiale. Les neurones de projection se trouvent à la fois dans les barrelettes et entre chaque barrelette dans le PrV (Veinante et Deschênes, 1999). On distingue deux grands types de neurones dans le PrV. Les neurones de type I à réponse phasique et ayant la capacité de répondre à la stimulation d'une seule vibrisse (champ récepteur mono-vibrissal) projettent sur le VPM thalamique. Les neurones de type II à réponse tonique qui répondent à la stimulation de plusieurs vibrisses (champ récepteur multi-vibrissal) projettent sur le POm thalamique (Veinante et Deschênes, 1999). Le noyau trigéminal est donc le premier niveau d'intégration multi-vibrissal.

La connectivité entre les différents sous-noyaux est très grande dans le noyau trigéminal. Il existe entre autres deux boucles de rétrocontrôle dans le tronc cérébral qui conditionnent l'entrée sensorielle. D'une part les interneurones GABAergiques et glycinergiques du SpVi forment des synapses inhibitrices sur les neurones du PrV (Bellavance et coll., 2010 ; Furuta et coll., 2010 ; Kleinfeld et Deschênes, 2011). Cette forte entrée inhibitrice est sous le contrôle des cortex somatosensoriels primaire et secondaire qui

modulent ainsi l'activité des cellules du PrV ainsi que leur champ récepteur (Furuta et coll., 2010). De cette façon, le cortex à tonneaux peut contrôler la transmission des informations sensorielles et permettre le filtrage d'entrées sensorielles non pertinentes. D'autre part, le SpVi et le SpVc projettent fortement sur les motoneurones du noyau facial du tronc cérébral, entraînant un mouvement de rétraction des vibrisses suite au contact avec un objet (Lee et coll., 2008 ; Matyas et coll., 2010). Cette voie est utilisée notamment lors du *whisking* actif, quand l'activité des neurones du PrV induite par le mouvement de la vibrisse est supprimée. De plus, l'activité du noyau trigéminal est sous l'influence de nombreux neuromodulateurs affectant l'excitabilité des neurones en fonction de l'état cérébral (Bosman et coll., 2011).

1-4.3 Le thalamus somatosensoriel

Le thalamus, en plus d'interagir avec le cortex dans la genèse des rythmes corticaux, est considéré comme la structure principale permettant le transfert des informations sensorielles au cortex (Linás et Paré, 1991). Deux noyaux thalamiques sont impliqués dans la transmission des informations associées aux vibrisses ; le VPM et POm. L'organisation du VPM est, elle aussi, agencée somatotopiquement en unités structurales appelées barreloïdes.

On distingue trois voies principales permettant le traitement des informations associées aux vibrisses. La voie lemniscale transmet les informations mono-vibrissales des neurones trigéminaux des barillettes vers les neurones corticaux des barils en passant par les neurones thalamiques des barreloïdes, situés dans la partie dorso-médiale du VPM. Les neurones thalamiques projettent principalement sur les neurones de la couche IV du cortex mais aussi sur les couches V et VI ainsi que sur la couche III (Bureau et coll., 2006 ; Petreanu et coll., 2009 ; Petersen et Crochet, 2013 ; Constantinople et Bruno, 2014). La voie lemniscale est impliquée dans le décodage spatial du fait de la préservation de la somatotopie et l'identification des objets (Yu et coll., 2006). La voie extralemniscale correspond à la projection des neurones inter-barillettes sur la partie ventro-lateral du VPM qui projette à son tour sur les couches IV et VI du cortex somatosensoriel secondaire ainsi que dans les régions septales, du cortex somatosensoriel primaire (Petersen, 2007). Cette voie serait impliquée dans le codage du contact des vibrisses avec les objets et leur localisation (Yu et coll., 2006). Enfin, la projection des neurones de la partie rostrale du SpVi transmettant les informations multi-vibrissale sur le POm innervant la couche I et Va du cortex à tonneaux constitue la voie paralemniscale (Bureau et coll., 2006 ; Petreanu et coll., 2009 ; Wimmer et coll., 2010). Les neurones du POm projettent aussi dans les septa de la couche IV, sur le cortex

somatosensoriel secondaire et sur le cortex moteur. Ce dernier, en projetant sur les neurones inhibiteurs de la zona incerta ventrale module l'activité des neurones du POm (Kleinfeld et Deschênes, 2011). Des stimulations électriques du nerf moteur ont montré que cette voie semble jouer un rôle dans l'exploration active associée au *whisking* (Yu et coll., 2006).

On peut distinguer plusieurs classes de neurones dans le VPM avec des champs récepteurs sous-liminaires et des propriétés membranaires différentes. Lors de la stimulation de la vibrisse principale, la latence de la réponse des neurones du VPM est courte et précise (de 4 à 8 ms) (Simons et Carvell, 1989 ; Brecht et Sakmann, 2002a), contrairement à celle des neurones du POm bien plus longue et variable (de 19 à 27 ms). Les projections intrathalamiques sur le nRT induisent une forte inhibition *feedback* suite à une stimulation sensorielle. Ces projections GABAergiques modulent la forme de la réponse des neurones thalamo-corticaux. Dans le nRT, il existe aussi une représentation somatotopique. Il semble que les projections sur le VPM des cellules du nRT ciblent spécifiquement le barloïde représentant la vibrisse principale de leur propre champ récepteur (Desflets-Roy et coll., 2002).

1-4.4 Intégration dans les réseaux corticaux

Le cortex à tonneaux, est localisé dans le cortex pariétal correspondant à l'aire somatosensorielle primaire. Le cortex somatosensoriel primaire est une structure indispensable à la perception et au traitement des entrées sensorielles provenant des vibrisses, ainsi qu'au contrôle moteur (Matyas et coll., 2010 ; O'Connor et coll., 2010). Chez le rat, le cortex à tonneaux représente près de 20 % de l'aire totale du cortex somatosensoriel (Welker, 1971). Comme la plupart des aires corticales, le cortex à tonneaux est composé de six couches. Les couches V et VI sont divisées en deux sous-couches Va, Vb et VIa, VIb. La distribution des corps cellulaires dans la couche IV est composée de groupes de neurones, les tonneaux, entourés de régions peu denses en corps cellulaires : les septa (Woolsey et van der Loos, 1970). La forte densité de corps cellulaires dans le tonneau donne à la couche IV son aspect granulaire (Figure 26).

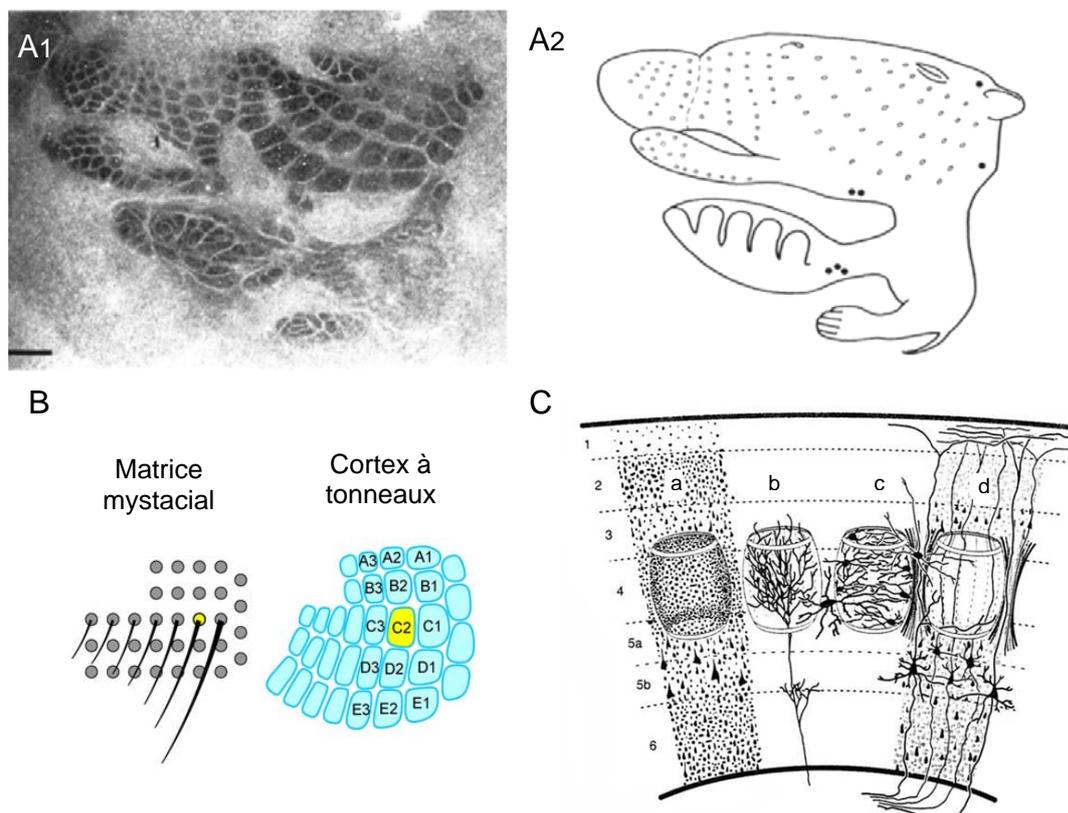


Figure 26 : Anatomie du cortex à tonneaux. **A**, Représentation du « ratonculus » dans le cortex somato-sensoriel primaire. A1, Photomicrographie après réaction de la succinyle deshydrogénase sur une coupe tangentielle au niveau de la couche IV du cortex somatosensoriel de rat. Noter l'organisation en tonneau des corps cellulaires de la couche IV. A2, Représentation schématique de la surface corporelle du rat reflétant l'information codée par les structures corticales en A1. Barre d'échelle : 1 mm. **B**, Représentation schématique de l'organisation de la matrice mystaciale et des tonneaux de la couche IV, associés à chaque vibrisse dans le cortex à tonneaux. **C**, Coupe transversale du cortex à tonneaux. a, Distribution des corps cellulaires d'après un marquage de Nissl. b, Afférence thalamo-corticale du VPM contactant les neurones du tonneau dans la couche IV et sous le tonneau dans la couche Vb. c, Neurones étoilés épineux de la couche IV dont les dendrites sont orientées principalement vers le centre du tonneau. d, Cellules pyramidales de la couche V. A, d'après Dawson et Killackey, 1987 ; B, d'après Petersen, 2007 ; C, d'après White et Peters, 1993.

Chez le rat, le diamètre du tonneau est large, d'environ 400 μm et la distribution des corps cellulaires est homogène au sein d'un barrel (Welker et Woolsey, 1974). De la même façon que les neurones du ganglion trigéminal, les barrelettes du noyau trigéminal ainsi que les barreloïdes du VPM, les tonneaux corticaux sont agencés suivant une organisation somatotopique (Welker et Woolsey, 1974). La carte physique de la matrice mystaciale est donc représentée de façon plus ou moins stricte à tous les niveaux de l'intégration sensorielle. Chaque tonneau traite préférentiellement l'information d'une vibrisse. Les septa reçoivent principalement les informations de plusieurs vibrisses (Furuta et coll., 2009). Cette

organisation en tonneau est assez rare chez les mammifères et observable distinctement uniquement chez certains rongeurs et quelques autres espèces (Woolsey et coll., 1975).

Chaque tonneau de la couche IV est associé anatomiquement et fonctionnellement à un groupe de neurones distribués verticalement dans l'ensemble des couches corticales définissant la colonne corticale (Woolsey et van der Loos, 1970 ; Mountcastle, 1997). Une colonne corticale est composée d'environ 10 000 à 20 000 neurones répartis entre les différentes couches (Feldmeyer et coll., 2013). Les colonnes corticales représentent des modules anatomo-fonctionnels de calcul cortical dont les tonneaux représentent le corrélat anatomique. Cependant, la forte connectivité inter-colonne dite « horizontale » ainsi que les afférences sous-corticales transmettant l'information multi-vibrissale permettent à un neurone cortical donné de traiter les informations multi-vibrissales. Chaque neurone d'une colonne corticale possède donc un champ récepteur plus ou moins large de la matrice mystaciale. Dans le cortex à tonneaux, 70% des connexions sont intracorticales, impliquant un haut niveau de traitement sensoriel (Fox, 2008). Les neurones de la couche IV du barrel cortex sont la principale cible de la voie lemniscale (Figure 27). Ces neurones projettent sur toutes les couches dans leur propre colonne corticale mais principalement sur les autres neurones de la couche IV, ainsi que dans les couches II/III (Petersen et Sakmann, 2000 ; Brecht, 2007 ; Lefort et coll., 2009). L'arborisation dendritique et axonale des cellules d'un tonneau est confinée latéralement aux limites du tonneau. La couche IV est composée en majorité de cellules étoilées à épines, dont les axones sont orientées verticalement et contactent principalement les cellules pyramidales de la couche II/III. (Lübke et Feldmeyer, 2007). Les neurones des couches II/III supra-granulaires projettent dans leur propre colonne corticale mais font aussi des connexions à longues distances sur d'autres colonnes corticales (Lübke et Feldmeyer, 2007). Ces cellules projettent dans toutes les couches corticales à l'exception de la couche IV, et principalement dans la couche II/III et sur les cellules pyramidales de la couche Vb avec lesquelles elles ont des connexions réciproques (Petreanu et coll., 2009 ; Bosman et coll., 2011 ; Fox, 2008). Les neurones de la couche Va qui reçoivent les informations sensorielles de la voie paralemniscale projettent fortement sur d'autres cellules pyramidales de la couche V (Lefort et coll., 2009) sur la couche II et sur les septa (Bureau et coll., 2006 ; Figure 27). La couche V est la seule couche recevant des entrées de l'ensemble de la colonne corticale. Près de la moitié des neurones pyramidaux de la couche VI projettent sur le thalamus et possèdent une arborisation axonale récurrente projetant sur les couches V, IV et III (Fox, 2008 ; Figure 27).

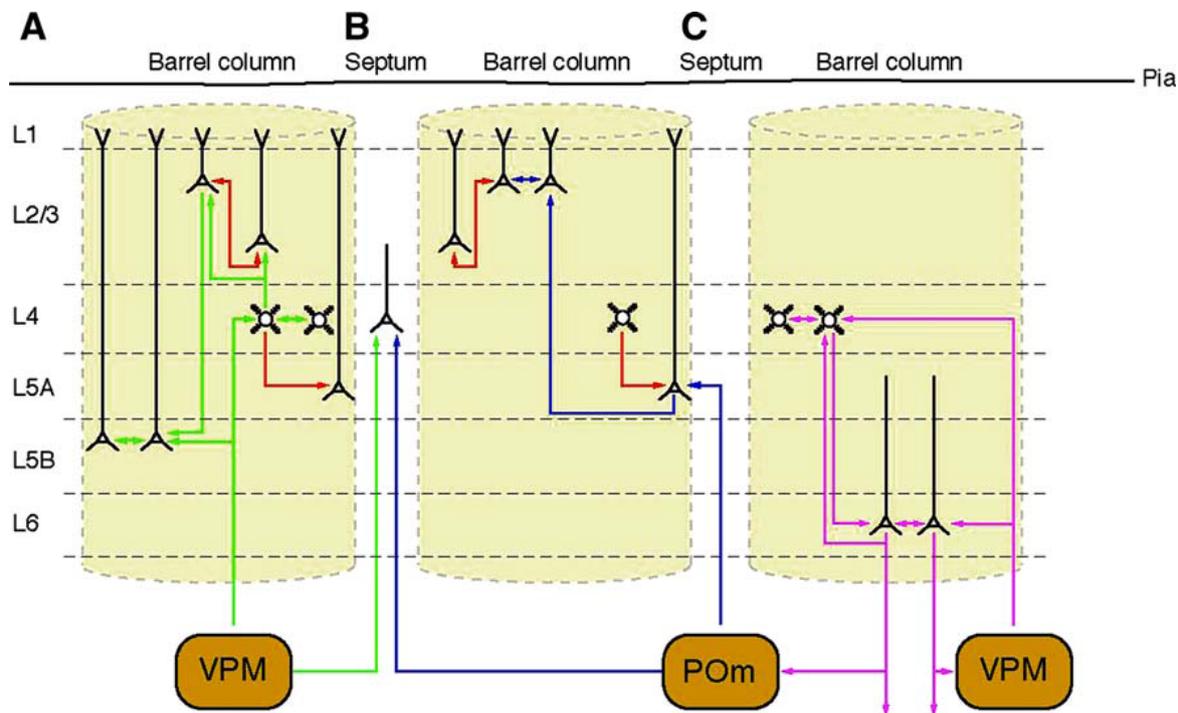


Figure 27 : Représentation schématique des différents circuits parallèles dans le cortex à tonneaux. A, Représentation de la voie lemniscale recevant les entrées thalamiques du VPM principalement sur la couche IV et Vb. **B,** Microcircuit impliqué dans le traitement des signaux provenant de la voie paralemniscale. La couche Va est la principale voie d'entrée des afférences du POm du thalamus. **C,** Connexions synaptiques impliquées dans le circuit *feedback* entre les neurones des couches IV, V et le VPM. Vert, circuit canonique associé à la voie lemniscale. Bleu, voie paralemniscale. Rouge, micro-circuits intra-corticaux impliqués dans les voies lemniscales et paralemniscales. Violet, boucle thalamo-cortico-cortico-thalamique. Chaque cylindre jaune schématise une colonne corticale associée à un baril de la couche IV. D'après Lübke et Feldmeyer, 2007.

Les entrées inhibitrices sur les neurones excitateurs proviennent de cellules appartenant aussi bien à la même couche qu'à d'autres couches corticales (Katzel, 2011). La couche I superficielle recevant des afférences de la voie paralemniscale est pauvre en corps cellulaires et contient principalement des neurones GABAergiques ainsi que de nombreux axones, et dendrites de neurones GABAergiques et glutamatergiques (Petersen et Crochet, 2013). Les connexions synaptiques des interneurons GABAergiques semblent restreintes à la colonne dans laquelle ils se trouvent. Ils sont impliqués, par des mécanismes d'inhibition *feedback* et *feedforward*, dans les principales voies excitatrices de la colonne corticale. Les projections des neurones du VPM sur de nombreux neurones inhibiteurs de la couche IV participent à l'inhibition *feedforward* de ces neurones inhibiteurs sur les neurones étoilés épineux excitateurs, recevant la même entrée thalamique. De plus, la forte connectivité entre ces deux types cellulaires dans la couche IV produit une inhibition *feedback* via des synapses réciproques. Les interneurons des couches II/III activés par les neurones de la couche IV, projettent à leur tour sur les cellules pyramidales locales ainsi que sur les cellules pyramidales de la couche V (Feldmeyer et coll., 2013).

Il existe donc une forte connectivité au sein d'une colonne corticale, dont les composantes excitatrices et inhibitrices contrôlent l'intégration sensorielle corticale (Higley et Contreras, 2003 ; Wilent et Contreras, 2004). L'intégration de chaque module colonnaire permet ainsi le traitement d'information de manière indépendante. Ce processus permis par la connectivité verticale est complémentaire d'une intégration inter-colonnaire horizontale au niveau de l'ensemble du cortex à tonneaux qui traite des informations plus globales impliquant l'ensemble des vibrisses (Figure 28). Cette connectivité horizontale est permise principalement par les cellules pyramidales des couches II/III et V. Les cellules pyramidales de la couche II/III possèdent une arborisation dendritique qui s'étend aux colonnes adjacentes, sur lesquelles elles projettent également au niveau des couches II/III. Cette connectivité inter-colonne est mise en évidence par l'activité synaptique spontanée, qui se propage à travers le cortex à tonneaux pendant les états hauts et bas (Petersen et coll., 2003 ; Lemieux et coll., 2015). De plus, la stimulation d'une vibrisse induit d'abord la dépolarisation des neurones d'une colonne, suivie d'une dépolarisation progressive des neurones des colonnes adjacentes (Petersen et coll., 2003 ; Ferezou et coll., 2006). Une étude récente a montré que l'activité intra-colonnaire des cellules pyramidales de la couche V sur les cellules des couches II/III pourrait jouer un rôle déterminant dans la propagation inter-colonnaire en amplifiant l'activité des neurones des couches II/III (Wester et Contreras, 2012).

De nombreuses afférences des voies neuromodulatrices noradrénergiques, serotoninergiques, dopaminergiques et cholinergiques provenant des noyaux du tronc cérébral et du prosencéphal basal innervent le cortex à tonneaux. Ces projections sont qualifiées de diffuses car elles ne sont pas organisées topographiquement, et leurs axones projettent largement sur plusieurs aires corticales (Fox, 2008).

La probabilité d'évoquer une réponse supra-liminaire lors d'une stimulation sensorielle est relativement faible (Brecht et Sakmann 2002*b* ; Brecht et coll., 2003 ; de Kock et coll., 2007 ; Crochet et coll., 2011). Cependant, l'intégration de l'information sensorielle et la probabilité de décharge dépendent de la couche corticale et du type cellulaire (de Kock et Sakmann, 2009 ; O'Connor et coll., 2010). Au sein d'un tonneau, les informations de plusieurs vibrisses convergent. Le champ récepteur sous-liminaire des cellules supra-granulaires et infra-granulaires est très étendu (Brecht et Sakmann, 2002*b*). Cette forte convergence s'explique par

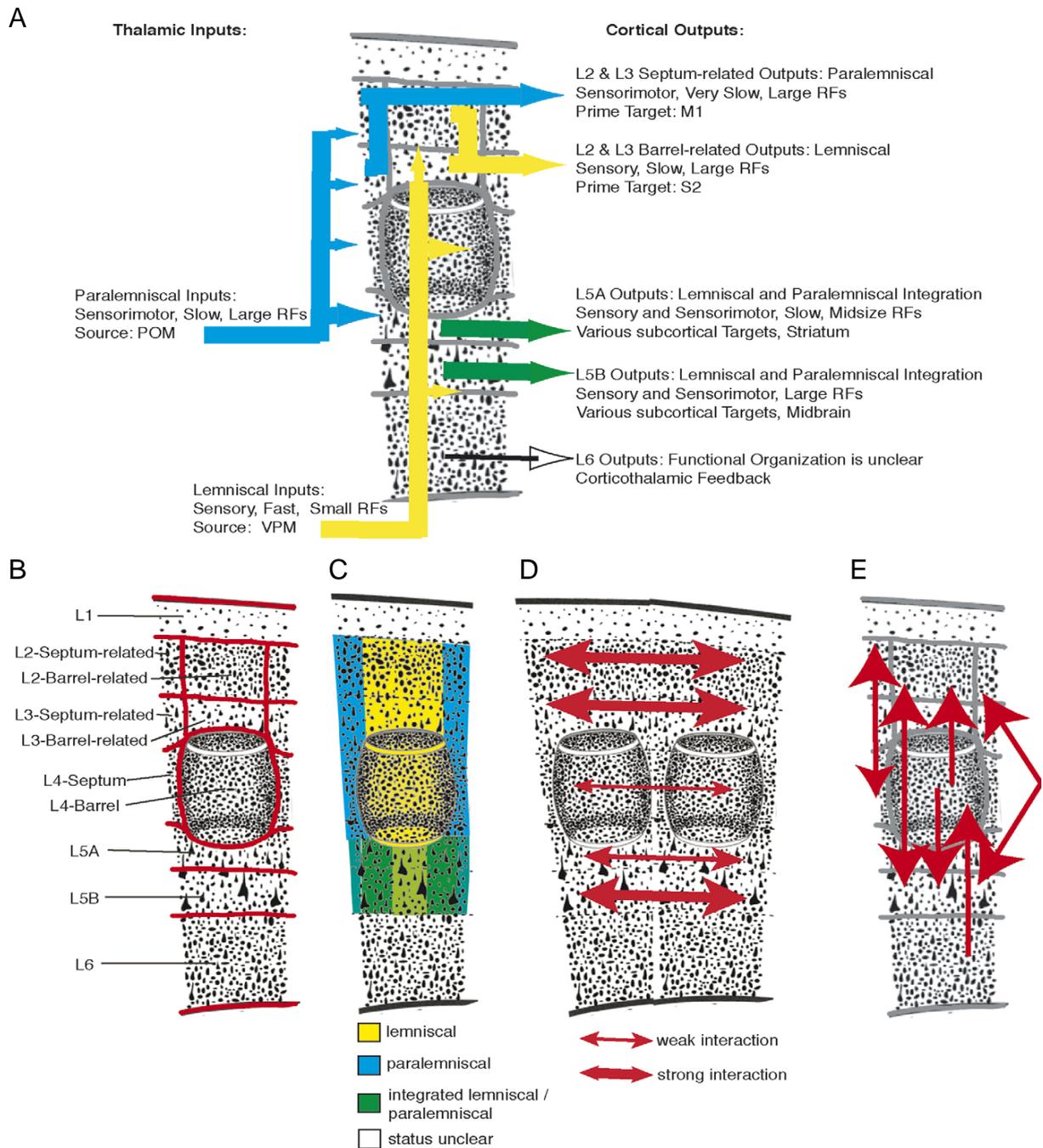


Figure 28 : Représentation schématique de la connectivité au sein de la colonne corticale. A, Afférences et efférences d'une colonne corticale. L'épaisseur des flèches caractérise la force relative des entrées thalamiques. **B,** Compartimentalisation de la colonne corticale. **C,** Représentation des voies lemniscale et paralemniscale. Noter la convergence des entrées corticales au niveau de la couche V. **D,** Représentation de la connectivité horizontale. **E,** Représentation de la connectivité verticale au sein d'une colonne corticale. D'après Brecht, 2007.

les projections thalamiques possédant des champs récepteurs vastes, ainsi que par la forte connectivité horizontale entre tonneaux voisins. En revanche, la probabilité de décharge des cellules excitatrices est restreinte à la déflexion de la vibrisse principale et de quelques vibrisses adjacentes (Manns et coll., 2004 ; de Kock et coll., 2007). Dans la couche IV, seulement 30 % des neurones génèrent un PA suite à la stimulation de la vibrisse principale uniquement, ce qui limite la capacité de la colonne corticale à intégrer des informations provenant de plusieurs vibrisses.

Lors de la stimulation d'une vibrisse, la réponse débute d'abord dans sa colonne puis se propage aux colonnes voisines (Petersen et coll., 2003). La latence de réponse la plus faible est dans les neurones de la couche IV et Vb, recevant les projections thalamiques (7 à 8 ms) (Wilent et Contreras, 2004). Le PPSE généré par une entrée thalamo-corticale est assez faible (inférieur à 1 mV) et nécessite donc une synchronisation des entrées thalamiques sur le cortex pour générer une réponse supra-liminaire (Bruno et Sakmann, 2006). L'excitation et l'inhibition sont fortement corrélées dans le cortex à tonneaux (Okun et Lampl, 2008). Cette corrélation temporelle entre l'excitation et l'inhibition s'applique aussi lors du traitement sensoriel. En effet, la connectivité de la voie inhibitrice suit celle de la voie excitatrice dans les premiers stades du traitement sensoriel cortical. L'inhibition *feedback* et *feedforward* sur les neurones de la couche IV contrebalance rapidement le PPSE initial (dans les 5 ms après le début de la réponse) et restreint l'excitation des neurones de la couche IV à une courte période (Higley et Contreras 2003 ; Wilent et Contreras 2004). Le potentiel d'inversion de la réponse synaptique atteint en général des valeurs plus hyperpolarisées que le potentiel de membrane seuil, de manière cohérente avec une contribution GABAergique prédominante dans le réseau cortical (Higley et Contreras, 2003 ; Sachdev et coll., 2004 ; Petersen et Crochet, 2013). La transmission de l'information se fait ensuite verticalement le long de la colonne sur la couche III, 2 ms après l'excitation des neurones de la couche IV. Puis les neurones des couches II, Va et VI sont excités 3.5 à 5 ms après l'excitation de la couche IV (Armstrong-James et coll., 1992). Les neurones des tonneaux adjacents sont activés 4.5 à 5 ms après l'activation des neurones de la couche IV (Fox, 2008).

Les neurones du cortex à tonneaux sont sensibles à l'amplitude et à la vitesse de la déflexion de la vibrisse (Wilent et Contreras, 2004) qu'ils codent de façon relativement linéaire. Les neurones excitateurs et inhibiteurs du cortex à tonneaux codent aussi la localisation spatiale des vibrisses au cours du temps (Crochet et Petersen, 2006 ; de Kock et

Sakmann, 2009 ; Gentet et coll., 2010) permettant de donner une information sur la position horizontale de l'objet en référence à la position de la vibrisse (Diamond et coll., 2008). Dans les couches II/III et IV, des régions codant la direction de la stimulation ont été mises en évidence (Simons et Carvell, 1989 ; Bruno et coll., 2003 ; Kremer et coll., 2011). Cette sélectivité repose sur la disposition spécifique des terminaisons sur le follicule. Les fibres sensorielles ayant des propriétés d'adaptation lente discriminent mieux la direction du stimulus. Ce codage directionnel est non linéaire, d'une part car la synchronie des entrées thalamiques est plus grande pour une direction optimale, et d'autre part car le délai de l'inhibition *feedback* corticale détermine la capacité du potentiel membranaire à atteindre le seuil de genèse de PA (Wilent et Contreras, 2005). Ainsi, pour une direction optimale, la latence et le temps de charge membranaire sont plus courts et permettent au neurone de générer un PA malgré l'inhibition, contrairement aux autres orientations du stimulus.

1-4.5 Le bruit synaptique dans le cortex à tonneaux

Dans le cortex à tonneaux, comme dans d'autres cortex sensoriels, la fréquence spontanée de décharge des neurones reste l'objet de débats. Plusieurs études enregistrant l'activité intracellulaire à l'aide du *patch-clamp in vivo* ont décrit dans les neurones corticaux une fréquence de décharge spontanée relativement faible, inférieure à 1 Hz (Brecht et Sakmann, 2002b ; Petersen et coll., 2003 ; Crochet et Petersen, 2006 ; Poulet et Petersen, 2008). D'autres expériences réalisées avec des électrodes intracellulaires (*sharp electrodes*) *in vivo* ou des électrodes extracellulaires observent à l'inverse des fréquences de décharge supérieures à 1 Hz (Armstrong-James et George, 1988 ; Higley et Contreras, 2003 ; Sachdev et coll., 2004 ; Hasenstaub et coll., 2007 ; Vijayan et coll., 2010).

Ces résultats contradictoires peuvent s'expliquer par la variabilité de décharge en fonction du type cellulaire et de la couche corticale enregistrée. Dans les couches supra-granulaires, les neurones GABAergiques sont globalement plus dépolarisés et ont une fréquence de décharge spontanée de 3 à 10 fois supérieure à celle des neurones glutamatergiques, laissant penser que la faible fréquence de décharge des neurones excitateurs est la conséquence d'entrées inhibitrices fortes et continues (Gentet et coll., 2010 ; Petersen et Crochet, 2013).

De plus, la fréquence de décharge spontanée varie en fonction de la couche corticale enregistrée (Brecht et coll., 2003 ; Lee et coll., 2007 ; de Kock et Sakmann, 2009). Les neurones des couches IV et V ont une fréquence de décharge élevée comparée à celle des

neurones excitateurs des couches granulaires et supra-granulaires (de Kock et Sakmann, 2009 ; O'Connor et coll., 2010 ; Petersen et Crochet, 2013). Cependant, une étude a enregistré une activité multi-unitaire bien plus importante dans la couche II/III que celle précédemment décrite (Lee et coll., 2007).

La fréquence de décharge spontanée des neurones est fortement influencée par l'état cortical dans lequel se trouve l'animal. Lors de l'état de veille, le patron d'activité des neurones corticaux varie aussi fortement en fonction de l'état d'attention. Dans un état de veille tranquille, la fréquence de décharge spontanée est limitée dans les neurones des couches II/III (Crochet et Petersen 2006; Figure 29). Les neurones sont caractérisés par des fluctuations de larges amplitudes de 10 à 20 mV, fluctuant à faibles fréquences et fortement corrélées entre neurones voisins (Crochet et Petersen, 2006 ; Gentet et coll., 2010 ; Okun et coll., 2010). A l'inverse, lors d'un comportement de *whisking*, les fluctuations lentes sont remplacées par des fluctuations plus rapides de faibles amplitudes, moins corrélées et associées à un potentiel membranaire plus dépolarisé (Poulet et Petersen, 2008 ; Crochet et coll., 2011). La fréquence de décharge spontanée des neurones, associée à ces changements de dynamiques membranaires semble cependant globalement inchangée, à l'exception des cellules pyramidales de la couche Va, dont la fréquence de décharge est amplifiée (Crochet et Petersen, 2006 ; de Kock et Sakmann, 2009).

Une étude enregistrant l'activité multi-unitaire des neurones de types RS et FS a montré que la fréquence de décharge élevée des neurones chez le rat éveillé ou endormi devenait inférieure à 1 Hz sous anesthésie à l'isoflurane (Vijayan et coll., 2010). D'autres études rapportent aussi une diminution de la fréquence de décharge dans les neurones de la couche IV, chez l'animal anesthésié à l'uréthane en comparaison avec l'état éveillé (Simons et coll., 1992). Cependant, une activité comparable proche de 1 Hz chez l'animal éveillé ou anesthésié à l'uréthane a été rapportée (de Kock et Sakmann, 2009). En outre, la profondeur de l'anesthésie diminue la fréquence de décharge des neurones corticaux (Armstrong-James et George, 1988 ; Taub et coll., 2013).

Les changements de dynamiques membranaires spontanées, observés dans différents états corticaux, peuvent s'expliquer par des modifications dans la balance des entrées excitatrices et inhibitrices reçues par le neurone. Une étude récente réalisée sous différentes conditions d'anesthésie a montré que la fréquence des entrées synaptiques affectait cette balance (Taub et coll., 2013). En effet, les événements inhibiteurs augmentent en amplitude et

en largeur lorsque leur fréquence d'apparition est faible, contrairement aux événements excitateurs qui ne sont pas affectés.

Par ailleurs, les entrées thalamiques sont fortement impliquées dans les changements d'états corticaux liés au *whisking* chez l'animal éveillé (Poulet et Petersen, 2008 ; Poulet et coll., 2012). La suppression des entrées synaptiques provenant des fibres sensorielles primaires n'affecte pas les changements de dynamiques membranaires observées pendant le *whisking* (Poulet et Petersen, 2008). En revanche, l'inactivation du thalamus supprimait cet état désynchronisé suggérant un rôle essentiel de cette structure dans le contrôle des états corticaux (Poulet et coll., 2012).

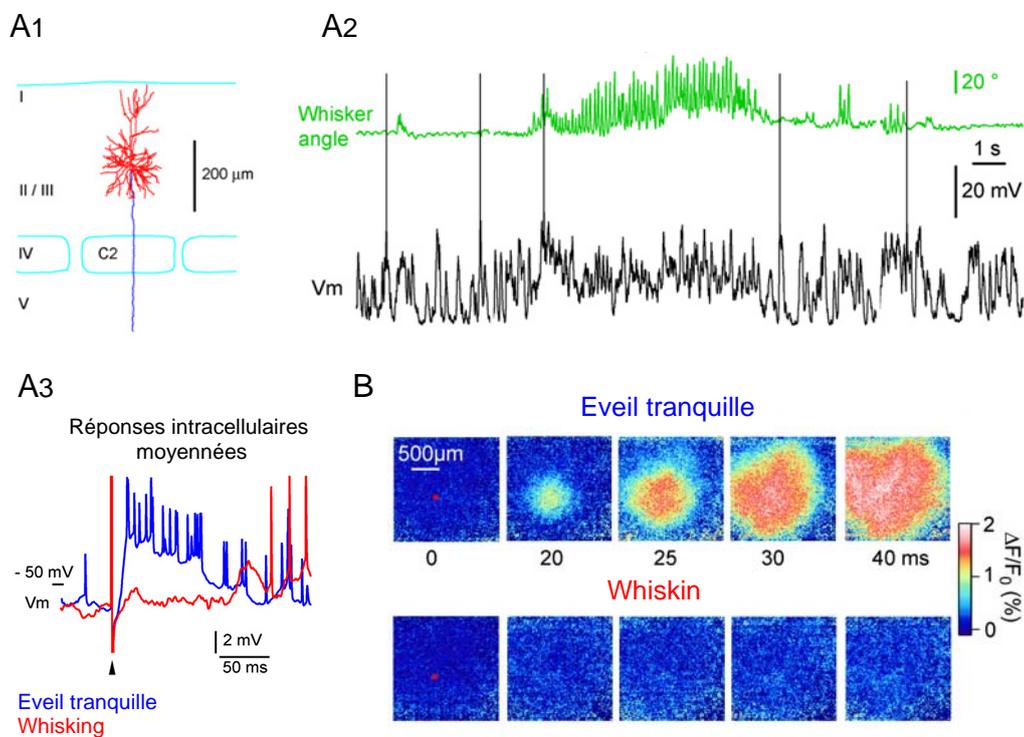


Figure 29 : Traitement de l'information sensorielle des vibrisses en fonction de l'état cortical. **A**, Enregistrements intracellulaires en configuration « cellule-entière » d'une souris dans un état d'éveil avec les vibrisses immobiles (éveil tranquille) ou en *whisking*. A1, Neurone pyramidal de la couche II/III situé dans la colonne corticale C2. A2, Changement des dynamiques de potentiel membranaire de la cellule A1, en fonction de l'état cortical. Noter l'apparition de fluctuations de faible amplitude à hautes fréquences lors du *whisking* ainsi que la dépolarisation membranaire associée. A3, Réponses intracellulaires moyennées dans les deux états corticaux suite à la stimulation de la vibrisse C2. Noter la forte diminution de la réponse sensorielle lors des périodes de *whisking*. **B**, Représentation de la réponse et de sa propagation dans le cortex à tonneaux par la technique du Voltage Sensitive Dye (VSD). Lors de l'éveil tranquille, la réponse sensorielle est de plus grande amplitude et se propage largement aux autres aires corticales en comparaison à la réponse effectuée lors d'un comportement de *whisking*. A, d'après Crochet et Petersen, 2006. B, D'après Ferezou et coll., 2006.

Le patron d'activité spontanée dans le cortex à tonneaux, modulé par les différents états de veille et d'attention, influence l'intégration sensorielle dans le réseau cortical (Simons et coll., 1992 ; Petersen et coll., 2003 ; Sachdev et coll., 2004 ; Crochet et coll., 2011). La réponse sensorielle, ample lors de l'éveil tranquille, contraste avec la réponse faible sous-liminaire et supra-liminaire observée lors d'un comportement de *whisking* (Crochet et Petersen 2006 ; Figure 29). De la même façon, lors des états hauts induit par l'anesthésie, l'amplitude de la réponse sensorielle, ainsi que la fréquence de décharge évoquée par la stimulation des vibrisses, est fortement diminuée en comparaison aux réponses évoquées lors des états bas (Petersen et coll., 2003 ; Sachdev et coll., 2004). Cette diminution de réponse sensorielle peut s'expliquer par le potentiel membranaire plus dépolarisé des neurones dans cet état, induisant une force électromotrice plus faible et en conséquence un PPSE plus petit. De plus, la diminution de résistance membranaire mesurée lors des états hauts a pour conséquence de diminuer l'amplitude de la réponse intracellulaire (Sachdev et coll., 2004).

La dépression à court terme des synapses thalamo-corticales, provoquée par la forte fréquence de décharge spontanée des neurones thalamiques, peut aussi être responsable de la faible réponse corticale lors du *whisking* (Petersen et coll., 2003). Lors de l'éveil tranquille, la réponse neuronale est distribuée dans tout le cortex à tonneaux, contrairement à la réponse neuronale bien plus restreinte spatialement lors d'un comportement de *whisking* (Crochet et Petersen 2006 ; Ferezou et coll., 2007 ; Figure 29). Le réseau cortical mis en jeu est donc fortement modulé par le comportement de *whisking* (Ferezou et coll., 2006). Cette modulation de la propagation de l'information sensorielle thalamo-corticale et intracorticale en fonction de l'état cérébral se traduit par une modification de la sensibilité du neurone et donc de l'étendue de son champ récepteur. Sous anesthésie à l'uréthane par exemple, il a été montré que les champs récepteurs neuronaux étaient plus larges et de latences plus longues que chez l'animal éveillé (Simons et coll., 1992). A l'inverse la propagation de l'information sensorielle était plus restreinte lors de l'anesthésie à l'isoflurane (Ferezou et coll., 2006).

1-4.6 Les sorties du cortex à tonneaux

Le cortex à tonneaux communique sans cesse avec d'autres structures corticales et sous-corticales afin de traiter l'information sensorielle de manière pertinente en prenant en compte les informations motrices, les informations issues d'autres modalités sensorielles, ainsi que les informations tirées d'expériences précédentes. On peut distinguer les sorties du cortex à tonneaux intra-corticales et celles projetant sur des noyaux sous-corticaux.

Les projections efférentes vers d'autres structures corticales, ciblent principalement le cortex somatosensoriel secondaire, le cortex moteur, les cortex controlatéraux somatosensoriel et moteur. Les projections sur le cortex somatosensoriel secondaire proviennent principalement de la couche II/III et de la couche V et projettent sur les couches III, VI et V (Fox 2008). Ces projections sont plutôt éparses et réciproques suggérant un flux bidirectionnel d'information entre ces régions (Zhang et Deschênes, 1997 ; Petreanu et coll., 2007). Lors de la stimulation d'une vibrisse, la dépolarisation visualisable par la technique du Voltage Sensitive Dye (VSD), se propage avec un certain délai du cortex à tonneaux jusqu'au cortex moteur primaire, mettant en évidence les connexions cortico-corticales (Ferezou et coll., 2007). De plus, ce type de marquage révèle une activation du cortex moteur par des projections à longues distances plutôt que par des projections progressives à courte échelle entre colonnes adjacentes.

Les projections sous-corticales vers le thalamus, le striatum ou le tronc cérébral proviennent en majorité des cellules pyramidales des couches Vb et VI et sont impliquées dans le rétrocontrôle cortical de l'intégration sensorielle. Une boucle thalamo-cortico-thalamique est induite par la projection des neurones des couches IV, V et VIa interconnectées sur le thalamus. (Fox, 2008). Ce système de *feedback* permet un contrôle des entrées corticales. Parallèlement, les neurones de la couche V envoient des collatérales sur le POM qui connectent différentes aires corticales dont le cortex moteur et le cortex somatosensoriel secondaire (Feldmeyer et coll., 2013). De fortes projections corticofugales sur le noyau trigéminal créent une boucle fermée entre les informations afférentes et leurs intégrations corticales. Les cellules pyramidales de la couche V projettent aussi sur de nombreux noyaux sous-corticaux comme les noyaux du tronc cérébral, les ganglions de la base, le cervelet et d'autres structures plus ou moins impliquées dans différents comportements moteurs. En modulant l'intégration de l'information sensorielle dans le cortex

à tonneaux, l'activité synaptique spontanée affecte donc la perception sensorielle globale et la réaction comportementale qui en résulte.

1-5 BUTS SPECIFIQUES DE LA THESE ET NOUVELLE STRATEGIE

EXPERIMENTALE

Le but initial de mes recherches doctorales était de déterminer *in vivo* chez le rat comment divers bruits synaptiques (représentant les différents profils d'activité basale, présents au cours des principaux états de vigilance) dans une aire corticale sensorielle primaire, ici le cortex somatosensoriel de la face (cortex à tonneaux), affectent les différentes dimensions des processus d'intégration et de traitement d'information dans les neurones et les circuits corticaux. Au cours de mes recherches, je me suis concentré sur quatre aspects fondamentaux accessibles simultanément par des enregistrements intracellulaires (en mode courant-imposé), combinés à des enregistrements électro-corticographiques (ECoG) de surface :

- i) **Les propriétés électriques membranaires dites « passives »** (*i.e.* celles mises en jeu à des potentiels membranaires sous-liminaire pour la décharge de PA) : elles comprennent les valeurs moyennes du potentiel transmembranaire et ses fluctuations d'amplitude et de fréquence (il s'agit des paramètres structuraux du bruit synaptique neuronal), la résistance et la constante de temps membranaires (propriétés intrinsèques contrôlant les réponses « ohmiques » du neurone et sa capacité à sommer des événements synaptiques au cours du temps), et les relations « entrée-sortie » (relation entre courant injecté et variation du potentiel membranaire) dans le sens hyperpolarisant, permettant d'identifier de possibles rectifications membranaires modulant la conductance de la membrane en fonction de son niveau de polarisation électrique.
- ii) **La fonction de transfert neuronale** : il s'agit ici d'une propriété dynamique cruciale des neurones, décrivant la relation existant entre des stimuli excitateurs, d'intensité croissante, et la sortie fonctionnelle des neurones, *i.e.* leur taux de décharge de potentiels d'action. La représentation graphique de cette fonction (voir section 1-3.3 de l'Introduction) permet d'extraire deux paramètres essentiels de la fonction de transfert des neurones : l'intensité minimale d'un stimulus excitateur efficace pour la décharge d'un seul PA et le « gain neuronal », c'est-à-dire la

variation relative du taux de décharge lors d'un accroissement progressif de l'intensité du stimulus.

- iii) **La « fiabilité » neuronale** : j'ai quantifié comment différentes structures de bruit synaptique influencent les réponses statistiques des neurones corticaux lors de l'application itérative d'un même stimulus (même durée, même intensité et même fréquence de récurrence). J'ai exploré deux aspects de cette « fiabilité » : 1) la régularité du taux de décharge d'un essai à l'autre, représentant la capacité du neurone à reproduire la même réponse globale pour un stimulus fixe répété et, 2) la régularité du patron temporel de décharge, quantifiée par les intervalles inter-PAs lors d'une série de stimuli identiques. Dans ce dernier cas, il s'agit de la capacité à maintenir la structure codante (en terme temporel) de la réponse neuronale quand le neurone est soumis plusieurs fois à la même stimulation.

- iv) **Le traitement des informations sensorielles** : cet aspect des processus d'intégration neuronale a pu être exploré à plusieurs échelles spatiales grâce aux enregistrements conjoints des activités intracellulaires et des potentiels ECoG correspondants, ces derniers étant un reflet des activités synchrones au sein du réseau synaptique du cortex somatosensoriel primaire. Ici aussi, en appliquant des stimuli (déflexions des vibrisses controlatérales) identiques dans les différentes conditions de bruit synaptique, j'ai pu déterminer comment celui-ci contrôle (plus ou moins spécifiquement) l'intensité de la réponse (amplitude des potentiels intracellulaires et ECoG) et sa régularité d'un essai à l'autre. La possibilité de réaliser des enregistrements multi-échelles a permis de comprendre les mécanismes cellulaires (membranaires et synaptiques) responsables des modulations identifiables au niveau de l'aire corticale, c'est-à-dire au niveau de la signature électrophysiologique à grande échelle possédant une pertinence fonctionnelle.

Nous avons vu dans l'Introduction que tous ces différents aspects du rôle fonctionnel du bruit synaptique cortical ont déjà été explorés mais, à ma connaissance, jamais au cours des mêmes expériences et sur les mêmes neurones et circuits corticaux. Les résultats obtenus ont pu être contradictoires, par exemple en ce qui concerne l'impact de l'intensité du bruit

synaptique sur les propriétés intégratives neuronales (voir section 1-3 de l'Introduction). Ces contradictions peuvent provenir de la diversité des neurones et régions corticales explorées (cortex somatosensoriel, cortex visuel, différentes couches corticales, différents types de cellules pyramidales...), des différentes « préparations » (*in vitro* versus *in vivo* versus *in silico*) ou des différents modes d'induction du bruit (*dynamic-clamp*, pharmacologique, bruit « naturel »...). J'ai donc mis au point une préparation *in vivo* – la condition expérimentale la plus proche de la situation physiologique – permettant de générer différents patrons de bruit synaptique mimant les principaux états de vigilance. Cette préparation me permettait en outre d'étudier dans les mêmes neurones, et dans le même réseau cortical, les différentes conséquences fonctionnelles du bruit synaptique décrites ci-dessus. J'ai choisi le cortex somatosensoriel primaire du rat en relation avec le système des vibrisses pour différentes raisons : l'organisation de son réseau interne et extrinsèque est bien connue, son rôle fonctionnel bien caractérisé et il est aisé de mettre en jeu par des déflexions des vibrisses controlatérales un signal sensoriel contrôlé et reproductible.

L'aspect le plus original de mon travail a été de développer une nouvelle stratégie conceptuelle. **Afin de déterminer l'impact d'un processus neurophysiologique, ici le flux continu d'activité synaptique endogène circulant dans le cortex cérébral, j'ai choisi d'évaluer l'effet de sa présence sur les propriétés d'intérêt (les points i à iv mentionnés ci-dessus) et de tester les mêmes propriétés dans les mêmes neurones en absence du processus.** Ainsi, ma stratégie a été la suivante : des procédures pharmacologiques distinctes ont été utilisées pour générer un bruit synaptique de type éveil ou sommeil afin de réaliser un enregistrement simultané de l'activité intracellulaire et de réseau (ECoG de surface) et d'évaluer les différentes propriétés des réponses neuronales (intrinsèques et induites par les stimulations sensorielles). Puis, conservant les mêmes enregistrements, j'ai réévalué les mêmes propriétés neurophysiologiques après suppression totale du bruit synaptique cérébral. J'ai dû par conséquent mettre au point une procédure pharmacologique conduisant à un arrêt des activités cérébrales endogènes tout en conservant des constantes physiologiques normales chez les animaux. Les propriétés fonctionnelles des neurones et des réseaux du cortex somatosensoriel ont donc été évaluées en présence d'un bruit cérébral continu (état « actif ») dont la structure était contrôlée (type éveil ou type sommeil) puis lors d'un état isoélectrique. J'ai ainsi comparé les situations « actives » versus « isoélectriques » et inféré des différences observées le rôle spécifique du bruit synaptique contrôlé. Cette partie de mes recherches, constituant la thématique centrale de ma thèse, a donné lieu à deux publications. L'une

(Article 1), détaillant les procédures expérimentales permettant l'installation d'un état isoélectrique durable chez l'animal vivant et l'autre (Article 2) présentant les résultats concernant le rôle fonctionnel des différents bruits synaptiques, comparativement à l'état isoélectrique, sur l'excitabilité et la fonction de transfert des neurones pyramidaux somatosensoriels.

La mise en évidence d'une persistance des propriétés d'excitabilité des neurones corticaux lors d'un état isoélectrique a provoqué un tournant inattendu dans mes recherches doctorales. Nous avons réalisé qu'un état cérébral de type isoélectrique, caractéristique des comas les plus profonds (dus à des overdoses de drogues, une hypothermie, un arrêt cardiaque et même la mort encéphalique), n'impliquait pas que les propriétés fonctionnelles des neurones corticaux étaient abolies. Les discussions avec nos collègues neurologues du laboratoire et ceux du service de réanimation neurologique nous ont conduits à explorer l'état fonctionnel du cortex cérébral chez des patients plongés dans un état isoélectrique pharmacologique dans le but de protéger le cerveau des effets délétères de décharges épileptiques continues. **Nous avons donc entrepris une étude translationnelle visant à étudier conjointement chez l'homme et l'animal les capacités des réseaux et des neurones corticaux à intégrer et traiter les informations sensorielles lors d'un arrêt total des activités électrophysiologiques endogènes.** L'intérêt de l'aspect translationnel était double : il nous a permis d'explorer dans deux espèces les fonctions corticales résiduelles lors d'un état isoélectrique et, grâce aux données intracellulaires obtenues dans le modèle animal, d'en préciser les mécanismes cellulaires (membranaires intrinsèques et synaptiques). Cette recherche réalisée en collaboration avec le service de réanimation neurologique a donné lieu à un article actuellement en cours de finalisation (Article 3). En plus d'avoir démontré la persistance de réponses sensorielles synaptiques dans les réseaux et les neurones corticaux chez les patients et les rats dans un état isoélectrique, nous avons pu aussi observer des réponses dans l'EEG de surface (isoélectrique) chez une patiente en état de mort encéphalique dont l'origine reste à déterminer.

2 MATERIEL ET METHODES

2-1 PREPARATION DES ANIMAUX ET CHIRURGIE

Toutes les expériences effectuées chez l'animal au cours de ma thèse ont été réalisées en accord avec les directives européennes relatives à l'expérimentation animale (Directive 2010/63/EU) et approuvées par le comité éthique *Charles Darwin* sur l'expérimentation animale.

Les procédures d'induction et de maintien de l'anesthésie, de chirurgie, de contrôle des paramètres physiologiques, ainsi que de suppression de l'activité électrique spontanée (obtention de l'état isoélectrique) sont décrites en détails dans une étude de méthodologie expérimentale [« *Induction of an isoelectric brain state to investigate the impact of endogenous synaptic activity on neuronal excitability in vivo* » acceptée pour publication en juillet 2015 au *Journal of Visualized Experiment* (Article 1).]

2-2 METHODES D'ENREGISTREMENTS ET DE STIMULATIONS CHEZ L'ANIMAL

2-2.1 Enregistrements ECoG

Les enregistrements ECoG ont été réalisés selon une configuration monopolaire, à l'aide d'une électrode d'argent de faible dimension (< 1mm de diamètre) et de basse impédance (environ 60 kΩ), déposée délicatement sur la dure-mère (Mahon et Charpier, 2012). L'électrode de référence était placée au niveau d'un muscle temporal controlatéral. Les enregistrements de surface ont été effectués en regard de l'aire corticale somatosensorielle primaire de la face, dans la région du cortex à tonneaux, aux coordonnées stéréotaxiques suivantes : 7 à 8 mm antérieur à l'axe inter-aural et 4.5 à 5.5 mm latéral par rapport à la ligne médiane (Paxinos et Watson, 1986).

Le signal était ensuite amplifié à l'aide d'un amplificateur différentiel opérant en mode AC (Model 1700, A-M Systems, Sequim, WA, USA), filtré entre 1 Hz et 1 kHz et digitalisé entre 1 à 3 kHz à l'aide d'une interface de digitalisation (CED 1401 plus, Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK).

2-2.2 Enregistrements intracellulaires

Les enregistrements intracellulaires des cellules pyramidales des couches infra-granulaires du cortex à tonneaux ont été réalisés à l'aide de microélectrodes, constituées d'un fil d'argent chloruré placé dans une micropipette de verre, remplie d'une solution d'acétate de potassium (KAc) hautement concentrée (2 M). La résistance de la microélectrode (mesurée initialement dans le milieu extracellulaire cérébral) était comprise entre 50 et 80 MΩ. Les enregistrements ont été réalisés en mode « courant-imposé », amplifiés à l'aide d'un AxoClamp 2B fonctionnant en mode « bridge » (Molecular Devices, Union City, CA, USA), filtré à 3 kHz et digitalisé entre 15 et 20 kHz. L'électrode intracellulaire était positionnée à proximité (< 0.5 mm) de l'électrode d'ECoG de surface et insérée progressivement (par pas de 1 μm) dans le cortex cérébral.

Pour chaque enregistrement, le « potentiel de pointe » de l'électrode était ajusté à zéro millivolt avant l'empalement des neurones afin d'obtenir la « vraie » valeur du potentiel transmembranaire des neurones. Une correction *a posteriori* était éventuellement effectuée

dans le cas où le potentiel de pointe, enregistré dans le milieu extracellulaire immédiatement après la fin de l'enregistrement intracellulaire, n'était pas nul.

2-2.3 Injection des neurones et coloration immunohistochimique

Afin d'identifier morphologiquement et de localiser les neurones enregistrés, un colorant neuronal (la neurobiotine, 1 %, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) a été ajouté à la solution de KAc dans la microélectrode (Pidoux et coll., 2011). L'injection était réalisée grâce à l'application d'un courant dépolarisant (200ms), générant une fréquence de décharge d'au moins 25 Hz, répétée à la fréquence d'1 à 2 Hz pendant 15 min, afin d'assurer un marquage le plus complet possible du corps cellulaire et de ses prolongements. Les rats étaient sacrifiés, perfusés en intracardiaque par une solution saline (Ringer, 500ml), et fixés dans une solution de paraformaldéhyde (PFA ; 500 ml à 4 %, dans un tampon phosphate de sodium (PBS) à 0.1 M, pH 7.4). Le cerveau était ensuite placé dans une solution de PFA, à 4 % pendant 2h, puis transvasé dans une solution de sucrose 30 % pendant 3 jours.

Des coupes transversales de 50 μ m d'épaisseur étaient réalisées au microtome à congélation. Après 3 lavages au PBS (0.1M, pH 7.4), les coupes étaient ensuite incubées pendant 12 heures dans le complexe avidine-biotine-peroxydase (1 %, ABC Kit Standard, Vector Laboratories) en présence de Triton X-100 à 0.5 %. Trois rinçages de 10 minutes dans un tampon phosphate (PB) étaient effectués puis les coupes étaient révélées par réaction de la peroxydase avec la diaminobenzidine (1 %) en présence de chlorure de cobalt (1 %) de sulfate d'ammonium nickel (1 %) et de H₂O₂ (0.01 %). Enfin, les coupes étaient montées sur lames gélatinées, contre-colorées à la safranine et déshydratées à l'alcool puis au xylène. La morphologie des neurones était examinée et éventuellement reconstruite en trois dimensions grâce au logiciel Neuromantic. La profondeur ainsi que la position stéréotaxique (aires et couches corticales) des cellules marquées ont été confirmées à l'aide de l'atlas de Paxinos et Watson (1986) (voir Article 3, Figure 4A).

2-2.4 Quantification de l'excitabilité membranaire

Une distribution des valeurs du potentiel membranaire (V_m) neuronal était réalisée sur une durée minimale de 10 secondes d'enregistrement stable et représentatif de l'activité spontanée. Ses fluctuations (écart type) et sa valeur moyenne étaient ensuite extraites. La résistance membranaire apparente du neurone (R_m) était calculée à partir de la différence de potentiel moyenne induite par une succession d'injections de courants hyperpolarisants de

faible intensité (-0.4 nA, 100 à 200 ms de durée, toutes les 0.55 à 2.25 s) (voir Article 2, Figure 3A ; Waters et Helmchen, 2006). Des relations courant-voltage (courbe $I-V$) étaient effectuées suites à l'injection de courants hyperpolarisants de différentes intensités (-0.2 à -0.8 nA). La résistance membranaire était alors calculée en mesurant la pente d'une régression linéaire appliquée à la relation $I-V$ (voir Article 2, Figure 4A). L'éventuelle présence d'une rectification membranaire (entrante) était évaluée en mesurant le rapport des valeurs de R_m mesurées en réponse à un courant de -0.2 nA et de -0.8 nA.

La constante de temps membranaire (τ_m) était extraite de la régression exponentielle appliquée sur la phase initiale de l'hyperpolarisation, induite par l'injection d'un courant hyperpolarisant de -0.4 nA. Dans certains cas, une mesure simplifiée de τ_m était réalisée en évaluant le temps nécessaire au potentiel de membrane pour atteindre 63 % de sa valeur stationnaire.

Le seuil de déclenchement du PA était défini par le niveau de potentiel à partir duquel la pente de la dépolarisation était supérieure à $10 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ (Fricker et coll., 1999 ; Mahon et coll., 2003). L'amplitude des potentiels d'action était déterminée à partir d'une trace moyennée de 10 événements, comme la différence de voltage entre le seuil de déclenchement et le potentiel maximal atteint. La durée totale des potentiels d'action était définie comme la durée entre seuil de déclenchement et le retour au même potentiel.

2-2.5 Evaluation de la fonction de transfert neuronale : Relation F-I

La fonction de transfert neuronale était définie par la relation entre l'intensité des courants dépolarisants injectés dans les neurones et les fréquences de décharge moyennes correspondantes (relation $F-I$; Silver, 2010 ; Mahon et Charpier, 2012). La fréquence de décharge était mesurée pour des injections de courant de 200 ms, d'intensités croissantes (de 0.1 à 2 nA, toutes les 1.25 à 2.25 ms) et répétées de 20 et 25 fois pour chaque intensité (voir Article 2, Figure 5). Le courant seuil (I_{th}) théorique (permettant de générer un seul PA) était extrapolé à partir de l'intersection entre la régression linéaire de la courbe $F-I$ avec l'axe des intensités de courant (soit $F = 0$) (Mahon et Charpier, 2012). Le « gain neuronal » (γ) était quant à lui calculé en mesurant la pente de la régression linéaire, représentant donc la rapidité avec laquelle le taux de décharge augmente par unité de courant excitateur (Hz/nA) (McCormick et coll., 2003 ; Fernandez et White, 2010 ; Silver, 2010).

2-2.6 Propriétés temporelles des réponses et « fiabilité » neuronale

J'ai quantifié deux types de variabilité dans les réponses neuronales quand les neurones étaient soumis à un tonus synaptique intense ou totalement dépourvus d'activité spontanée. Il s'agissait d'injecter, de manière répétée, des échelons de courant dépolarisant et de mesurer, pour une série de stimulations donnée, la variabilité du taux et du patron temporelle de décharge. Afin d'éviter tout biais statistique, j'ai utilisé dans chaque condition des intensités de stimulation générant en moyenne un taux de décharge à peu près similaire (~40 Hz) (voir Article 2, Figure 7).

La variabilité temporelle de décharge d'un essai à l'autre a été évaluée en mesurant le coefficient de variation (CV2) des intervalles inter-potential d'action (ou « ISI » pour interspike intervals en anglais) successifs.

$$CV2 = \frac{(2|\Delta t_{i+1} - \Delta t_i|)}{(\Delta t_{i+1} + \Delta t_i)}$$

Avec t_i représentant le temps de survenu du PA, et Δt_i , l'intervalle entre deux potentiels d'action. Le CV2 moyen associé à une série d'injection de courant dépolarisant d'une même intensité ($n \geq 20$ stimulations) était calculé et comparé entre les différentes conditions d'activité spontanée (Sharott et coll., 2012). A la différence du CV, qui mesure la dispersion de l'ensemble des ISI par rapport à l'ISI moyen, le CV2 compare la différence relative de deux ISI adjacents. Le CV2 moyen est donc moins sensible à des variations de fréquence de décharge qui surviennent régulièrement sur des échelles de temps plus longue que l'ISI moyen (Holt et coll., 1996).

La variabilité du nombre de potentiels d'action évoqués (taux de décharge) par des injections de courant, d'un essai à l'autre, était quant à elle mesurée par le Fano Factor (FF), lequel quantifie le rapport entre la variance du nombre de potentiels d'actions évoqués et le nombre moyen de potentiels d'action générés par une série de stimulations d'intensité constante (Faisal et coll., 2008). Ici aussi, la mesure du FF était comparée entre les différentes conditions d'activité synaptique spontanée, pour des séries de stimulations induisant la même fréquence de décharge moyenne.

Les analyses statistiques étaient réalisées à l'aide du logiciel SigmaStat 3.5.

2-2.7 Stimulations sensorielles chez le rat et analyse des réponses évoquées

Les stimulations sensorielles consistaient à appliquer un flux d'air (ou « puff ») de 50 ms, à pression fixe, sur les vibrisses controlatérales au site d'enregistrement. Ce puff d'air était généré par un Picospritzer III (Intracel Ltd, Royston, Herts, UK) *via* une pipette en verre d'1 mm de diamètre, placée à environ 5 cm de la matrice mystaciale (Pidoux et coll., 2011 ; Mahon et Charpier, 2012 ; Chipaux et coll., 2013). La stimulation était répétée 20 à 150 fois à faible fréquence (toutes les 2.25 s). La distance et l'orientation de la pipette en verre dirigeant le flux d'air, ainsi que l'intensité de la stimulation choisie (de 10 à 40 p.s.i.), étaient ajustées au début de l'expérience de façon à générer le potentiel évoqué (PE) d'amplitude maximale sur l'enregistrement ECoG. Généralement, le puff d'air induisait le mouvement coordonné (rétraction passive) de 4-5 vibrisses (Pidoux et coll., 2011).

La latence du PE cortical était définie comme l'intervalle de temps entre le début de la stimulation sensorielle (puff d'air) et le pic de la première composante corticale. L'amplitude de cette réponse correspondait à la différence de potentiel entre ces deux instants (voir Article 3, Figure 3B). La variabilité d'amplitude des réponses évoquées, d'un essai à l'autre, était définie par la valeur de l'écart type (par rapport à l'amplitude moyenne). J'ai évalué le niveau d'activité synaptique globale, généré dans le cortex somatosensoriel, par la stimulation des vibrisses en calculant l'aire sous le PE de surface. Celle-ci était définie comme la surface entre le potentiel au pied de la première composante PE et le retour au même potentiel dans l'ECoG.

Dans les neurones pyramidaux, le PE (simultanément enregistré) était corrélé à un potentiel post-synaptique dépolarisant (PPSd), pouvant générer un PA (Manns et coll., 2004 ; Wilent et Contreras, 2004). Sa latence, ainsi que celle du PA était mesurée entre le début de la stimulation et le pic de la réponse. L'amplitude du PPSd après moyennage était mesurée comme la différence de voltage entre le pied et le pic de la réponse. Le rapport entre l'amplitude du PPSd et la durée de sa dépolarisation du pied au pic donnait la pente de la dépolarisation synaptique évoquée. La variabilité de latence du PA évoqué correspondait à l'écart type par rapport à la latence moyenne des PA, lors de stimulations itératives. De la même façon, la variabilité de l'amplitude du PPSd était définie par l'écart type des réponses individuelles (voir Article 3, Figure 7).

Dans certains neurones, les différentes composantes synaptiques du PPSd étaient identifiées sur la base de leur dépendance au voltage, le potentiel d'inversion de chaque

composante permettant de préciser les ions diffusibles et donc d'extrapoler le type de récepteurs canaux mis en jeu. Les mesures étaient réalisées à plusieurs niveaux de potentiel membranaire induits par l'injection de courant *DC* (voir Article 3, Figure 5 ; Wilent et Contreras, 2004), à trois instants différents (pic de la réponse à *V_m* dépolarisé, pic de la réponse à *V_m* hyperpolarisé et lors de l'hyperpolarisation tardive). Pour chaque latence, une régression linéaire entre l'amplitude de la réponse et le potentiel préalable était réalisée et le potentiel d'inversion identifié par l'intersection de la régression linéaire avec l'axe des courants.

2-3 ENREGISTREMENTS ET STIMULATIONS SENSORIELLES CHEZ L'HOMME

Les patients enregistrés et stimulés au cours de nos études étaient principalement ceux du service de réanimation neurologique localisé dans le bâtiment Paul Castaigne de l'hôpital Pitié-Salpêtrière. La plupart d'entre eux étaient atteints d'état de mal épileptique hyper-réfractaire et plongés dans un coma pharmacologique, induisant au niveau cérébral un état isoélectrique, afin de protéger le cerveau des crises ininterrompues, (voir Article 3, Figure 1). A la demande d'un neurologue, des enregistrements EEG de scalp, étaient réalisés par un technicien EEG, à l'aide de huit électrodes de type aiguille ou cupule de faible impédance (< à 10 k Ω) recueillant l'activité corticale des aires fronto-polaires (Fp1, Fp2), temporales (T3, T4), centrales (C3, C4) et occipitales (O1, O2). L'électrode de référence était placée dans la région centrale, le long de la ligne médiane en Cz (voir Article 3, Figure 1). Un enregistrement électrocardiographique était réalisé simultanément à l'aide d'une électrode constituée d'une cupule en argent chlorurée. Le signal était amplifié à l'aide d'un amplificateur SD (Micromed S.p.a, Mogliano Veneto, Italy) filtré entre 0.53 et 70 Hz et digitalisé à 256 Hz (Chipaux et coll., 2013).

Suite à une période d'enregistrement de l'activité spontanée (≥ 30 min), des stimulations visuelles de type Stimulation Lumineuse Intermittente (SLI) délivrant des flashes répétés de 12 ms étaient générées (n = 50 essais, 0.2 à 0.3 J) à l'aide d'une lampe à Xénon (Flash 10S, Micromed S.p.a, Mogliano Veneto, Italy) placée à 30 cm du nasion (Chipaux et coll., 2013). Plusieurs séries de stimulations étaient effectuées à différentes fréquences (de 0.3 à 10 Hz). L'analyse des enregistrements était réalisée en montage monopolaire ou bipolaire. Pour chaque fréquence de stimulation, des mesures de latence, d'amplitude et de variabilité d'amplitude du potentiel évoqué, étaient réalisées comme décrites chez le rat (voir description ci-dessus).

3 ARTICLES ET RESULTATS EXPERIMENTAUX

**3-1 ARTICLE 1 : INDUCTION OF AN ISOELECTRIC BRAIN STATE TO
INVESTIGATE THE IMPACT OF ENDOGENOUS SYNAPTIC ACTIVITY ON
NEURONAL EXCITABILITY *IN* *VIVO***

Journal of Visualized Experiments

Induction of an isoelectric brain state to investigate the impact of endogenous synaptic activity on neuronal excitability in vivo

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	JoVE53576R2
Full Title:	Induction of an isoelectric brain state to investigate the impact of endogenous synaptic activity on neuronal excitability in vivo
Article Type:	Invited Methods Article - JoVE Produced Video
Keywords:	intracellular recording; in vivo; excitability; synaptic activity; ECoG; isoelectric; cerebral cortex; coma; physiological constants
Manuscript Classifications:	1.8.186.211.730.885.287.500: Cerebral Cortex; 3.23.888.592.604.359.800.200: Coma; 5.1.370.376.300: Electroencephalography (EEG); 7.4.580: Membrane Potentials; 7.7.265.337: Electrophysiological Processes; 8.1.158.610.268: Neurophysiology
Corresponding Author:	Adrien E Schramm, PhD Institut du cerveau et de la moelle epiniere Paris, FRANCE
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author E-Mail:	a.schramm-ihu@icm-institute.org
Corresponding Author's Institution:	Institut du cerveau et de la moelle epiniere
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Tristan Altwegg-Boussac
First Author Secondary Information:	
Other Authors:	Tristan Altwegg-Boussac S�everine Mahon Mario Chavez St�ephane Charpier
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	The way neurons process information depends both on their intrinsic membrane properties and on the dynamics of the afferent synaptic network. In particular, endogenously-generated network activity, which strongly varies as a function of the state of vigilance, significantly modulates neuronal computation. To investigate how different spontaneous cerebral dynamics impact single neurons' integrative properties, we developed a new experimental strategy in the rat consisting in suppressing in vivo all cerebral activity by means of a systemic injection of a high dose of sodium pentobarbital. Cortical activities, continuously monitored by combined electrocorticogram (ECoG) and intracellular recordings are progressively slowed down, leading to a steady isoelectric profile. This extreme brain state, putting the rat into a deep comatose, was carefully monitored by measuring the physiological parameters of the animal throughout the experiments. Intracellular recordings allowed us to characterize and compare the integrative properties of the same neuron embedded into physiologically relevant cortical dynamics, such as those encountered in the sleep-wake cycle, and when the brain was fully silent.
Author Comments:	
Additional Information:	
Question	Response

<p>If this article needs to be filmed by a certain date to due to author/equipment/lab availability, please indicate the date below and explain in your cover letter.</p>	
<p>If this article needs to be "in-press" by a certain date to satisfy grant requirements, please indicate the date below and explain in your cover letter.</p>	

TITLE:

Induction of an isoelectric brain state to investigate the impact of endogenous synaptic activity on neuronal excitability *in vivo*

AUTHORS:

Altwegg-Boussac, Tristan

Inserm, U 1127, F-75013, Paris, France

CNRS, UMR 7225, F-75013, Paris, France

Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UMR S 1127, F-75013, Paris, France

Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, F-75013, Paris, France

tristan.altwegg@icm-institute.org

Mahon, Séverine

Inserm, U 1127, F-75013, Paris, France

CNRS, UMR 7225, F-75013, Paris, France

Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UMR S 1127, F-75013, Paris, France

Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, F-75013, Paris, France

severine.mahon@upmc.fr

Chavez, Mario

Inserm, U 1127, F-75013, Paris, France

CNRS, UMR 7225, F-75013, Paris, France

Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UMR S 1127, F-75013, Paris, France

Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, F-75013, Paris, France

mario.chavez@upmc.fr

Charpier, Stéphane

Inserm, U 1127, F-75013, Paris, France

CNRS, UMR 7225, F-75013, Paris, France

Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UMR S 1127, F-75013, Paris, France

Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, F-75013, Paris, France

stephane.charpier@upmc.fr

Schramm, Adrien E.

Inserm, U 1127, F-75013, Paris, France

CNRS, UMR 7225, F-75013, Paris, France

Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UMR S 1127, F-75013, Paris, France

Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, F-75013, Paris, France

a.schramm-ihu@icm-institute.org

CORRESPONDING AUTHOR:

Schramm, Adrien E.

a.schramm-ihu@icm-institute.org

KEYWORDS:

intracellular recordings; *in vivo*; excitability; synaptic activity; ECoG; isoelectric; cerebral cortex; coma; physiological constants.

SHORT ABSTRACT:

This procedure performs long-lasting *in vivo* intracellular recordings from single neurons during physiologically relevant cerebral states and after complete abolition of ongoing electrical activities, resulting in an isoelectric brain state. The physiological parameters of the animal are carefully monitored during the transition to the artificial comatose condition.

LONG ABSTRACT:

The way neurons process information depends both on their intrinsic membrane properties and on the dynamics of the afferent synaptic network. In particular, endogenously-generated network activity, which strongly varies as a function of the state of vigilance, significantly modulates neuronal computation. To investigate how different spontaneous cerebral dynamics impact single neurons' integrative properties, we developed a new experimental strategy in the rat consisting in suppressing *in vivo* all cerebral activity by means of a systemic injection of a high dose of sodium pentobarbital. Cortical activities, continuously monitored by combined electrocorticogram (ECoG) and intracellular recordings are progressively slowed down, leading to a steady isoelectric profile. This extreme brain state, putting the rat into a deep comatose, was carefully monitored by measuring the physiological parameters of the animal throughout the experiments. Intracellular recordings allowed us to characterize and compare the integrative properties of the same neuron embedded into physiologically relevant cortical dynamics, such as those encountered in the sleep-wake cycle, and when the brain was fully silent.

INTRODUCTION:

In the absence of any environmental stimuli or behavioral tasks, the "resting" brain generates a continuous stream of electrical activity that can be recorded from the scalp, as electroencephalographic (EEG) waves. The intracellular correlate of this endogenous cerebral activity is characterized by background membrane voltage fluctuations (also known as "synaptic noise"), which are composed of a combination of excitatory and inhibitory synaptic potentials that reflect the ongoing activity of afferent networks^{1,2}. This spontaneous activity varies in frequency and amplitude with the different states of vigilance. Elucidating the impact of network activity on the excitability and responsiveness of single neurons is one of the major challenges of neurosciences^{3,4}.

Many experimental and computational studies have explored the functional impact of ongoing synaptic activity on the integrative properties of neurons. However, the role of the different neuronal parameters impacted by the background synaptic noise remains elusive. For instance, the mean level of membrane depolarization has been found positively^{5,6} or negatively⁷⁻⁹ correlated with the ability of sensory inputs to trigger action potentials. Moreover, whereas some investigations suggest that fluctuations of the membrane potential, resulting from a continuously varying stream of afferent synaptic inputs, strongly affect the responsiveness of

single neurons by modulating the gain of their input-output relationship^{3,10–13}, others indicate that changes in membrane input conductance mediated by shunting inhibition are sufficient to modulate the neuronal gain regardless of the magnitude of membrane fluctuations^{14,15}. Finally, recent studies performed on awake animals stressed how the processing of sensory information in single neuron critically depends upon the state of vigilance and the current behavioral demand^{16,17}.

A straightforward strategy to elucidate the functional role of a given process in a highly interconnected system is to determine how its absence specifically alters the functioning of the system. This method has been extensively used in neuroscience research, for example using experimental lesions or inactivation of different brain areas^{18–21}, or pharmacological blockade of specific ion channels^{22,23}. Notably, it has been applied *in vivo* to unveil how functional connectivity and network dynamics affect single cell computation^{24–27}. However, to date local manipulations intended to block the firing of neurons and/or perturb their basic biophysical properties can be partially effective and are limited to relatively small brain volumes²⁸.

To overcome these limitations, we developed a new *in vivo* experimental approach in the rat to compare the electrophysiological properties of single neurons recorded in a given brain state, *i.e.* embedded in a particular network dynamic, to those obtained after complete suppression of the whole brain synaptic activity²⁹. In the control conditions, two distinct cortical dynamics could be generated. Sleep-like electrocorticographic (ECoG) patterns were induced by injection of sodium pentobarbital. Alternatively, fast ECoG waves of small amplitude comparable to the cortical activity underlying the waking state (waking-like pattern) could be produced by injection of fentanyl. Subsequently, while maintaining the same ECoG and intracellular recording, a complete silencing of endogenous brain electrical activity was obtained by systemic injection of a high dose of sodium pentobarbital, characterized by isoelectric ECoG and intracellular activities. Because the induction of such an extreme comatose could potentially have fatal consequences on biological functions, a careful and continuous monitoring of the physiological variables was essential. Therefore, we meticulously followed the heart beat frequency, the end-tidal CO₂ concentration (EtCO₂), the O₂ saturation (SpO₂) and core temperature of the rat throughout the experiments.

We evaluate single neurons properties during these different states using sharp microelectrodes, which are particularly suited for long and stable recordings *in vivo*. The procedure described here, can be combined with other electrophysiological and imaging approaches and could be extended to other animal models.

PROTOCOL:

All procedures were carried out in accordance with the guidelines of the European Union (directive 2010/63/EU) and approved by the Charles Darwin Ethical Committee on Animal Experimentation. We describe here the procedure we routinely use in our laboratory, however most steps can be adapted to match everyone's specific needs.

1. Surgical Preparation

Note: All incision and pressure points should be repeatedly infiltrated with local anesthetic (lidocaine or bupivacaine). The present procedure is terminal but if an aseptic preparation is required use betadine and alcohol to prepare incision areas.

0.1) Anesthetize a rat with sodium pentobarbital (40 mg/kg) and ketamine (50 mg/kg) in two locally separated intraperitoneal (IP) injections.

Note: Other anesthetic approaches suitable for surgery (such as inhalational anesthetic agents) can be employed instead.

0.2) Let the animal go under general anesthesia and repeatedly verify that a surgical plane of anesthesia is attained (no reaction to toe pinching). Place the rat on a feedback heating blanket and insert a rectal probe to maintain core temperature around 37 °C.

0.3) Place a catheter in the peritoneal cavity to facilitate subsequent injection of anesthetic agents and to avoid perforating organs by repeated needle punctures³⁰.

0.3.1) Clip the hair over a small (~2-3 mm) area above a region located within the stomach's lower right or left quadrant.

Note: Depilatory cream can also be used.

0.3.2) Make a 2-3 mm incision on the skin with sharp scissors or a scalpel. Using blunt dissection, remove fat and muscle layers until the peritoneal cavity is observed.

0.3.3) Insert about 1-2 cm of a small catheter in the cavity and close the wound with surgical glue.

Note: The diameter and the total length of the catheter should be minimal (e.g., 2 French – corresponding to .043 mm inside diameter) to reduce dead volumes. Polyurethane tubes are most suited.

0.3.4) Make a loop and suture the catheter to the skin to secure it in place.

0.4) Install a tracheal tube to control ventilation during artificial respiration.

0.4.1) As for the previous step, prepare the area of interest (1-2 cm over the trachea right above the manubrium), remove the hair and incise the skin.

0.4.2) Blunt dissect the first layers of fat and muscles, then move the salivary gland aside and expose the trachea by gently dissecting the last layer of muscles.

0.4.3) Carefully remove the tissues over the trachea and slide a thread below it using small forceps. Make a surgeon's knot with the thread but do not tight it yet.

0.4.4) Incise the trachea transversally between two cartilaginous rings. Swab blood in the trachea if any.

0.4.5) Insert a tracheal tube with the appropriate diameter and tighten the thread's knot to secure the tube steady. For additional stability the thread can further be attached at a higher point of the trachea tube.

0.4.6) Suture the wound close or use surgical staples. Avoid surgical glue here if the tracheal tube is intended to be reused.

0.5) Install the animal in a stereotaxic frame and carefully monitor the following physiological variables: ECoG, SpO₂, EtCO₂, heart rate (*via* an electrocardiogram, ECG) and internal temperature. Monitor and adjust these variables to keep a proper depth of anesthesia and physiological state. Specifically, supplement anesthesia with a small dose (10 mg/kg) of sodium pentobarbital if necessary.

0.6) Apply eye ointment on both eyes to avoid desiccation. Clip the hair over the scalp, make a longitudinal incision (~2 cm) and resect the connective tissues overlying the skull using a scalpel or a curette.

0.7) Make a small (~1.5 mm diameter) craniotomy over the region of interest with a dental drill.

Note: Here, the barrel field of the primary somatosensory cortex is targeted (7–8 mm anterior to the interaural line, 4.5–5.5 mm lateral to the midline³¹). Rinse repeatedly to dissipate heat.

0.8) Use extra fine forceps to gently make a small hole in the dura. Reserve a ~0.5 mm region within the cranial trepanation to place the ECoG electrode (see next step). Permanently keep the cortex moist with 0.9% NaCl solution (or artificial cerebro-spinal fluid).

0.9) Place a low impedance (~60 kΩ) silver electrode (the ECoG electrode) on the dura, avoiding the cortical region not covered by the meninges, and place the reference electrode on a scalp muscle on the other side of the head.

0.10) At this stage (30 min after the last sodium pentobarbital injection), maintain the anesthesia by repeated injections of sodium pentobarbital (10-15 mg/kg/h) or fentanyl (3-6 µg/kg/h). The former will result in a slow oscillatory, sleep-like, ECoG pattern whereas the latter will result in a desynchronized, waking-like, cortical profile.

0.11) Adjust the artificial ventilation system so that the respiratory frequency and volume are similar to those of the rat's spontaneous breathing (normal range 70–115 breath/min³²). Then,

connect the mechanical ventilation to the tracheal tube and verify the proper thoracic cage inflation (on both sides). If not, adjust the position of the ventilation tubing in the tracheal axis. If necessary, suck up the secretion present in the trachea with a catheter connected to a syringe or a vacuum pump.

0.12) If all physiological variables³²⁻³⁵ and ECoG^{29,36} patterns are within normal values, do an intramuscular injection of gallamine triethiodide in each leg to paralyze the rat, 40 mg/kg for the first injection and then 20 mg/kg, every 2h.

2. Intracellular recordings

2.1. Pull a glass micropipette (sharp microelectrode) with a $\sim 0.2 \mu\text{m}$ tip such as its resistance ranges between 50 and 80 M Ω once filled with 2 M potassium acetate (KAc).

2.2. Place the pipette in a specific holder with a silver/silver-chloride (Ag/AgCl) wire to connect the pipette solution to an intracellular amplifier (via a head stage). The holder should be attached to a micromanipulator. Place a Ag/AgCl reference electrode on the rat's neck muscles.

2.3. Slowly insert the pipette in the brain down to the region of interest and verify its resistance by monitoring the voltage drops in response to current steps. Use the buzz (or zap) button of the amplifier to clear the pipette if needed.

2.4. Use cotton swabs or synthetic absorption triangles to dry the craniotomy (be careful not to touch the ECoG or intracellular electrodes) before covering it with silicone elastomer or 4% agarose to reduce brain movements.

2.5. Lower the pipette in 1-2 μm steps until its resistance increases when approaching a cell. Then use the buzz function of the amplifier to penetrate into the neuron.

3. Induce the isoelectric state

3.1. Perform the appropriate experimental protocol (e.g., firing responses to intracellularly injected currents, current-voltage relations, sensory stimuli responses) at this stage while monitoring simultaneously the neuron's membrane potential, the ECoG and the physiological variables.

3.2. Ensure that the intracellular electrode is stable in the cell by analyzing the steadiness of both the membrane potential and the action potential properties throughout the recording session. If not, do not go to the next step and wait until the recording becomes stable again or search for another neuron.

3.3. Inject a high but infra-lethal dose ($\sim 90 \text{ mg/kg}$, can be as low as 35 mg/kg for the pentobarbital initial condition and up to 155 mg/kg for the fentanyl initial condition) of sodium

pentobarbital via the IP line.

Note: Within 15-20 minutes the intracellular and ECoG waveforms should slow down with intermittent electrical silences to transiently reach the so called “burst-suppression” profile^{37,38}, which progressively collapses to a complete isoelectric state. It is expected that the heart rate significantly slows down (by ~10–20 %) but the SpO₂ and EtCO₂ should stay relatively steady.

3.4. If the isoelectric state is not reached, inject a small amount of sodium pentobarbital (~10 % of the step 3.1 dose). Wait 15 minutes before adding more anesthetic if the isoelectric state is still not achieved.

3.5. Repeat the experimental protocol to compare the impact of the network dynamics on the recorded neuron’s integrative properties.

Note: After cessation of anesthetic injections, the electrical brain activity should fully recover within 3 to 4 hours.

3.6. At the end of the experiment, inject a lethal dose of sodium pentobarbital (200 mg/kg, IP) to euthanize the rat.

REPRESENTATIVE RESULTS:

Inducing and maintaining an isoelectric brain state is a delicate *in vivo* experimental procedure. It has been proved to be a powerful tool to directly study the impact of cortical network activity on neuronal excitability and transfer function²⁹. **Figure 1** shows the multi-parameter monitoring, including ECoG and vital constants, of the animal’s physiological state before (**Figure 1A**) and after (**Figure 1B**) induction of the isoelectric state.

[Place Figure 1 here].

During the control sessions, the physiological parameters were similar to those measured in healthy and awake animals^{32–35} and remained unaffected after induction of the isoelectric state, except for the heart rate that was slightly slowed down (**Figure 1**). This is an important point since hypoxia³⁹ or hypercapnia⁴⁰ can markedly alter neuronal excitability and thus can introduce a serious bias in a study exploring a brain state-dependent modulation of neuronal integrative properties.

We obtained the isoelectric status from two different initial conditions mimicking the cortical dynamics endogenously-generated during the early stages of sleep (**Figure 2Aa**, left panel) or during waking (**Figure 2Ab**, left panel). These active states were either induced by injection of sodium pentobarbital (sleep-like) or fentanyl (waking-like). In both cases, the subsequent injection of a high dose of sodium pentobarbital resulted in a complete abolition of spontaneous activity in the ECoG and the simultaneously recorded neurons (**Figure 2Aa and b**, right panels), hence the term isoelectric. Suppressing the ongoing synaptic activity resulted in a

significant steady hyperpolarization of the neuronal membrane potential (**Figure 2B**).

[Place Figure 2 here].

To illustrate the functional impact of this extreme brain state, we extracted the passive and active intrinsic properties of isoelectric neurons and compared them with those measured during the corresponding initial condition. Using this strategy, we have shown that neurons could fire action potentials in response to intracellular injection of depolarizing current during the isoelectric state, demonstrating that they remained fully excitable even after the complete suppression of background synaptic activity (**Figure 3Aa and b**, Isoelectric). Moreover, we found that the transfer function of neurons, assessed by measuring the firing frequency induced by steps of depolarizing current of increasing intensity (F–I relationship), was right-shifted compared to the initial active conditions, indicating a decrease in the sensitivity of neurons to weak excitatory inputs (**Figure 3B**). The corresponding neuronal gain, *i.e.* the slope of the F–I curve, remained unchanged or was reduced when the control state was of sleep- or waking-type, respectively (**Figure 3B**). Surprisingly, the apparent input resistance of neurons was not significantly modified in the absence of synaptic drive compared to the control active conditions (**Figure 3Aa, b**). More results, including population analysis and quantification of the temporal firing patterns of neurons in the active and isoelectric conditions, are available in our initial paper ²⁹.

[Place Figure 3 here]

Figure 1. Monitoring of the physiological parameters in control and isoelectric conditions.

A and B, Simultaneous recordings of ECoG (top traces) and physiological parameters during active cortical state (A) and subsequent isoelectric period (B). Core temperature (Temp.), EtCO₂ and SpO₂ are essentially stable throughout the experiment. Heart beat rate, in contrast, progressively decreases following the induction of the isoelectric state (from 382 to 349 beats/min), as seen on the ECG.

Figure 2. Consequences of synaptic activity suppression on the spontaneous dynamics of membrane potential.

A, Simultaneous representative recordings of ECoG (top traces) and intracellular activities (Intra, bottom traces) during sleep-like (A_a) and waking-like (A_b) patterns (left panels), and during the corresponding subsequent isoelectric epochs (at the times indicated after the suppressive injection; Isoelectric, right panels). The time-frequency analysis of ECoG signals (energy density for the 0–50 Hz frequency range) is depicted by color scales. **B**, Probability densities (P) of membrane potential values (Vm, bin size 0.5 mV, 10 s of recording) from the neurons illustrated in panel A. This figure has been modified, with permission, from ref. 29.

Figure 3. Comparative impact of the three cortical activity patterns on membrane properties and input–output relations.

A, Voltage responses (middle traces) of somatosensory cortical neurons to depolarizing and hyperpolarizing current pulses (bottom traces) during sleep-like (A_a) and waking-like (A_b) ECoG patterns (top records) and after deprivation of synaptic activity (Isoelectric). Membrane input resistance (R_m , values are indicated) was measured from voltage drops (grey traces, averages of 20 trials) induced by hyperpolarizing current pulse injections (-0.4nA). **B**, Corresponding F-I curves, providing the transfer function of the neurons illustrated in panel A. The firing rate was measured in response to depolarizing current pulses (200 ms duration) of increasing intensity. Each current intensity was applied 20 times and the corresponding firing responses were averaged. The dashed lines indicate the cell responses shown in A. This figure has been modified, with permission, from ref. 29.

DISCUSSION:

We describe here a new method to suppress *in vivo* spontaneous cerebral electrical activity at both network and cellular levels. This procedure leads to an extreme brain state, known as isoelectric comatose⁴¹. From a clinical point of view, such an electrocerebral inactivity is the most severe abnormality that can be seen on the EEG. It is mostly associated with an irreversible coma, with all patients either dying or continuing in a persistent vegetative state⁴², but can be at least partially reversed when caused by an intoxication with central nervous system depressant medications (such as thiopental), an accidental hypothermia⁴² or an asphyxial cardiac arrest⁴³. In our experimental paradigm, isoelectric state is progressively achieved by a systemic injection of sodium pentobarbital at high doses, which first rapidly induces a reduction in the ECoG frequency content, then a “burst-suppression” mode^{41,42}, leading finally to a completely flat ECoG. At the intracellular level, the disappearance of spontaneous activity follows a similar time course with concomitant reduction of depolarizing and hyperpolarizing membrane potential fluctuations. Thus, it can be hypothesized that the injection of sodium pentobarbital first increases the synaptic inhibitory transmission leading to a reduction of cortical neurons firing activity, the progressive abolition of excitatory and inhibitory synaptic transmission that finally results in isoelectric ECoG and intracellular activities^{29,44}. Similar transitions from active to isoelectric ECoG patterns can be obtained following the administration of other anesthetic agents such as ketamine (personal observation) or isoflurane^{45,46}.

The procedure may appear relatively straightforward. However, due to the extremely deep comatose induced, maintaining the basic physiological variables within normal ranges is of paramount importance for the success of the experiment. Changes in $EtCO_2$ fluctuations may be the result of a mucus plug forming in the trachea. In such a situation, the ventilator should be disconnected and the mucus quickly aspirated or wiped out through the tracheal tube. Moreover, the mechanical stability of the preparation is crucial for intracellular recordings. Thus, special efforts should be made to reduce vascular and respiratory pulsations, by carefully adjusting the animal's body relative to the head while maintaining a proper tracheal tubing alignment, and by applying agarose or silicone elastomer on the craniotomy. It is also necessary to avoid spontaneous muscle contractions by injection of a paralyzing agent. Finally, environmental vibrations and electrical noise should be reduced as much as possible. Other publications detail the essential steps for an optimal *in vivo* preparation allowing stable

intracellular or patch-clamp whole-cell recordings^{29,47–50}.

The ability to decouple neuronal intrinsic membrane properties and networks dynamics is essential to dissect the mechanisms by which individual neurons process information in their highly connected environment. As stated in the Introduction, previous studies devoted to this central issue of fundamental neurosciences led to conflicting results, partly due to the specific features of neurons and networks investigated and the various experimental conditions, including *in vitro* vs *in vivo* preparations and, eventually, the different anesthetic procedures used (see for instance^{29,36,51}). We propose that the present approach could be used to validate, and possibly reconcile, findings obtained from the reduced *in vitro* preparation and from *in vivo* experiments. Indeed, it allows to directly examine and compare in *the same neuron* and in *the course of the same experimental procedure* the impact of distinct patterns of afferent synaptic inputs, from waking-like dynamics to complete inactivity, on the neuronal integrative properties in a living animal.

One distinctive feature of this protocol is that, once mastered, it could be combined with other experimental techniques, such as multisite surface and depth EEG recordings, genetically encoded fluorescent indicators based investigations and even hemodynamic and metabolic imaging of the brain, to investigate the multidimensional properties of the isoelectric brain. As clinical and diagnostic perspectives, since we demonstrated that neurons are still excitable during persistent isoelectric comatose, it would be relevant to test the cortical functions, for example the processing of sensory information, of patients and animal models immersed in such a pathological state of brain inactivity.

ACKNOWLEDGMENTS:

This work was supported by grants from the Fondation de France, the Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale, the Pierre & Marie Curie University and the program 'Investissements d'avenir' ANR-10-IAIHU-06.

DISCLOSURES:

The authors have nothing to disclose.

REFERENCES

1. Fatt, P. & Katz, B. Some observations on biological noise. *Nature* **166** (4223), 597–598 (1950).
2. Brock, L. G., Coombs, J. S. & Eccles, J. C. The recording of potentials from motoneurons with an intracellular electrode. *J. Physiol.* **117** (4), 431–60 (1952).
3. Destexhe, A., Rudolph, M., Fellous, J.-M. & Sejnowski, T. J. Fluctuating synaptic conductances recreate in vivo-like activity in neocortical neurons. *Neuroscience* **107** (1), 13–24, doi: 10.1016/S0306-4522(01)00344-X (2001).
4. Silver, R. A. Neuronal arithmetic. *Nat. Rev. Neurosci.* **11** (7), 474–489, doi: 10.1038/nrn2864 (2010).
5. Azouz, R. & Gray, C. M. Cellular mechanisms contributing to response variability of cortical neurons in vivo. *J. Neurosci.* **19** (6), 2209–23 (1999).

6. Sanchez-Vives, M. V., Nowak, L. G. & McCormick, D. A. Membrane Mechanisms Underlying Contrast Adaptation in Cat Area 17 In Vivo. *J. Neurosci.* **20** (11), 4267–4285 (2000).
7. Petersen, C. C. H., Hahn, T. T. G., Mehta, M., Grinvald, A. & Sakmann, B. Interaction of sensory responses with spontaneous depolarization in layer 2/3 barrel cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **100** (23), 13638–13643, doi: 10.1073/pnas.2235811100 (2003).
8. Sachdev, R. N. S., Ebner, F. F. & Wilson, C. J. Effect of Subthreshold Up and Down States on the Whisker-Evoked Response in Somatosensory Cortex. *J. Neurophysiol.* **92** (6), 3511–3521, doi: 10.1152/jn.00347.2004 (2004).
9. Hasenstaub, A., Sachdev, R. N. S. & McCormick, D. A. State Changes Rapidly Modulate Cortical Neuronal Responsiveness. *J. Neurosci.* **27** (36), 9607–9622, doi: 10.1523/JNEUROSCI.2184-07.2007 (2007).
10. Chance, F. S., Abbott, L. F. & Reyes, A. D. Gain modulation from background synaptic input. *Neuron* **35** (4), 773–82 (2002).
11. Shu, Y., Hasenstaub, A., Badoual, M., Bal, T. & McCormick, D. A. Barrages of synaptic activity control the gain and sensitivity of cortical neurons. *J. Neurosci.* **23** (32), 10388–401 (2003).
12. Mitchell, S. J. & Silver, R. A. Shunting inhibition modulates neuronal gain during synaptic excitation. *Neuron* **38** (3), 433–45 (2003).
13. Prescott, S. A. & De Koninck, Y. Gain control of firing rate by shunting inhibition: roles of synaptic noise and dendritic saturation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **100** (4), 2076–81 (2003).
14. Graham, L. J. & Schramm, A. In Vivo Dynamic-Clamp Manipulation of Extrinsic and Intrinsic Conductances: Functional Roles of Shunting Inhibition and IBK in Rat and Cat Cortex. *Dynamic-clamp: From principles to applications* (2009).
15. Fernandez, F. R. & White, J. A. Gain control in CA1 pyramidal cells using changes in somatic conductance. *J. Neurosci* **30** (1), 230–241, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3995-09.2010 (2010).
16. Polack, P.-O., Friedman, J. & Golshani, P. Cellular mechanisms of brain state-dependent gain modulation in visual cortex. *Nat. Neurosci.* **16** (9), 1331–1339, doi: 10.1038/nn.3464 (2013).
17. Zhou, M., Liang, F., *et al.* Scaling down of balanced excitation and inhibition by active behavioral states in auditory cortex. *Nat. Neurosci.* **17** (6), 841–850, doi: 10.1038/nn.3701 (2014).
18. Contreras, D., Destexhe, A., Sejnowski, T. J. & Steriade, M. Spatiotemporal Patterns of Spindle Oscillations in Cortex and Thalamus. *J. Neurosci.* **17** (3), 1179–1196 (1997).
19. Charpier, S., Mahon, S. & Deniau, J.-M. In vivo induction of striatal long-term potentiation by low-frequency stimulation of the cerebral cortex. *Neuroscience* **91** (4), 1209–1222, doi: 10.1016/S0306-4522(98)00719-2 (1999).
20. Constantinople, C. M. & Bruno, R. M. Effects and Mechanisms of Wakefulness on Local Cortical Networks. *Neuron* **69** (6), 1061–1068, doi: 10.1016/j.neuron.2011.02.040 (2011).
21. Poulet, J. F. A., Fernandez, L. M. J., Crochet, S. & Petersen, C. C. H. Thalamic control of cortical states. *Nat. Neurosci.* **15** (3), 370–372, doi: 10.1038/nn.3035 (2012).
22. Hille, B. *Ion Channels of Excitable Membranes, Third Edition.* (Sinauer Associates: Sunderland, Mass, 2001).
23. Sakmann, B. & Neher, E. *Single-Channel Recording.* (Springer: 2009).
24. Ferster, D., Chung, S. & Wheat, H. Orientation selectivity of thalamic input to simple cells of cat visual cortex. *Nature* **380** (6571), 249–252, doi: 10.1038/380249a0 (1996).

25. Paré, D., Shink, E., Gaudreau, H., Destexhe, A. & Lang, E. J. Impact of spontaneous synaptic activity on the resting properties of cat neocortical pyramidal neurons in vivo. *J. Neurophysiol.* **79** (3), 1450–1460 (1998).
26. Destexhe, A. & Paré, D. Impact of network activity on the integrative properties of neocortical pyramidal neurons in vivo. *J. Neurophysiol.* **81** (4), 1531–1547 (1999).
27. Kara, P., Pezaris, J. S., Yurgenson, S. & Reid, R. C. The spatial receptive field of thalamic inputs to single cortical simple cells revealed by the interaction of visual and electrical stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **99** (25), 16261–16266, doi: 10.1073/pnas.242625499 (2002).
28. Lomber, S. G. The advantages and limitations of permanent or reversible deactivation techniques in the assessment of neural function. *J. Neurosci. Meth.* **86** (2), 109–117, doi: 10.1016/S0165-0270(98)00160-5 (1999).
29. Altwegg-Boussac, T., Chavez, M., Mahon, S. & Charpier, S. Excitability and responsiveness of rat barrel cortex neurons in the presence and absence of spontaneous synaptic activity in vivo. *J. Physiol.* **592** (16), 3577–3595, doi: 10.1113/jphysiol.2013.270561 (2014).
30. Miner, N. A., Koehler, J. & Greenaway, L. Intraperitoneal injection of mice. *Appl. Microbiol.* **17** (2), 250–251 (1969).
31. Paxinos, G. & Watson, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates (2nd edn)*. (Academic Press: 1986).
32. Wolfensohn, S. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. (Wiley-Blackwell: 2013).
33. Bester, H., Chapman, V., Besson, J.-M. & Bernard, J.-F. Physiological Properties of the Lamina I Spinoparabrachial Neurons in the Rat. *J. Neurophysiol.* **83** (4), 2239–2259 (2000).
34. Greene, S. A. *Veterinary Anesthesia and Pain Management Secrets*. (Elsevier Health Sciences: 2002).
35. Morgan, B. J., Adrian, R., Bates, M. L., Dopp, J. M. & Dempsey, J. A. Quantifying hypoxia-induced chemoreceptor sensitivity in the awake rodent. *J. Appl. Physiol.* **117** (7), 816–824, doi: 10.1152/jappphysiol.00484.2014 (2014).
36. Mahon, S., Deniau, J. M. & Charpier, S. Relationship between EEG potentials and intracellular activity of striatal and cortico-striatal neurons: an in vivo study under different anesthetics. *Cereb. Cortex* **11** (4), 360–373 (2001).
37. Ganes, T. & Lunder, T. The effect of thiopentone on somatosensory evoked responses and EEGs in comatose patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **46** (6), 509–514 (1983).
38. Schmid-Elsaesser, R., Schröder, M., Zausinger, S., Hungerhuber, E., Baethmann, A. & Reulen, H.-J. EEG burst suppression is not necessary for maximum barbiturate protection in transient focal cerebral ischemia in the rat. *J. Neurol. Sci* **162** (1), 14–19, doi: 10.1016/S0022-510X(98)00300-1 (1999).
39. Cummins, T. R., Jiang, C. & Haddad, G. G. Human neocortical excitability is decreased during anoxia via sodium channel modulation. *J Clin Invest* **91** (2), 608–615 (1993).
40. Gu, X. Q., Kanaan, A., Yao, H. & Haddad, G. G. Chronic High-Inspired CO₂ Decreases Excitability of Mouse Hippocampal Neurons. *J. Neurophysiol.* **97** (2), 1833–1838, doi: 10.1152/jn.01174.2006 (2007).
41. Lehembre, R., Gosseries, O., *et al.* Electrophysiological investigations of brain function in coma, vegetative and minimally conscious patients. *Arch Ital Biol* **150** (2/3), 122–139, doi:

- 10.4449/aib.v150i2.1374 (2012).
42. Husain, A. M. Electroencephalographic assessment of coma. *J Clin Neurophysiol* **23** (3), 208–220, doi: 10.1097/01.wnp.0000220094.60482.b5 (2006).
 43. Fink, E. L., Alexander, H., *et al.* An Experimental Model of Pediatric Asphyxial Cardiopulmonary Arrest in Rats. *Pediatr Crit Care Med* **5** (2), 139–144 (2004).
 44. Lukatch, H.S. & McIver, MB. Synaptic mechanisms of thiopental-induced alterations in synchronized cortical activity. *Anesthesiology* **84**, 1425–1434 (1996).
 45. Kroeger, D. & Amzica, F. Hypersensitivity of the anesthesia-induced comatose brain. *J Neurosci* **27**, 10597–10607 (2007).
 46. Kroeger, D., Florea, B. & Amzica, F. Human brain activity patterns beyond the isoelectric line of extreme deep coma. *PLoS ONE* **8** (9), e75257, doi:10.1371/journal.pone.0075257 (2013).
 47. Margrie, T. W., Brecht, M. & Sakmann, B. In vivo, low-resistance, whole-cell recordings from neurons in the anaesthetized and awake mammalian brain. *Pflugers Arch* **444** (4), 491–8 (2002).
 48. DeWeese, M. Whole-Cell Recording In Vivo. *Current Protocols in Neuroscience* (2007).
 49. Schramm, A. E., Marinazzo, D., Gener, T. & Graham, L. J. The Touch and Zap Method for In Vivo Whole-Cell Patch Recording of Intrinsic and Visual Responses of Cortical Neurons and Glial Cells. *PLoS ONE* **9** (5), e97310, doi: 10.1371/journal.pone.0097310 (2014).
 50. Mahon, S. & Charpier, S. Bidirectional Plasticity of Intrinsic Excitability Controls Sensory Inputs Efficiency in Layer 5 Barrel Cortex Neurons in Vivo. *J. Neurosci.* **32** (33), 11377–11389, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0415-12.2012 (2012).
 51. Destexhe, A., Rudolph, M. & Paré, D. The high-conductance state of neocortical neurons in vivo. *Nat. Rev. Neurosci* **4** (9), 739–751, doi: 10.1038/nrn1198 (2003).

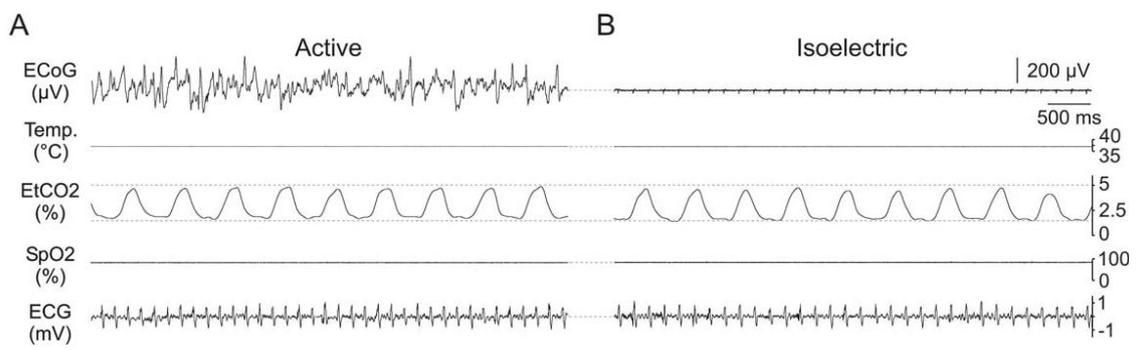


Figure 1

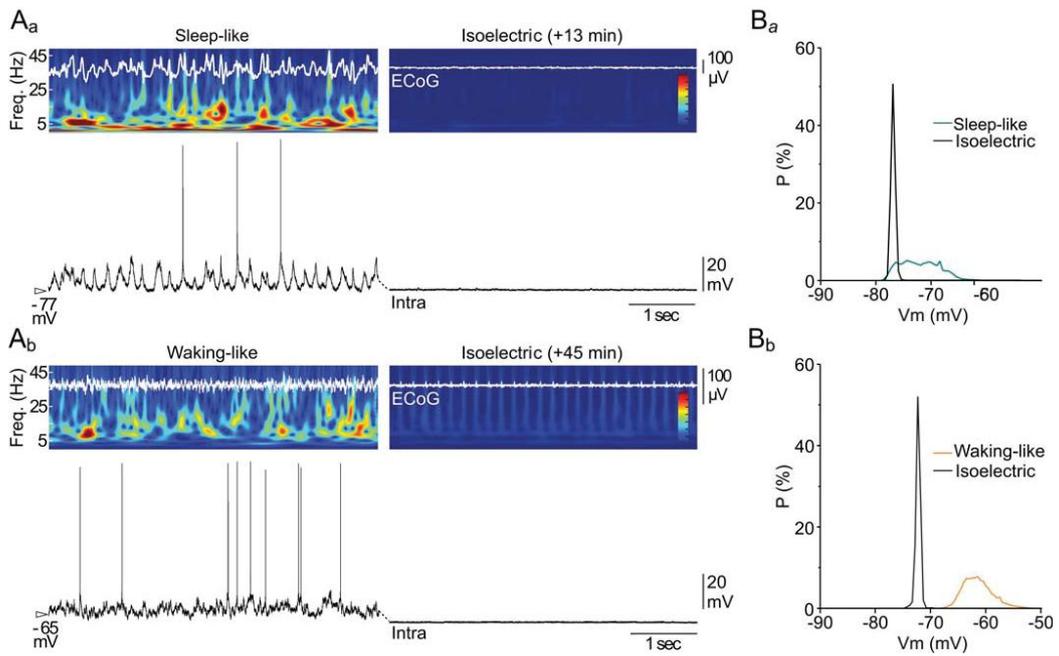


Figure 2

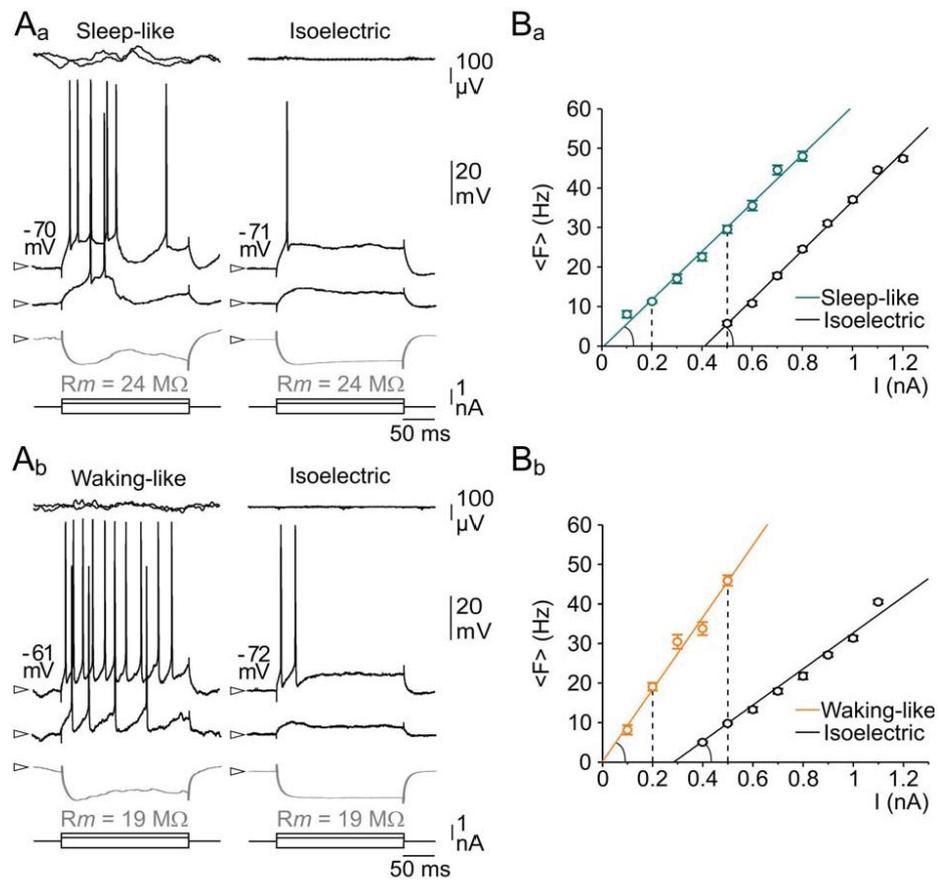


Figure 3

3-2 ARTICLE 2 : EXCITABILITY AND RESPONSIVENESS OF RAT BARREL CORTEX NEURONS IN THE PRESENCE AND ABSENCE OF SPONTANEOUS SYNAPTIC ACTIVITY *IN VIVO*

3-2.1 Rappels sur le contexte de la recherche

Cette recherche s'inscrit dans une longue série d'études visant à préciser comment les activités synaptiques spontanées, i.e. générées de manière endogène par le cerveau, contrôlent les propriétés intégratives, la fonction de transfert et la fiabilité des décharges évoquées des neurones corticaux.

Cette question a été abordée *in vivo*, *in vitro* et *in silico* (voir Section 1-3 de l'Introduction). Je ne ferai ici qu'un bref rappel sur les principales données de la littérature, en ne considérant que deux approches expérimentales précédemment utilisées. Une technique de simulation d'un bruit synaptique « naturel » dans les neurones – le « *dynamic-clamp* » – essentiellement appliquée *in vitro*, a constitué un outil de choix car il a l'avantage de simuler un bruit de fond synaptique dont on peut contrôler précisément, et de manière indépendante, les différents paramètres parmi lesquels : la fréquence des entrées synaptiques, leur conductance globale, le poids relatif des composantes excitatrices et inhibitrices, ainsi que les dynamiques temporelles (niveau de synchronisation, patrons spécifiques des différents états de vigilance...) des divers événements synaptiques constituant le bruit (Prinz et coll., 2004 ; Chance et Abbott, 2009). Les études utilisant cette méthode, souvent menées de front avec des modèles computationnels, ont essentiellement montré que le bruit synaptique induit par une combinaison de conductances excitatrices et inhibitrices fluctuantes avait pour conséquence de dépolariser le neurone, de générer des fluctuations du potentiel membranaire et de diminuer fortement la résistance membranaire du neurone (Bernander et coll., 1991 ; Destexhe et coll., 2001 ; Fellous et coll., 2003b ; Shu et coll., 2003a). En conséquence, le bruit synaptique aurait pour effet d'une part d'augmenter la probabilité de décharge du neurone pour de faibles entrées excitatrices et d'autre part de moduler la dimension « gain » de sa fonction de transfert, permettant ainsi de contrôler la connectivité fonctionnelle des réseaux corticaux (Hô et Destexhe, 2000 ; Chance et coll., 2002 ; Shu et coll., 2003a ; Haider et McCormick, 2009).

Concernant les études réalisées *in vivo*, il a été montré que la suppression de l'activité synaptique spontanée, dans les neurones pyramidaux du néocortex, provoquée par l'injection de TTX conduisait à une hyperpolarisation du potentiel membranaire et par ailleurs,

augmentait fortement la résistance membranaire globale du neurone (Paré et coll., 1998). Cependant, les résultats obtenus dans ce type d'études ne permettaient pas de conclure quant à l'impact du bruit synaptique sur les propriétés de décharge des neurones car le processus de genèse de PA était bloqué par la TTX. Une étude comparant chez le chat anesthésié les modulations différentielles des propriétés membranaires passives, induites par deux types de stimuli visuels, a montré que la modulation du gain de la fonction de transfert neuronale observée, était due à un changement combiné du potentiel membranaire moyen, de l'amplitude de ses fluctuations ainsi que de sa résistance membranaire (Cardin et coll., 2008). Cependant, la dynamique spatiotemporelle de l'activité évoquée par des stimulations sensorielles diffère fortement de celle associée à l'activité synaptique générée de façon endogène dans le réseau cortical (Crochet et Petersen, 2009).

Dans notre étude, nous avons opté pour une nouvelle stratégie expérimentale *in vivo* dont les détails techniques sont présentés dans l'Article 1. Il s'agissait d'induire chez le rat, différents patrons de bruit synaptique dans les neurones pyramidaux du cortex somatosensoriel, mimant celui exprimé lors du sommeil lent (induction à l'aide du pentobarbital) et lors de l'éveil (induction à l'aide du fentanyl). L'intérêt ici était que l'injection systémique de ces drogues permettait à la fois de maintenir l'animal dans un état sédaté et analgésié, avec des paramètres physiologiques stables, et d'induire, de manière contrôlée, une dynamique corticale particulière.

Chaque neurone était enregistré, simultanément avec un ECoG de surface, dans un état de bruit synaptique spécifique. Différentes stimulations intracellulaires (échelons de courant dépolarisant et hyperpolarisant) étaient appliquées afin de quantifier diverses propriétés électriques neuronales : profil temporel, variabilité et valeur moyenne du potentiel membranaire, résistance et constante de temps membranaires, relation $I-V$, fonction de transfert et variabilité statistique dans le taux et le profil temporel de décharge. Tout en conservant les mêmes enregistrements (ECoG et intracellulaires), l'activité synaptique était abolie par l'injection d'une dose élevée de pentobarbital et les mêmes paradigmes de stimulations étaient appliqués afin de quantifier, dans la situation isoélectrique, les paramètres neuronaux, préalablement extraits en condition contrôle. A partir des différences observées dans ces paramètres, entre la condition « éveil », « sommeil » et isoélectrique, nous avons pu inférer les fonctions distinctes et spécifiques des différents bruits synaptiques.

3-2.2 Principaux résultats

Nous avons montré au cours de cette étude qu'un bruit synaptique de type « éveil » induisait, dans les cellules pyramidales des couches profondes du cortex somatosensoriel, un potentiel membranaire en moyenne plus dépolarisé qu'en présence d'un bruit synaptique rythmique de type « sommeil », avec néanmoins des fluctuations de plus faibles amplitudes (voir Article 2, Figure 1, 2). Les neurones soumis à un bruit de type « éveil » avaient une fréquence de décharge soutenue, comparable à celle enregistrée dans les cellules pyramidales des couches profondes du même cortex chez le rat éveillé (De Kock et Sakmann, 2009). Par ailleurs, leur résistance membranaire était significativement plus faible comparée à celle mesurée en présence d'activité spontanée de type « sommeil ».

La comparaison des relations $F-I$ a montré que l'excitabilité neuronale, quantifiée par la valeur du courant seuil, était similaire dans les deux conditions d'activité synaptique spontanée mais que le gain de la relation entrée-sortie était plus élevé en présence d'un patron d'activité de type « éveil ». Ainsi, la réponse des neurones pour de faibles entrées excitatrices n'était pas différentiellement modulée par les deux types de bruit mais la condition « éveil » induisait un accroissement plus important du taux de décharge lors de l'application de stimuli d'intensité croissante (voir Article 2, Figure 2).

Quel que soit l'état contrôle (type « éveil » ou « sommeil »), l'injection systémique de fortes doses de pentobarbital provoquait une abolition progressive des activités spontanées dans les enregistrements ECoG et intracellulaires, conduisant à l'établissement d'un état isoélectrique (voir Article 2, Figure 3). Cet état totalement silencieux était présent dans tous les neurones enregistrés, y compris les neurones thalamiques, ce qui suggérait un arrêt complet des activités électrophysiologiques spontanées corticales et sous-corticales. L'état isoélectrique avait pour conséquence d'hyperpolariser le potentiel membranaire, confirmant l'hypothèse selon laquelle le bruit synaptique a un effet globalement dépolarisant sur les neurones (Bernander et coll., 1991 ; Paré et coll., 1998, Destexhe et coll., 2001). En revanche, nous avons montré que l'arrêt des activités synaptiques spontanées, censé réduire considérablement la conductance membranaire globale (Paré et coll., 1998 ; Destexhe et Paré, 1999 ; Sachdev et coll., 2004 ; Haider et coll., 2006 ; Reig et coll., 2015), n'induisait pas de changement significatif dans la résistance membranaire (voir Article 2, Figure 4).

Un fait expérimental majeur obtenu au cours de cette étude est que les neurones corticaux étaient toujours excitables, i.e. capable de décharger des PA lors d'une stimulation au niveau du soma, en l'absence totale d'activité spontanée. Ce résultat était déjà inattendu

car l'état isoélectrique cérébral, considéré comme une forme extrême de coma aréactif, était censé abolir les propriétés d'excitabilité des neurones corticaux (Ferron et coll., 2009). Nous avons donc pu comparer les relations $F-I$ d'un même neurone en présence et en absence d'activité synaptique spontanée. Nous avons montré que la suppression des activités synaptiques spontanées avait un effet soustractif sur la fonction de transfert, s'exprimant par un glissement vers la droite de la relation $F-I$ (voir Article 2, Figure 5). Nous avons pu reproduire spécifiquement cet effet soustractif en hyperpolarisant les neurones en présence ou en absence de bruit synaptique, suggérant que l'intensité seuil pour activer les neurones était essentiellement contrôlée par la valeur moyenne du potentiel membranaire (voir Article 2, Figure 6).

Enfin, nous avons comparé la variabilité des décharges neuronales évoquées entre les trois états cérébraux (voir Article 2, Figure 7). Nous avons montré que la présence d'une activité synaptique spontanée de type « éveil » et « sommeil » introduisait, d'un essai à l'autre, une importante et similaire variabilité dans le taux et la structure temporelle de décharge. Dans l'état isoélectrique, privé de toutes activités spontanées, cette variabilité statistique des réponses neuronales disparaissait, les neurones corticaux se comportant alors comme de véritables horloges.

En résumé, notre étude montre que le bruit synaptique cortical, quelle que soit sa structure, est responsable d'une dépolarisation globale du neurone, d'un accroissement d'excitabilité intrinsèque, s'exprimant par une réduction du courant seuil d'activation et d'une haute variabilité dans la décharge neuronale (lors de stimulations itératives identiques) d'un point de vue quantitatif (nombre de PA) et temporel (séquence de décharge). Cependant, ce bruit synaptique ne semble pas affecter, au moins dans les neurones enregistrés dans notre étude et dans nos conditions expérimentales, ni la résistance, ni la constante de temps membranaires. L'activité synaptique de type « éveil » introduit un accroissement du gain neuronal comparé au mode « sommeil ». Enfin, les effets facilitateurs du bruit synaptique sur la sensibilité neuronale semblent résulter exclusivement de son effet dépolarisant global.

PERSPECTIVES

How neuronal computations depend on network state: another piece in the puzzle

Alain Destexhe

Unité de Neurosciences, Information & Complexité, Centre National de la Recherche Scientifique, Gif sur Yvette, France

Email: destexhe@unic.cnrs-gif.fr

Networks of neurons in the cerebral cortex operate in regime that are typically characterized by high levels of 'noise'. Contrary to many sources of noise in physical systems, the neuronal noise is generated for the most part internally, through the highly irregular nature of neuronal discharges, in awake animals in particular. It is still highly debated how neurons and populations of neurons make use of this internal noise and how important it is for neural computations.

In a very carefully carried out electrophysiological study, Altwegg-Boussac *et al.* (2014) identify an important piece in this puzzle by comparing, for the first time, the responsiveness of cortical neurons in different network states and for levels of noise (up to total suppression of activity) in the same neurons. By using intracellular recordings in rat barrel cortex *in vivo*, the authors examine the effect of suppressing network activity by systemic injection of high doses of anaesthetic. They compute the 'transfer function' of neurons in these different states, which is the first time this type of information has been available by comparing active network states with suppression of synaptic activity (it was previously shown by comparing Up and Down states; for example, see Shu *et al.* 2003). The main finding here is that the network activity does influence the transfer function of neurons quite drastically and changes their gain. This finding is not surprising and could be inferred from previous theoretical (Ho & Destexhe, 2000) and *in vitro* studies (Shu *et al.* 2003; see also further references and discussion in the Altwegg-Boussac *et al.* paper), but has not previously been demonstrated so clearly *in vivo*.

One surprise from these experiments, however, is that the apparent input

resistance (R_{in}) is surprisingly similar following suppression of network activity. This finding contrasts with previous measurements in cats, where it was found that the R_{in} is greatly modified by suppressing network activity (Paré *et al.* 1998). The same discrepancy was also found when comparing the R_{in} between Up and Down states, which is vastly different in cats (Paré *et al.* 1998; Rudolph *et al.* 2007), but is similar in rats (Zou *et al.* 2005; Waters & Helmchen, 2006). These results were interpreted as being due to the presence of intrinsic currents in the subthreshold regime which may not be present in cats. It may also be that the apparent lack of impact of network activity on the R_{in} was found in primary sensory areas in rats, while it was found in cats in association (parietal) cortex, so it may represent a difference between brain areas rather than between species. Future experiments should shed light on this issue.

Furthermore, using light fentanyl anaesthesia, which induces low-amplitude, fast ('desynchronized') EEG activity similar to wakefulness, the authors found that cortical neurons display a depolarized membrane potential (around -65 mV), irregular firing and a low R_{in} . These findings are consistent with the 'high-conductance state' found in cats (reviewed by Destexhe *et al.* 2003). In such conditions, the transfer function was also different compared with the oscillatory (Up/Down) state typical of other anaesthetics. The high-conductance state confers more sensitivity in neurons, and this enhanced responsiveness is consistent with previous findings in cats (Destexhe *et al.* 2003).

Thus, the study by Altwegg-Boussac *et al.* (2014) provides very important data on how cortical neurons are affected by network activity. Together with previous studies, it shows that the responsiveness of cortical neurons must be considered with the appropriate 'context' and is completely dependent on network state. These findings have great consequences for computational models of network activity, which need to take into account the correct transfer function of neurons (a model with the wrong transfer function is very unlikely to make correct predictions). This study also highlights an interesting feedback between different neural scales, as the (global)

network activity impacts on the (local) cellular properties, which in turn may influence the global scale. Understanding such interactions also constitutes a nice challenge for theoreticians.

References

- Altwegg-Boussac T, Chavez M, Mahon S & Charpier S (2014). Excitability and responsiveness of rat barrel cortex neurons in the presence and absence of spontaneous synaptic activity *in vivo*. *J Physiol* **592**, 3577–3595.
- Destexhe A, Rudolph M & Paré D (2003). The high-conductance state of neocortical neurons *in vivo*. *Nat Rev Neurosci* **4**, 739–751.
- Ho & Destexhe A (2000). Synaptic background activity enhances the responsiveness of neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol* **84**, 1488–1496.
- Paré D, Shink E, Gaudreau H, Destexhe A & Lang EJ (1998). Impact of spontaneous synaptic activity on the resting properties of cat neocortical neurons *in vivo*. *J Neurophysiol* **79**, 1450–1460.
- Rudolph M, Pospisil M, Timofeev I & Destexhe A (2007). Inhibition determines membrane potential dynamics and controls action potential generation in awake and sleeping cat cortex. *J Neurosci* **27**, 5280–5290.
- Shu Y, Hasenstaub A, Badoual M, Bal T & McCormick DA (2003). Barrages of synaptic activity control the gain and sensitivity of cortical neurons. *J Neurosci* **23**, 10388–10401.
- Waters J & Helmchen F (2006). Background synaptic activity is sparse in neocortex. *J Neurosci* **26**, 8267–8277.
- Zou Q, Rudolph M, Roy N, Sanchez-Vives M, Contreras D & Destexhe A (2005). Reconstructing synaptic background activity from conductance measurements *in vivo*. *Neurocomputing* **65**, 673–678.

Additional information

Competing interests

None declared.

Funding

A.D was funded by CNRS and the European Community (BrainScales FP7-269921 and the Human Brain Project FP7-604102).

Excitability and responsiveness of rat barrel cortex neurons in the presence and absence of spontaneous synaptic activity *in vivo*

Tristan Altwegg-Boussac¹, Mario Chavez¹, Séverine Mahon¹ and Stéphane Charpier^{1,2}

¹Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, UPMC; INSERM U 1127; CNRS UMR 7225, Hôpital Pitié-Salpêtrière, F-75013, Paris, France

²UPMC Univ Paris 06, F-75005, Paris, France

Key points

- The brain continuously and endogenously generates electrical activities that fluctuate as a function of vigilance states.
- In cortical neurons, this spontaneous activity takes the form of complex synaptic barrages, with distinct temporal profiles and amplitudes during sleep and wakefulness.
- In this study, we explored *in vivo* how these two types of ongoing synaptic activities control the excitability and action potential responses of cortical neurons and analysed the subsequent effect of a complete suppression of brain electrical activity.
- We found that waking- and sleep-like activities facilitate similarly the integration of weak excitatory inputs and cause a similar trial-to-trial variability in firing patterns; compared to sleep-like pattern, the waking-type synaptic profile amplifies the neuronal gain to inputs of increasing magnitude.
- During the isoelectric brain state, neurons still fire action potentials in response to excitations but their sensitivity to weak inputs is reduced.

Abstract The amplitude and temporal dynamics of spontaneous synaptic activity in the cerebral cortex vary as a function of brain states. To directly assess the impact of different ongoing synaptic activities on neocortical function, we performed *in vivo* intracellular recordings from barrel cortex neurons in rats under two pharmacological conditions generating either oscillatory or tonic synaptic drive. Cortical neurons membrane excitability and firing responses were compared, in the same neurons, before and after complete suppression of background synaptic drive following systemic injection of a high dose of anaesthetic. Compared to the oscillatory state, the tonic pattern resulted in a more depolarized and less fluctuating membrane potential (V_m), a lower input resistance (R_m) and steeper relations of firing frequency *versus* injected current ($F-I$). Whatever their temporal dynamics, suppression of background synaptic activities increased mean V_m , without affecting R_m , and induced a rightward shift of $F-I$ curves. Both types of synaptic drive generated a high variability in current-induced firing rate and patterns in cortical neurons, which was much reduced after removal of spontaneous activity. These findings suggest that oscillatory and tonic synaptic patterns differentially facilitate the input–output function of cortical neurons but result in a similar moment-to-moment variability in spike responses to incoming depolarizing inputs.

S. Mahon and S. Charpier contributed equally to this work.

(Received 2 January 2014; accepted after revision 10 April 2014; first published online 14 April 2014)

Corresponding author S. Charpier: Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Hôpital Pitié-Salpêtrière, 47 Boulevard de l'hôpital, F-75013, Paris, France. Email: stephane.charpier@upmc.fr

Abbreviations AP, action potential; CV, coefficient of variation; ECoG, electrocorticogram; FDR, false discovery rate; Fent., fentanyl; FF, fano factor; $F-I$, firing frequency versus injected current; γ , gain; IB, intrinsic-bursting (neurons); I_{th} , current threshold; ISI, interspike interval; Pento., pentobarbital; R_m , membrane input resistance; RS, regular-spiking (neurons); TF, time-frequency; τ_m , membrane time constant; V_m , membrane potential.

Introduction

A remarkable feature of the cerebral cortex, evident from the first recordings of brain electrical activity, is the spontaneous occurrence of 'currents of varying direction' (Caton, 1875). This ongoing activity, which mainly originates from profuse intracortical synaptic connections (Braitenberg & Schüz, 1998; Destexhe *et al.* 2003), varies widely in amplitude and frequency as a function of the vigilance state and anaesthetic regime. Synaptic activity takes the form of synchronized low-frequency oscillations during slow-wave sleep and anaesthesia or appears as fast, apparently asynchronous, potentials during wakefulness (Steriade *et al.* 2001; Destexhe *et al.* 2003; Steriade, 2006). These dynamic changes in synaptic activity are presumed to modulate the responsiveness of cortical neurons in a state-dependent manner.

Previous intracellular recordings in the anaesthetized animal, suggest that cortical neuron responsiveness depends critically on the level of background synaptic activity. Spiking responses of cat visual cortex neurons to visual stimuli are strongly increased during periods of intense synaptic drive as compared to periods of low spontaneous activity (Azouz & Gray, 1999; Haider *et al.* 2007; Haider & McCormick, 2009). In contrast, the amplitude of synaptic events and the number of action potentials (APs) evoked in rat barrel cortex neurons by brief whisker stimuli is reduced during intense spontaneous activity (Petersen *et al.* 2003; Sachdev *et al.* 2004; Hasenstaub *et al.* 2007). This discrepancy might result from differential effects of the cellular correlates of ongoing synaptic drive, including the mean membrane potential (V_m), the variance of V_m fluctuations, neuronal input resistance (R_m) and the ratio of excitatory and inhibitory synaptic conductances (Destexhe *et al.* 2003; Haider & McCormick, 2009; Destexhe, 2010; Silver, 2010). Computational and *in vitro* studies have asked how cellular mechanisms modulate the transfer function of cortical neurons, which describes relations between inputs of varying amplitude and neuronal output defined as AP generation. In general, changes in V_m variance are expected to affect the gain of the input-output function, while changes in mean V_m and synaptic conductance are thought to control neuronal sensitivity to small inputs (Hô & Destexhe 2000; Chance *et al.* 2002; Shu *et al.* 2003). However, interactions between the different components

of synaptic activity may be complex, as emphasized by a recent study showing in the anaesthetized cat that an increase in V_m fluctuations combined with changes in mean V_m and R_m is needed to modulate the gain of the input-output function for visual cortex neurons (Cardin *et al.* 2008).

Here, we used a new experimental strategy to study how spontaneous synaptic activity affects neocortical neurons responsiveness *in vivo*. Combining electrocorticographic (ECoG) and intracellular recordings from rat barrel cortex, we compared the membrane excitability, global transfer function and firing dynamics of deep layers pyramidal neurons under two distinct background synaptic activities, characterized by either sustained tonic or rhythmic oscillatory pattern, and after complete interruption of spontaneous synaptic drive. Our findings indicate that both types of network activity increase the sensitivity of cortical neurons but differentially affect the neuronal gain. Despite their different temporal dynamics, oscillatory and tonic background synaptic barrages cause a similar variability in firing responses to depolarizing inputs.

Methods

Ethical approval

The care and experimental manipulation of the animals were carried out in accordance with the guidelines of the European Union (directive 2010/63/EU), approved by the Charles Darwin Ethical Committee on Animal Experimentation and complied with *The Journal of Physiology's* policies on animal research (Drummond, 2009).

Animal preparation and induction of the three brain states

Two- to three-month-old male Sprague-Dawley (Charles River, L'Arbresle, France) rats ($n = 40$) were initially anaesthetized by intraperitoneal injection of sodium pentobarbital (40 mg kg^{-1} ; Centravet, Plancoët, France) and ketamine (50 mg kg^{-1} ; Imalgène, Merial, France) for surgery. The animals were cannulated after incision of the trachea and placed in a stereotaxic frame. Incision and pressure points were repeatedly infiltrated with lidocaine (2%; Centravet, Plancoët, France). A small

craniotomy was made above the barrel field of the primary somatosensory cortex (S1BF; 7–8 mm anterior to the interaural line, 4.5–5.5 mm lateral to the midline; Paxinos & Watson, 1986), allowing simultaneous intracellular and ECoG recordings. Since our experiments required long-lasting, stable intracellular records, rats were then immobilized by intramuscular injection of gallamine triethiodide (40 mg, every 2h; Sigma, France) and artificially ventilated. After completing surgery, we switched to distinct anaesthetic regimes that produced two distinct patterns of cortical activity. In a first series of experiments, a slow oscillatory ECoG pattern at ~ 1 –6 Hz (Charpier *et al.* 1999; Mahon *et al.* 2001; see Figs 1A and 3Aa, left) was generated by repeated injections of sodium pentobarbital (10 – 15 mg kg $^{-1}$ h $^{-1}$; $n = 21$ rats, Pento. condition). Alternatively, small-amplitude, fast, tonic cortical activity (Mahon *et al.* 2001; Chipaux *et al.* 2013; see Figs 1B and 3Ba, left) was produced by repeated (every 20–30 min) injections of the narcotic fentanyl (3 μ g kg $^{-1}$, i.p.; Janssen-Cilag, Issy-les-Moulinaux, France; $n = 19$ rats, Fent. condition). For each anaesthesia condition, intracellular recordings were initiated only after the establishment of a specific (either tonic or oscillatory) and stable ECoG pattern. We first quantified the membrane excitability and input–output relationships of neocortical neurons in the presence of spontaneous synaptic activity associated with either of these states. During the course (30–60 min) of the control sessions, the stability of the electrophysiological parameters (see below) was recurrently checked. Then we injected an elevated, but infra-lethal, dose of sodium pentobarbital (Pento. condition, 89 ± 6 mg kg $^{-1}$, i.p., $n = 14$ rats; Fent. condition, 144 ± 20 mg kg $^{-1}$, i.p., $n = 11$ rats). This injection progressively abolished spontaneous neuronal firing and so suppressed synaptic inputs permitting measurements of excitability and input–output relationships during iso-electric neuronal state. Rats were continuously monitored using the MouseOx system (Starr Life Sciences Corp., Pittsburgh, PA, USA) to ascertain that vital signs were kept within a physiological range (Wolfensohn & Lloyd, 1998). During control periods, the peripheral oxygen saturation (S_pO_2) ranged between 95 and 98% and the heart rate between 300 and 400 beats min $^{-1}$. These values were not affected by more than 10% during brain electrical silence. Body temperature was maintained at $37 \pm 1^\circ\text{C}$ using a heating pad.

Electrophysiological recordings

Ongoing ECoG activity was recorded using a low impedance (~ 60 k Ω) silver electrode delicately placed on the dura above the barrel cortex with a reference electrode inserted in a muscle at the opposite side of the head. Surface cortical signals were amplified by a differential AC amplifier (Model 1700; A-M Systems, Sequim, WA, USA),

filtered at 1 Hz–10 kHz and digitized at 1–3 kHz (CED 1401plus; Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK). Intracellular recordings were made close (<300 μm) to the ECoG electrode using glass micropipettes filled with 2 M potassium acetate (50–70 M Ω). Current-clamp recordings were amplified using an Axoclamp 2B amplifier (Molecular Devices, Union City, CA, USA) operating in bridge mode, filtered at 3 kHz and digitized at 15–20 kHz. Recordings were obtained from layer 5/6 pyramidal neurons ($n = 48$), identified on the basis of their characteristic electrophysiological properties (Gutnick & Crill, 1995; Steriade, 2004; Mahon & Charpier, 2012; see Results) and located at depths of 894–2511 μm below the cortical surface (Hall & Lindholm, 1974; Wilent & Contreras, 2004). All data were acquired and analysed using Spike2 software (Spike2 version 6.01; Cambridge Electronic Design). Additional data analysis was performed using Origin 8.1 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

Analysis of intracellular recordings and quantification of the neuronal transfer function

The voltage threshold for action potential (AP) generation was defined as the membrane potential at which dV/dt exceeded 10 V s $^{-1}$ (Fricker *et al.* 1999; Mahon & Charpier, 2012). AP amplitude was measured as the potential difference between the voltage threshold and the peak from averages of 10 waveforms. AP duration was measured as the time between the voltage threshold and the return to the same membrane potential value. The spontaneous firing rate of cortical neurons and the coefficient of variation (CV) of inter-spike intervals (ISIs) were calculated from continuous records of 10 s or more. The measurement of CV values was restricted to neurons having a mean firing rate exceeding 1.5 Hz (Mahon *et al.* 2006). Average V_m values were calculated as the mean of the distribution of spontaneous membrane potential fluctuations recorded over 10 s. They were corrected by subtracting the extracellular tip potential measured immediately after termination of the intracellular recording.

Apparent membrane input resistance (R_m) was calculated from the averaged ($n \geq 20$) hyperpolarizing voltage response to the injection of small, negative current pulses (-0.4 nA, 100–200 ms duration, applied every 0.55–2.25 s). Measurements of voltage drops were made at the end of the membrane capacitance charge to avoid any interference with a hyperpolarization-activated depolarizing sag (see Fig. 4Aa), probably due to I_h (Pape, 1996). In some neurons ($n = 18$), we constructed voltage–current (V – I) relationships from membrane potential drops evoked by hyperpolarizing current pulses of varying intensity (-0.2 to -0.8 nA; 100–200 ms duration; every 0.55–2.25 s; $n \geq 20$). Once the linearity

of the V - I relations was attested, R_m was calculated by measuring the slope of the corresponding linear fit (see Fig. 4A). The rectification ratio was defined as the ratio of R_m values in response to current pulses of -0.2 and -0.8 nA. The membrane time constant (τ_m) was derived from an exponential decay fit applied to the initial phase of the current-induced hyperpolarization.

The pyramidal cell transfer function, i.e. the rate-coded output firing as a function of excitatory inputs of increasing magnitude (Silver, 2010), was quantified in the presence and absence of ongoing cortical activity as the relation between the intensity of intracellularly injected currents and firing responses (F - I relationships) (Paz *et al.* 2009; Mahon & Charpier, 2012). The firing rate was measured in response to depolarizing current pulses of increasing intensity (200 ms, 0.1–2 nA) with an inter-stimulus interval of 1.25–2.25 s. Each current intensity was applied 20–25 times and corresponding firing responses were averaged. As previously (Paz *et al.* 2009; Mahon & Charpier, 2012), linear regressions were applied to F - I curves to determine the threshold current for AP generation (I_{th}), extrapolated as the x -intercept of the linear fit, and the neuronal gain (γ), defined as the slope of the F - I curve (see Fig. 2C). Since we limited current-evoked firing to frequencies less than ~ 50 Hz, in order to avoid possible activity-dependent intrinsic plasticity (Daoudal & Debanne, 2003; Mahon & Charpier, 2012) that might alter neuronal excitability in the course of recordings, saturation in the neuronal F - I relationships was not calculated.

We further compared the temporal dynamics and trial-to-trial variability of the current-evoked firing in the presence and absence of spontaneous synaptic events. First, to estimate the temporal variability of AP discharge during a train, we used the CV2 method, which is independent of variations in average firing rates (Holt *et al.* 1996). Assuming that APs in a train occur at times t_i ($0 \leq i \leq N$), the inter-spike interval, ISI, can be defined as:

$$\Delta t_i = t_i - t_{i-1}.$$

We then calculated the CV2 of ISIs using the following equation:

$$CV2 = (2|\Delta t_{i+1} - \Delta t_i|) / (\Delta t_{i+1} + \Delta t_i).$$

In each neuron recorded before and after ongoing synaptic activity was suppressed, we measured the mean CV2 for a series of stimuli ($n = 20$ – 25 repeated current injections) that generated the same mean firing rate in both conditions. Reduced CV2 values reflect a decreased variability in ISI and an increased regularity in AP discharge. Second, to assess trial-to-trial variability in the number of current-evoked APs, we applied the Fano factor (FF) method (Teich, 1992). FF was calculated as

the variance of the number of evoked spikes, for a given intensity, divided by the corresponding mean number of spikes generated during the series of stimulations. As for the CV2, the FF was computed, in the presence and after suppression of spontaneous cortical activity, using depolarizing inputs that induced the same mean firing rate in both conditions.

Numerical values are given as means \pm SEM, unless stated otherwise. Statistical significance was assessed using paired and unpaired two-tailed Student's t tests, one-way ANOVA, or the non-parametric Wilcoxon signed rank test and the Mann-Whitney rank sum test when appropriate (SigmaStat version 3.5, Systat Software Inc., Erkrath, Germany).

Temporal dynamics and correlation of multiscale spontaneous activities

We first extracted the frequency content of cortical activity by analysing the spectral power density of coupled ECoG and intracellular potential records (10–30 s duration, normalized to zero mean and unitary variance). Frequency domain statistics were obtained in two steps: firstly, statistical differences (t test values) were derived for parameters of interest (power or cross-spectrum; see below); then, resulting p values were corrected for multiple testing. T -values difference maps were thresholded at $P < 0.05$ using two-tailed permutation tests, which randomly exchanged estimated values of power and cross-spectrum for each recording. We used exhaustive permutations (10000) to estimate the empirical distribution for a null hypothesis of no difference between the two conditions. Significance was tested by applying the false discovery rate (FDR) to correct for multiple comparisons over the entire frequency range (Genovese *et al.* 2002). In our case, the FDR controls for false detections of frequency bins of spectral power and cross-spectrum. Analyzing the outcome of spectral measures, the FDR, for a given q -level, states that $(1 - q) \times 100\%$ of the observations (frequency bins) are likely to be true. The FDR has been successfully applied in neuroimaging studies (Pantazis *et al.* 2005) and is less conservative than correction procedures such as the Bonferroni method.

Wavelet and power-spectrum analyses were made with custom-written functions in Matlab (MathWorks Inc). Time-frequency (TF) distributions were obtained using the wavelet transform. A signal $x(t)$ was convolved with a complex Morlet's wavelet function defined as:

$$w(t, f_0) = A \exp(-t^2/2\sigma_t^2) \times \exp(i2\pi f_0 t).$$

Wavelets were normalized and thus:

$$A = (\sigma_t \sqrt{\pi})^{-1/2}.$$

The width of each wavelet function ($m = f_0/\sigma_f$) was chosen to be 7; where $\sigma_f = 1/2\pi\sigma_t$.

TF contents were represented as the energy of the convolved signal:

$$E(t, f_0) = |w(t, f_0) \otimes x(t)|^2.$$

The degree of statistical association between two simultaneously recorded signals, was derived by estimating a classical cross-spectrum between them (Brillinger, 2001). Cross-spectrum, measures the linear correlation between two signals $x(t)$ and $y(t)$ across frequencies, and was estimated from the cross-spectral density between the two waveforms as follows:

$$S_{x,y} = \langle X_k(f) Y_k^*(f) \rangle.$$

where $X(f)$ and $Y(f)$ are the Fourier transforms of the k -th disjoint segment of signals $x(t)$ and $y(t)$ at frequency f , * indicates the complex conjugate, and $\langle \cdot \rangle$ denotes the averaging over a sufficiently large number of segments. Setting $x(t) = y(t)$ let us estimate the auto-spectrum and hence, the power of $x(t)$. To quantify the relative power of the different frequency bands in the two control brain states, we calculated the ratio of power and cross-spectrum average between the two conditions over all the frequencies and constructed the corresponding curves (Fig. 1C).

Results

Two modes of ongoing cortical activity

We made coupled records of spontaneous ECoG and intracellular activity from the barrel cortex, under two distinct anaesthetic regimes that induced distinct patterns of cortical network activity.

In agreement with previous studies, (Paré *et al.* 1998; Mahon *et al.* 2001; Mahon & Charpier, 2012), pentobarbital induced an ECoG activity dominated by rhythmic biphasic waves of fluctuating amplitude ($n = 21$ experiments; Fig. 1A, top record). As shown by the TF map (Figs 1A, top, and 3Aa) and power spectrum (Fig. 1Ca, left), the preferential frequency content of the ECoG was limited to the 1–6 Hz frequency band ($n = 21$). Consistent with these rhythmic ECoG oscillations, intracellular activity displayed large-amplitude recurring synaptic depolarizations (Figs 1A, bottom record, and 2D, inset). This oscillatory-like background synaptic activity resulted in a skewed unimodal distribution of V_m values (Fig. 2D, left), with a mean of -70 ± 0.9 mV ($n = 17$ neurons) and a variability (σ_{V_m}) ranging from 1.9 to 5.2 mV (mean $\sigma_{V_m} = 3.4 \pm 0.2$ mV, $n = 17$; Fig. 2D). These large compound synaptic events evoked firing in 16 out of 17 neurons, at a relatively low frequency (2.3 ± 0.6 Hz, range: 0.2–7.8 Hz, $n = 16$).

Measurement of CV values for neurons with a mean spontaneous firing rate exceeding 1.5 Hz indicated a high temporal irregularity ($CV = 0.84 \pm 0.07$, $n = 9$; Fig. 1A, bottom record). Spectral analysis revealed slow oscillations in membrane potential ($n = 17$ neurons; Fig. 1Ca, middle) at frequencies comparable to oscillations in the ECoG waves (Fig. 1Ca, left). This suggested a tight synchronization, in the low-frequency band, of spontaneous synaptic depolarizations within the cortical network.

ECoG activity induced by fentanyl ($n = 19$ experiments) had a lower amplitude (Mahon *et al.* 2001; Bruno & Sakmann, 2006; Polack & Charpier, 2006) than that observed under pentobarbital anaesthesia (Fig. 1A *versus* 1B, top records), and was apparently desynchronized. The related TF map (Figs 1B, top, and 3Ba) and power spectrum (Fig. 1Ca, left) indicated a broadband temporal pattern, with sustained periods of high frequency activity (Fig. 1B, top, and Ca, left). The statistical comparison of ECoG frequency content under the different anaesthetics showed that fast ECoG waves (27–50 Hz) predominated under fentanyl, whereas pentobarbital was associated with lower frequencies (3–19 Hz; $P < 0.05$; Fig. 1Ca and b, left, grey areas). Consistent with the ECoG under fentanyl, intracellular records from pyramidal cells showed rapid, irregular and small-amplitude voltage fluctuations (Figs 1B, bottom record, and 2D, inset), leading to a relatively narrow unimodal distribution of V_m values (Fig. 2D, orange line). The corresponding mean V_m (-66.5 ± 1 mV, $n = 20$ neurons) was significantly more depolarized than under pentobarbital ($P < 0.01$; Fig. 1A *versus* B; bottom records) with a smaller range of V_m fluctuations (mean $\sigma_{V_m} = 2.7 \pm 0.2$ mV, range: 1.4–4.4 mV, $n = 20$; $P < 0.05$; Fig. 2D, right). This background synaptic drive caused spontaneous firing in most neurons ($n = 15$ out of 20), with a mean frequency of 4.2 ± 1.0 Hz ($n = 15$) and a high temporal variability ($CV = 1.1 \pm 0.1$ Hz, $n = 11$ out of 15). These values were not significantly different from those measured under pentobarbital ($P > 0.1$ for each parameter). Spectral analysis of intracellular waveforms under fentanyl indicated higher power for frequencies in the range 24–50 Hz than under pentobarbital condition ($P < 0.05$; Fig. 1Ca and b, middle, right grey area). Conversely, slower membrane potential oscillations, at 4–10 Hz, predominated under pentobarbital ($P < 0.05$; Fig. 1Ca and b, middle, left grey area).

These distinct low- and high-frequency synaptic activities in cortical neurons under pentobarbital and fentanyl, respectively, were associated with specific frequency contents of simultaneously recorded ECoG waves. As shown by the cross-spectral analysis between V_m and ECoG signals in the two conditions, the degree of association was higher for frequencies below 7 Hz under pentobarbital ($P < 0.05$) and for the 28–50 Hz

band under fentanyl ($P < 0.05$; Fig. 1*A* and *B*, right, grey areas).

The shape, temporal profile and relative amplitude of ECoG and intracellular waveforms under pentobarbital and fentanyl were comparable to those observed in rodents during the early stages of slow-wave sleep (Steriade *et al.* 1993; Contreras & Steriade, 1996; Destexhe *et al.* 2003) and during the waking state (Steriade *et al.* 2001; Destexhe *et al.* 2003; Constantinople & Bruno, 2011), respectively (see Discussion).

Membrane excitability and transfer function of cortical neurons during the two patterns of synaptic activity

We next asked how synaptic input patterns generated by pentobarbital or fentanyl differentially affected membrane excitability and F – I relationships of cortical cells. Neurons recorded in the two conditions had similar AP properties, including duration (Pento., 1.30 ± 0.07 ms, $n = 17$; Fent., 1.20 ± 0.05 , $n = 20$; $P > 0.7$), amplitude (Pento.,

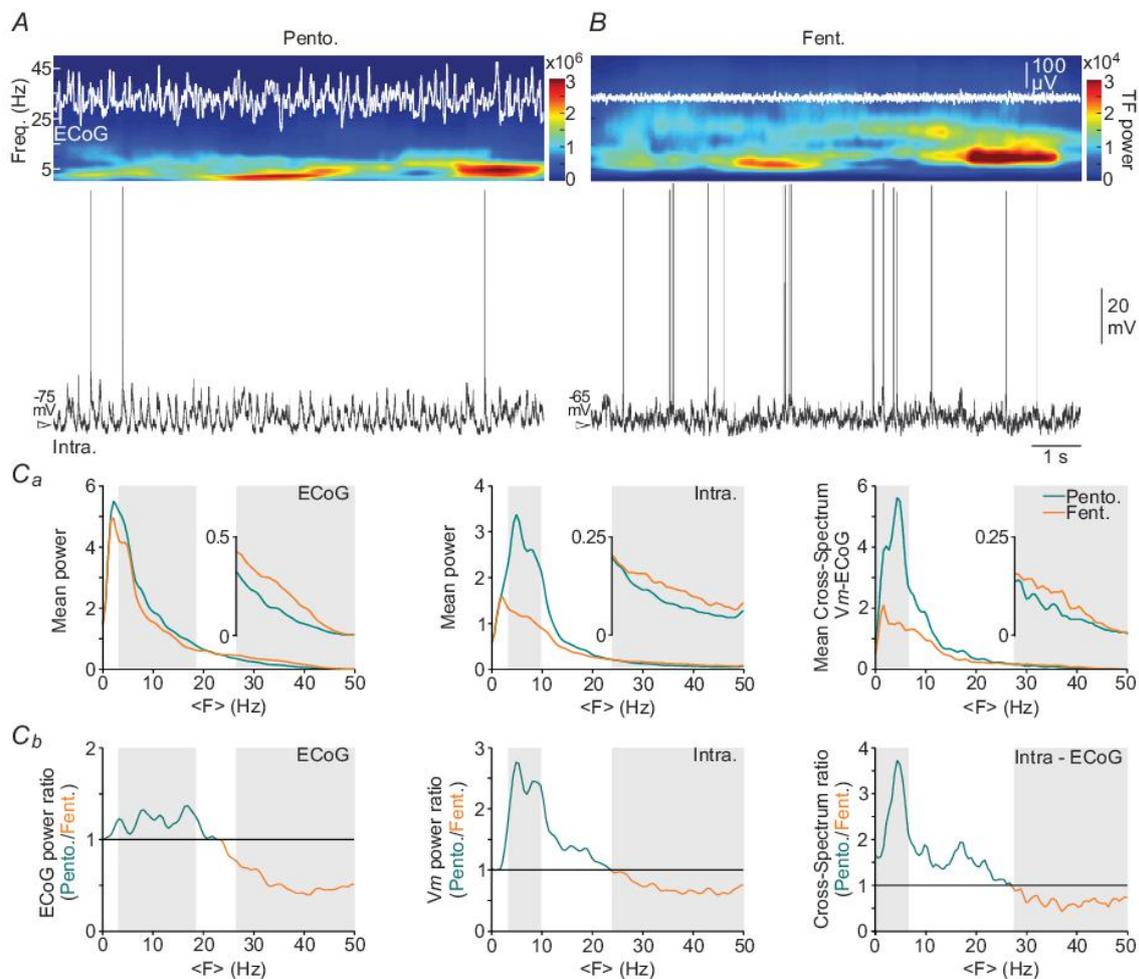
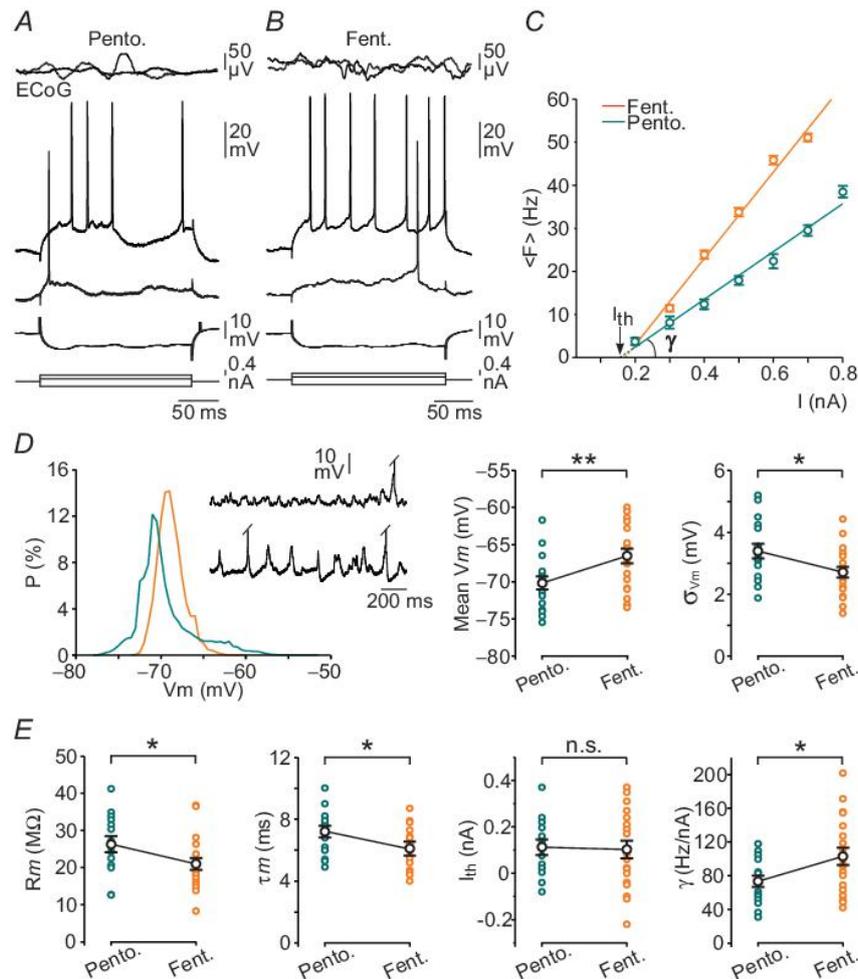


Figure 1. Temporal dynamics of ECoG and intracellular activities in the two cortical states

A and *B*, simultaneous recordings (10 s duration) of somatosensory ECoG (top) and intracellular (bottom) activities from layer 5 pyramidal neurons, under pentobarbital (*A*, Pento.) and fentanyl (*B*, Fent.) anaesthesia. Time–frequency (TF) analysis of ECoG signals (energy density for the 0–50 Hz band is depicted by colour scales) shows that the 1–6 Hz band was prominent under pentobarbital whereas fentanyl was associated with a broader frequency content, up to 25 Hz. *C*, quantitative comparison of temporal dynamics of electrophysiological signals recorded under pentobarbital (blue lines) and fentanyl (orange lines). *Ca*, averaged spectral power densities from normalized ECoG (left) and intracellular (middle) signals recorded under pentobarbital ($n = 17$) and fentanyl ($n = 19$). The right graph displays the mean cross-spectra analysis between intracellular (V_m) and ECoG signals in the two conditions. The grey areas delineate significant differences in spectral power (left and middle panels) and in cross-spectrum (right panel) between the two conditions. In each graph, the inset is an enlargement of the tail distribution. *Cb*, ratio of averaged spectral power densities and cross-spectra computed during pentobarbital versus fentanyl condition.

63.9 ± 1.5 mV, *n* = 17; Fent.: 66.0 ± 1.3 mV, *n* = 20; *P* > 0.2) and voltage threshold (Pento., -51.4 ± 0.7 mV, *n* = 17; Fent., -51.2 ± 0.6 mV, *n* = 20; *P* > 0.5). Layer 5/6 pyramidal cells display two preferential firing patterns in response to current injection (Gutnick & Crill, 1995; Steriade, 2004; Mahon & Charpier, 2012). We recorded from both regular-spiking (RS; Pento., *n* = 9; Fent., *n* = 16;

Figs 2*B* and 5*Ba*) and intrinsically bursting neurons (IB; Pento., *n* = 8; Fent., *n* = 4). The greater proportion of IB neurons recorded during the low-frequency oscillatory activity agrees with the pre-eminence of this firing mode during sleep (Steriade, 2004, 2006). *R_m* values of cortical neurons were significantly larger when measured during the oscillatory background pattern (*R_m* Pento,



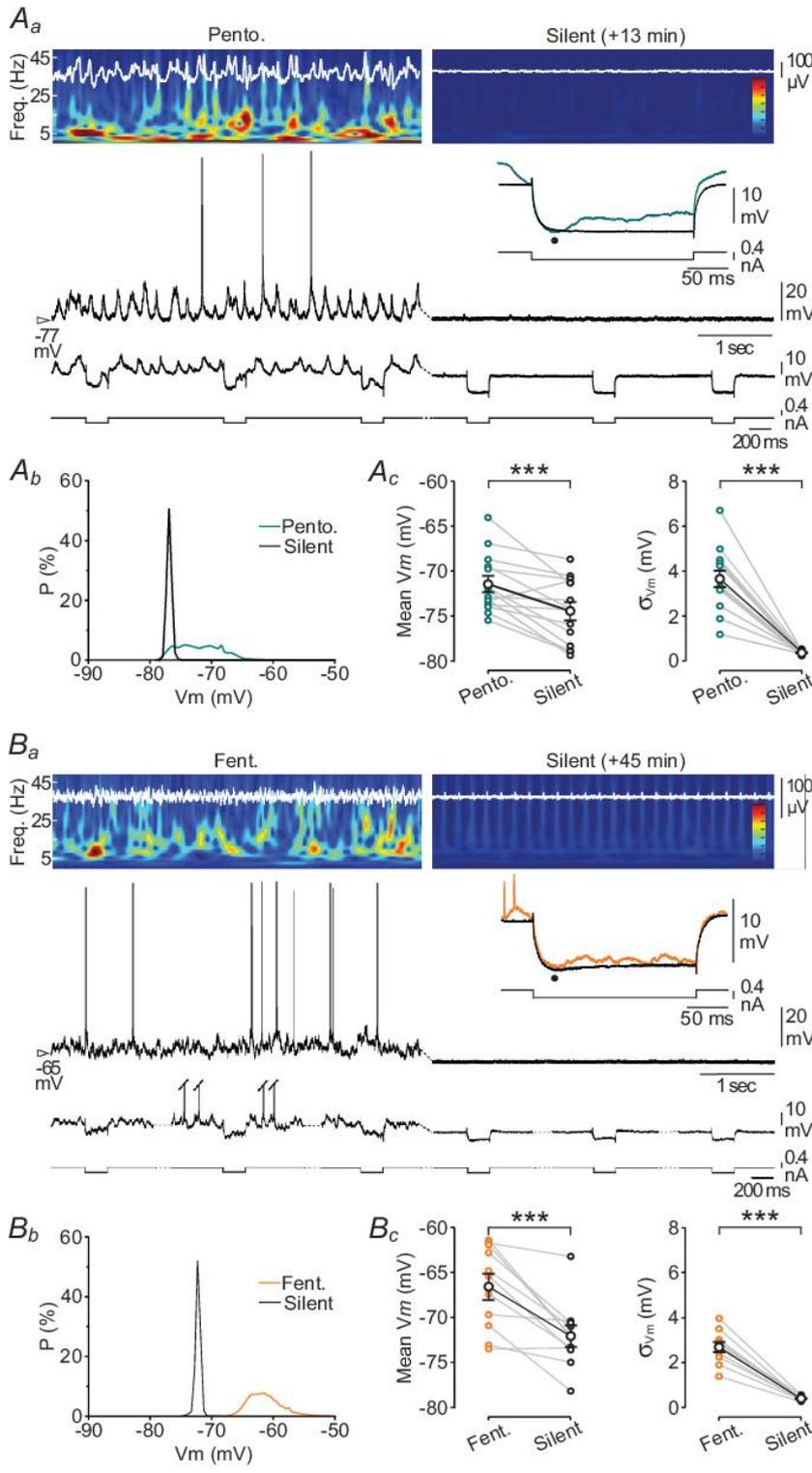


Figure 3. Impact of suppressing ongoing synaptic activities on neuronal membrane properties

A_a and *B_a*, simultaneous recordings of ECoG (top records) and intracellular activities (middle traces) during oscillatory (*A_a*) and tonic (*B_a*) synaptic patterns (left panels) and during subsequent isoelectric epochs (at the times indicated after the suppressive injection; Silent, right panels). ECoG records are aligned with the corresponding spectrograms. R_m was measured from voltage responses (lower intracellular records) to iterative, negative, current pulse injections (bottom traces). The insets show superimposed averaged responses ($n > 20$) obtained in the presence (blue and orange records) and absence (black records) of ongoing synaptic activity. The ohmic measurement of R_m was made at the time indicated by the dots under the traces. *Ab* and *Bb*, probability densities (P) of V_m values (bin size 0.5 mV, 10 s recordings) from neurons recorded during oscillatory (*Ab*, Pento.) and tonic (*Bb*, Fent.) cortical pattern and after suppression of synaptic activity (*Ab*, *Bb*, Silent). *Ac* and *Bc*, population data showing the mean V_m values and membrane potential fluctuations (σ_{V_m}) in neurons during oscillatory (*Ac*, Pento., $n = 14$) and tonic (*Bc*, Fent., $n = 11$) cortical patterns and during the subsequent interruption of synaptic inputs (*Ac*, *Bc*, Silent). Here and in similar figures, the grey lines correspond to individual experiments and the black lines indicate the corresponding mean values \pm SEM. Note the decrease in both parameters, whatever the initial synaptic pattern, when neurons were deprived of synaptic activity. *** $P \leq 0.001$. *A* and *B* are from two single neurons.

$26.3 \pm 2.1 \text{ M}\Omega$; $n = 17$) compared to the tonic synaptic activity (R_m Fent., $21.0 \pm 1.6 \text{ M}\Omega$; $n = 20$; $P < 0.05$; Fig. 2A versus B and E). Consistently, we found that τ_m was longer under pentobarbital anaesthesia (τ_m Pento., $7.2 \pm 0.4 \text{ ms}$; $n = 17$; τ_m Fent., $6.1 \pm 0.3 \text{ ms}$; $n = 19$; $P < 0.04$; Fig. 2A versus B and E).

We next assessed the transfer function of cortical neurons during oscillatory and tonic synaptic patterns by measuring the threshold input and the gain of $F-I$ relation.

During both cortical states, mean firing rate increased linearly with stimulus magnitude over the range of depolarizing current pulses tested (Fig. 2C). The threshold current values (I_{th}), extrapolated from the linear fits of $F-I$ relations (Mahon & Charpier, 2012; see Methods), were similar in the two conditions (I_{th} Pento., $0.11 \pm 0.03 \text{ nA}$; $n = 17$; I_{th} Fent., $0.10 \pm 0.04 \text{ nA}$; $n = 20$; $P > 0.8$; Fig. 2C and E) matching those calculated from deep layers pyramidal cells under the same anaesthetics (Mahon &

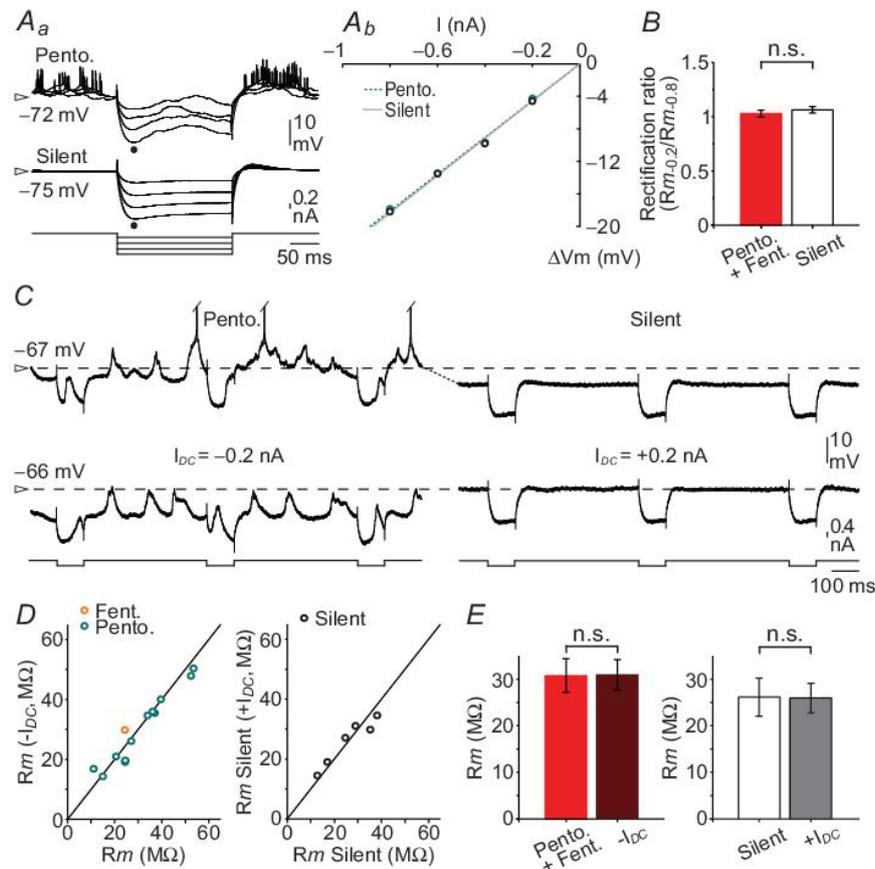


Figure 4. V_m shifts have no effect on the apparent input resistance of cortical neurons

A and B, neocortical neurons during active and silent states do not display membrane rectification in the hyperpolarizing direction. A, voltage responses (average of 20 successive trials) of a cortical neuron (top records) recorded in control under pentobarbital (Pento.) and after suppression of background activity (Silent) to intracellular injection of negative square current pulses of increasing intensity (bottom traces). Aa, measurements were made at the end of the membrane capacitance charge (\star) and before the development of a hyperpolarization-activated depolarizing sag potential. Ab, the corresponding $V-I$ relationships were best fitted by linear regressions in both conditions ($r > 0.99$, $P < 0.001$) with a similar slope (Pento., $22.6 \text{ M}\Omega$ versus Silent, $22.9 \text{ M}\Omega$). B, population data ($n = 18$ neurons) showing the rectification ratio in the two conditions. C–E, R_m values are not affected by DC manipulation of V_m . C, voltage responses (top records) of a neocortical neuron to injection of current pulses of -0.4 nA (lowest traces), in the presence of oscillatory synaptic activity (Pento., left) and during the subsequent isoelectric state (Silent, right). In each condition, V_m was displaced by DC injection (middle records) to match the level of membrane polarization of the reverse (active or silent) condition. D, population data, from active (left, $n = 13$) and silent (right, $n = 6$) neurons, comparing R_m values measured from rest and following DC injection. Note that all points are distributed along the equality line. E, corresponding pooled values of R_m at rest and during DC shift of V_m , in the presence (left) and absence (right) of background synaptic drive. n.s., non-significant.

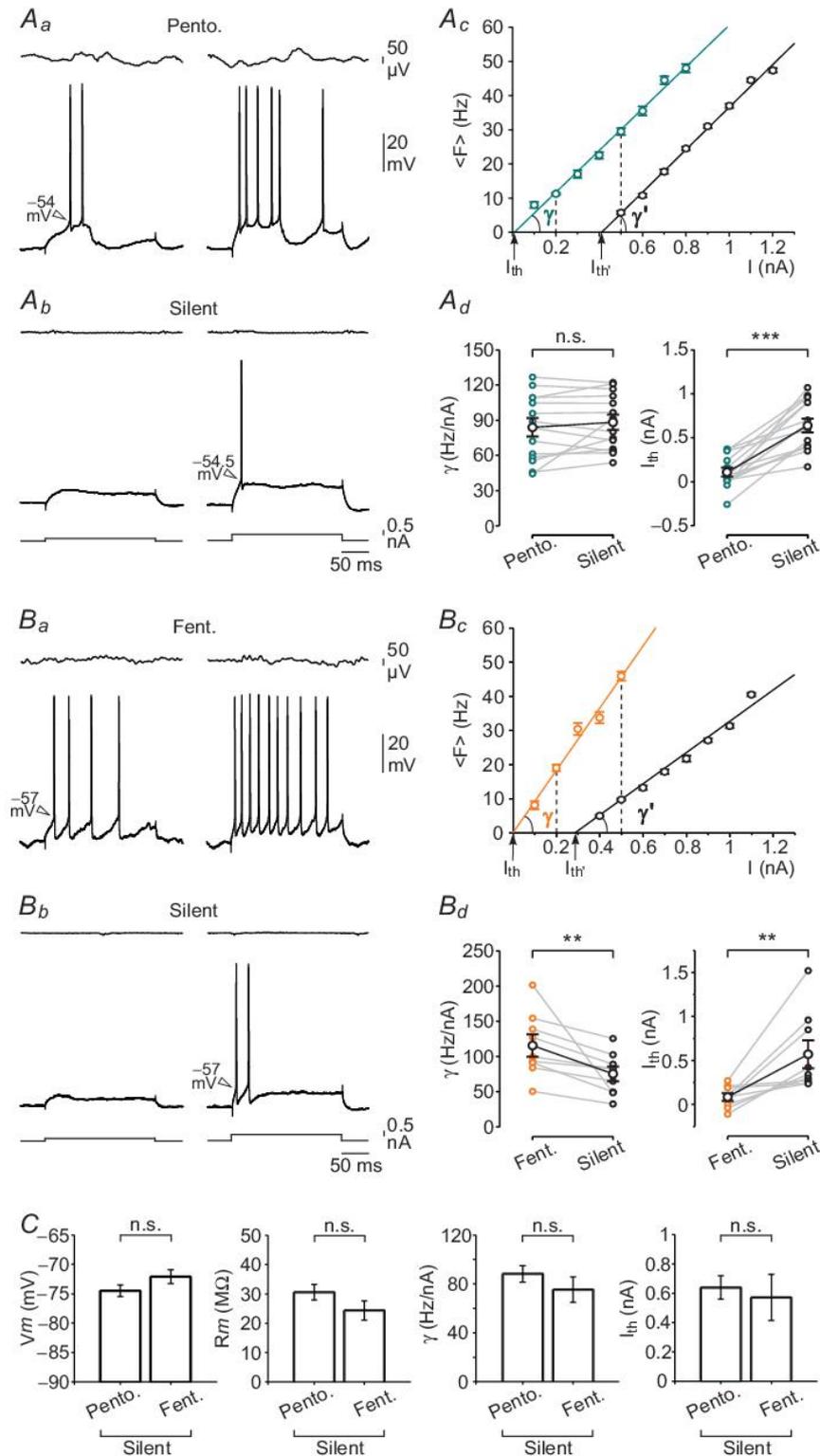


Figure 5. Suppressing spontaneous synaptic activity differentially alters neuronal transfer function depending on the initial cortical pattern

Charpier, 2012). Cortical neuronal gain was measured as the slope (γ) of F - I curves (Haider & McCormick, 2009; Silver, 2010; Mahon & Charpier, 2012). Gain values, highly variable between cells in both conditions (γ Pento. range, 31.1–117.9 Hz nA⁻¹, $\sigma_\gamma = 27.3$ Hz nA⁻¹, $n = 17$; γ Fent. range, 42.0–201.5 Hz nA⁻¹, $\sigma_\gamma = 44.4$ Hz nA⁻¹, $n = 20$), were on average significantly larger under fentanyl (γ Pento., 73.3 ± 6.6 Hz nA⁻¹, $n = 17$; γ Fent., 102.9 ± 9.9 Hz nA⁻¹, $n = 20$; $P < 0.03$; Fig. 2C and E). Thus, neuronal gain was enhanced by a factor of ~ 1.4 during the tonic synaptic activity, as compared to the oscillatory mode, causing a multiplicative change in the cortical transfer function without any change in the neuronal sensitivity.

Noticeably, we did not find any specific relation between the neuronal type (IB or RS) and the membrane excitability or the parameters of F - I curves in the two conditions of anaesthesia.

Effects of synaptic deprivation on electrical membrane properties of neocortical neurons *in vivo*

In a subset of experiments ($n = 25$), after a control recording period (30–60 min), during which excitability and transfer function of cortical neurons were quantified in the presence of ongoing synaptic activities, endogenous brain electrical activity was suppressed by systemic injection of a high dose of pentobarbital (see Methods), resulting in a deep comatose state. ECoG and intracellular activities were rapidly replaced by activity reminiscent of the burst-suppression pattern (Kroeger & Amzica, 2007; Ferron *et al.* 2009), characterized by periods of bursts of high-amplitude and low-frequency waves interrupted by flat electrical epochs (not shown). ECoG and intracellular signals then progressively slowed and attenuated in amplitude until all spontaneous activity was suppressed leading to an isoelectric profile of both signals (silent state; Fig. 3Aa and Ba, right). When initiated from an oscillatory (Pento., $n = 14$ experiments) or tonic (Fent., $n = 11$ experiments) cortical pattern, the silent state was reached ~ 14 min and ~ 30 min, respectively, after the injection of pentobarbital.

We first analysed the effect of suppression of background synaptic activity on V_m . Since, in the absence of synaptic inputs, the neuronal membrane may be clamped at potentials close to the equilibrium for Cl⁻ (Paré *et al.* 1998; Wilent & Contreras, 2004), we attempted to unmask residual GABA_A synaptic potentials by DC injection to displace V_m to values more negative or positive than this potential. No residual inhibitory synaptic components were detected (see Fig. 6Ba), showing that activity was completely suppressed within the cortical synaptic networks.

Suppressing spontaneous synaptic activity significantly hyperpolarized the mean V_m for neurons initially recorded under pentobarbital (Pento., -71.5 ± 0.9 mV *versus* Pento. – Silent, -74.5 ± 1.0 mV, $n = 14$ neurons, $P = 0.001$; Fig. 3Aa and c, left) and fentanyl (Fent., -66.6 ± 1.4 mV *versus* Fent. – Silent, -72.1 ± 1.1 mV, $n = 11$ neurons, $P < 0.001$; Fig. 3Ba and c, left). Mean σ_{V_m} values, which were 3.65 ± 0.4 mV and 2.7 ± 0.2 mV during the control pentobarbital ($n = 14$) and fentanyl ($n = 11$) conditions, respectively, were greatly attenuated when the isoelectric state was established (Pento. – Silent, 0.4 ± 0.02 mV, $n = 14$, $P < 0.001$; Fent. – Silent, 0.4 ± 0.03 mV, $n = 11$, $P < 0.001$; Fig. 3Ab and c and Bb and c).

Removing background synaptic activity from either initial state did not significantly alter the passive membrane excitability of cortical neurons. Before synaptic activity was suppressed, the mean values of R_m were 30.4 ± 2.2 M Ω ($n = 14$) and 22.8 ± 2.3 M Ω ($n = 11$) during the oscillatory and tonic synaptic pattern, respectively (Fig. 3Aa and Ba, insets). These values remained unchanged after suppression of spontaneous activity (Pento. – Silent, 30.6 ± 2.6 M Ω , $n = 14$, $P > 0.8$; Fent. – Silent, 24.3 ± 3.1 M Ω , $n = 11$, $P > 0.4$; Fig. 3Aa and Ba). Values of τ_m in the two cortical states (Pento., 7.4 ± 0.4 ms, $n = 14$; Fent., 6.9 ± 0.6 ms, $n = 11$) were not significantly changed either when network activity was interrupted (Pento. – Silent, 6.9 ± 0.5 ms, $n = 14$, $P > 0.07$; Fent. – Silent, 6.8 ± 0.7 ms, $n = 11$, $P > 0.9$; Fig. 3Aa and Ba, insets).

The lack of change in R_m after removal of network activity challenges the notion that an intense synaptic drive

A and B, input–output relations of neocortical neurons recorded during the two active states and after synaptic deprivation. Voltage responses to current injections in a neuron under oscillatory (Aa, Pento.) and tonic (Ba, Fent.) synaptic patterns, and in the absence of synaptic inputs (Ab, Bb, Silent). In A and B the top trace is the ECoG segment recorded with the current-evoked response. Arrowheads indicate the voltage spike threshold. Ac and Bc, neuronal F - I relations constructed during the two control conditions (Ac, Pento., blue line; Bc, Fent., orange line) and during synaptic deprivation (Ac, Bc, black lines). Note that F - I curve shifts to the right when synaptic inputs are suppressed and that neuronal gain is decreased when the control condition was induced by fentanyl (Bc). The dashed lines indicate illustrated responses. Ad and Bd, summary data showing values for γ and I_{th} in the control states (Ad, Pento., $n = 14$ neurons; Bd, Fent., $n = 9$ neurons) and after (γ' , I_{th}') suppressing synaptic activity (Ad and Bd, Silent). C, average values of V_m , R_m , neuronal gain (γ) and sensitivity (I_{th}) calculated from the silent period when synaptic activity was suppressed from either a pentobarbital ($n = 14$ neurons) or a fentanyl ($n = 9$ –11 neurons) control state. ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; n.s., non-significant. Aa–c and Ba–c are from two single neurons.

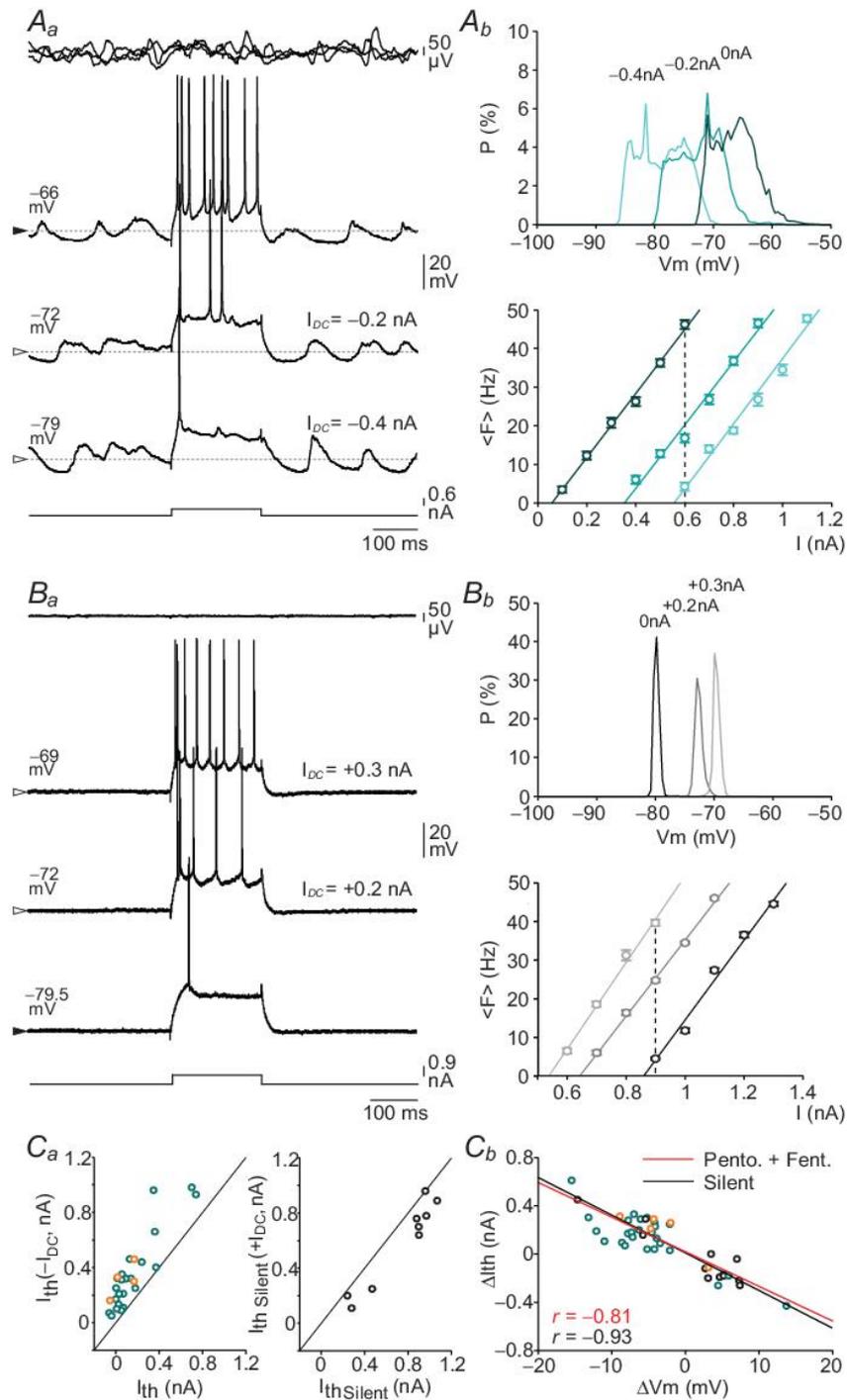


Figure 6. Dependence of F - I relations on the mean V_m value

A and B , lateral shifts of F - I relations during maintained changes of V_m under pentobarbital (A) and after suppressing synaptic inputs (B). A_a and B_a , examples of current-evoked (lowest traces) neuronal spike responses at rest (black arrowheads) and from two levels of DC-induced membrane polarization. The top records show the ECoG. The top graph in A_b and B_b shows probability densities (P) of V_m values (bin size 0.5 mV) during 10 s of spontaneous activity and the bottom graph illustrates related (colour-coded) F - I curves. C , group comparison of I_{th} values during DC manipulation of V_m . C_a , the left plot shows the relation between I_{th} values calculated in the presence of synaptic activity (Pento., $n = 23$ neurons, blue circles; Fent., $n = 4$ neurons, orange circles) and during

increases the total membrane conductance of neocortical neurons (Paré *et al.* 1998; Destexhe *et al.* 2003; Rudolph *et al.* 2007; see Discussion). Given that cortical neurons were significantly hyperpolarized during the silent state, it was possible that the activation of an inward rectifying voltage-gated conductance has compensated for the falling of synaptic conductance. To test this hypothesis, we first compared the V - I relationships in the presence and absence of spontaneous synaptic drive in the same neurons (Pento., $n = 12$; Fent., $n = 6$). As illustrated in Fig. 4A, V - I relationships were linear with a similar slope in both conditions (Fig. 4Ab). This further demonstrates that R_m , measured from the linear fit of V - I curves, was not affected by the suppression of synaptic activity (active states, $27.3 \pm 2.1 \text{ M}\Omega$ versus silent, $26.4 \pm 2.3 \text{ M}\Omega$, $n = 18$ neurons, $P > 0.3$). The lack of membrane rectification in the hyperpolarizing direction was confirmed by the values of rectification ratios, which were very close to one in the presence and absence of network activity (active states, 1.03 ± 0.03 ; silent, 1.06 ± 0.03 ; $n = 18$ neurons, $P > 0.3$; Fig. 4B). In a second set of experiments, we directly demonstrated that R_m was not altered in the range of V_m shifts induced by the synaptic deprivation. We compared, in active cortical neurons (Pento. + Fent., $n = 13$), the voltage responses evoked by negative current pulses (-0.4 nA) applied from rest ($V_m = -67.3 \pm 1.1 \text{ mV}$, $n = 13$), and during DC injection ($-0.22 \pm 0.03 \text{ nA}$, $n = 13$) setting the mean V_m values near to those reached during the isoelectric state ($-73.6 \pm 1.2 \text{ mV}$, $n = 13$; Fig. 4C, left). Single cell measurements and population data indicated that R_m values were not affected by the level of membrane polarization (Rest, $30.8 \pm 3.6 \text{ M}\Omega$ versus DC hyperpolarization, $30.8 \pm 3.7 \text{ M}\Omega$, $n = 13$; $P > 0.9$; Fig. 4D and E, left). Similar findings were obtained during silent states where neurons were depolarized by DC injection ($+0.18 \pm 0.02 \text{ nA}$, $n = 6$) to reach mean V_m values similar to those in control (Silent, $-70.8 \pm 0.5 \text{ mV}$ versus DC depolarization, $-63.4 \pm 1.3 \text{ mV}$, $n = 6$; Fig. 4C, right). R_m values calculated in the absence of network activity did not show significant modifications when changing V_m (Fig. 4D and E, right). Altogether, these results indicate that cortical neurons recorded in this study did not display substantial anomalous rectification and that background synaptic activity did not significantly contribute to the global membrane conductance as measured from intrasomatic recordings.

Neuronal transfer function after suppression of background synaptic activity

We next measured how removal of ongoing synaptic activity affected F - I relations of neocortical neurons in experiments ($n = 25$) in which passive membrane properties were defined in the presence and absence of spontaneous synaptic events.

When neurons were initially recorded under pentobarbital ($n = 14$), silencing of synaptic networks induced a substantial increase in the intensity of the threshold excitatory input with no major change in neuronal gain. The current threshold ($I_{th} = 0.11 \pm 0.05 \text{ nA}$; $n = 14$) was enhanced by 530% when synaptic activity was suppressed, reaching a value of $0.64 \pm 0.08 \text{ nA}$ ($n = 14$; $P < 0.001$; Fig. 5Aa-c and d, right). This was not accompanied by a significant change in AP voltage threshold (Pento., $-51.7 \pm 0.9 \text{ mV}$; Pento. - Silent, $-49.9 \pm 1.05 \text{ mV}$, $n = 14$; $P > 0.2$; Fig. 5Aa and b, arrowheads), indicating that the decreased excitability did not result from changes in mechanisms of AP generation. During oscillatory cortical activity, the slope of the F - I relations was $83.9 \pm 1.4 \text{ Hz nA}^{-1}$ ($n = 14$), a value that remained unchanged after removal of the spontaneous oscillatory synaptic activity (γ Pento. - Silent., $88.2 \pm 6.4 \text{ Hz nA}^{-1}$, $n = 14$; $P = 0.3$; Fig. 5Ac and d, left).

In contrast, removal of tonic synaptic drive affected both the sensitivity and the gain of cortical neurons ($n = 9$). The control γ value of F - I curves ($115.7 \pm 15.0 \text{ Hz nA}^{-1}$, $n = 9$) was decreased by 31.4% in the isoelectric state, reaching an average value of $75.4 \pm 9.8 \text{ Hz nA}^{-1}$ ($n = 9$; $P < 0.005$; Fig. 5Bc and d, right). Moreover, the absence of the sustained synaptic barrage significantly enhanced I_{th} (Fig. 5Ba-c), which switched from $0.09 \pm 0.04 \text{ nA}$ in control to $0.57 \pm 0.15 \text{ nA}$ ($n = 9$, $P = 0.007$) in the silent state (Fig. 5Bd, right). Again, this was not correlated with a significant change in the spike voltage threshold (Fent., $-51.1 \pm 1.1 \text{ mV}$, $n = 9$; Fent. - Silent: $-49.0 \pm 2.0 \text{ mV}$, $n = 9$; $P > 0.1$).

In the absence of either oscillatory or tonic synaptic patterns, cortical neurons show similar quiescent membrane properties and input-output relations, including V_m , R_m , gain and sensitivity (Fig. 5C; $P > 0.1$ for each parameter). Thus, the two types of anaesthetic procedures used in the present study did not themselves affect resting excitability and intrinsic responsiveness of cortical cells (see also Mahon *et al.* 2001).

DC hyperpolarization ($-I_{DC}$). Same representation in the right plot but for neurons ($n = 9$) deprived of synaptic drive (Silent) and experiencing subsequent DC depolarization ($+I_{DC}$). Cb, variation of I_{th} values (ΔI_{th}) with respect to changes in V_m (ΔV_m), in neurons recorded in the presence (Pento., $n = 26$, blue circles; Fent., $n = 5$, orange circles) and absence of background synaptic activity (Silent, $n = 12$, black circles). The corresponding coefficients of correlation (r) of linear regressions are given.

Lateral shifts of $F-I$ curves induced by DC manipulation of V_m during control and isoelectric states

The suppression of either pattern of synaptic activity induced a membrane hyperpolarization, correlated with a rightward sliding of $F-I$ relations with no significant change in R_m . Possibly then, the mean V_m value of neocortical cells, irrespective of the frequency and amplitude of spontaneous synaptic drive, may critically control the position of the input-output function along the x -axis after synaptic deprivation. We tested this hypothesis by constructing $F-I$ curves after DC manipulation of V_m during the oscillatory ($n = 26$ neurons) and tonic ($n = 5$ neurons) synaptic patterns and during synaptic deprivation ($n = 12$ neurons).

Figure 6A shows that DC hyperpolarization of a cortical neuron experiencing pentobarbital-induced synaptic oscillations (Fig. 6Aa) increased V_m fluctuations (Fig. 6Ab, top), as expected with an augmented driving force of synaptic currents. Current-evoked firing responses

were reduced and $F-I$ relations were shifted to the right with no change in neuronal gain (Fig. 6Ab, bottom). In 23 neurons tested, DC injection hyperpolarized the mean V_m from -69.4 ± 1.0 mV to -76.2 ± 5.8 mV, corresponding to a mean potential shift (-6.8 ± 0.7 mV, $n = 23$) close to that induced by synaptic deprivation (see Fig. 3Ac, left). $F-I$ relations during DC hyperpolarization in the presence of synaptic barrage revealed a systematic and marked increase in I_{th} ($I_{th} = 0.16 \pm 0.05$ nA, $I_{th}(-I_{DC}) = 0.35 \pm 0.06$ nA, $n = 23$; $P < 0.001$; Fig. 6Ca, left, blue circles) whereas the neuronal gain was not significantly affected ($\gamma = 89.0 \pm 8.3$ Hz nA $^{-1}$, $\gamma(-I_{DC}) = 84.3 \pm 9.3$ Hz nA $^{-1}$, $n = 23$; $P > 0.1$). Similar findings were obtained from four neurons recorded under fentanyl. A mean DC hyperpolarization of -5.0 ± 1.4 mV ($V_m = -65 \pm 0.8$ mV, $V_m(-I_{DC}) = -70.0 \pm 1.9$ mV; $n = 4$ neurons) resulted in a robust augmentation of I_{th} ($I_{th} = 0.04 \pm 0.06$ nA, $I_{th}(-I_{DC}) = 0.31 \pm 0.06$ nA, $n = 4$ neurons; $P = 0.001$; Fig. 6Ca, left, orange circles) with no significant change in $F-I$ slope ($\gamma = 69.7 \pm 12.7$ Hz nA $^{-1}$, $\gamma(-I_{DC}) = 64.6 \pm 8.7$ Hz nA $^{-1}$, $n = 4$; $P > 0.6$).

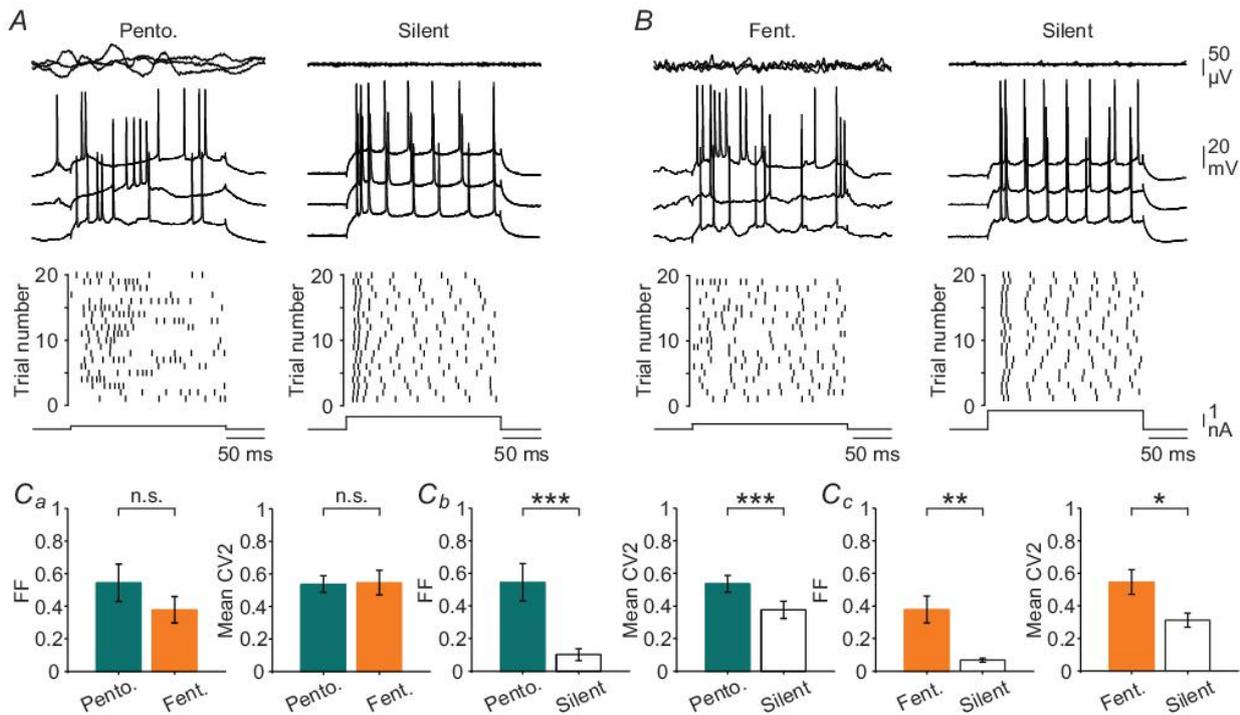


Figure 7. Reliability of cortical firing responses in the two control conditions of synaptic activity and in the absence of synaptic inputs

A and B, typical examples ($n = 3$) of current-induced spike responses in neurons recorded under pentobarbital (A, left) and fentanyl (B, left) and then during the silent periods (right panels). Raster plots of spike timing (20 successive trials) are shown below the records. In each condition, the intensity of current pulses (lowest traces) was adjusted to elicit a similar number of APs. Ca–c, pooled data comparing Fano factor (FF) values of spike counts and mean CV2 of ISIs between pentobarbital ($n = 13$ neurons) versus fentanyl ($n = 8$ neurons) condition (Ca), pentobarbital condition versus subsequent silent period ($n = 13$ neurons; Cb) and fentanyl condition versus subsequent silent period ($n = 8$ neurons; Cc). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; n.s., non-significant. Data in A and B are from two different neurons.

A similar dependence of I_{th} on the mean V_m value was also found in neurons in the absence of spontaneous synaptic events. Since V_m in the isoelectric state was hyperpolarized compared to the corresponding control conditions, we analysed $F-I$ relations obtained during DC depolarization ($n = 9$; Fig. 6Ba and b). In these experiments, neurons were initially recorded under either oscillatory ($n = 7$) or tonic ($n = 2$) synaptic regime. The depolarizing shift of V_m , from -74.5 ± 1.3 mV to -69.4 ± 1.6 mV ($n = 9$), resulted in a leftward shift of $F-I$ curves (I_{th} Silent = 0.74 ± 0.11 nA, I_{th} Silent (+ I_{DC}) = 0.59 ± 0.11 nA, $n = 9$; $P < 0.001$; Fig. 6Ca, black circles) with a small increase in neuronal gain (γ Silent = 95.7 ± 7.5 Hz nA $^{-1}$, γ Silent (+ I_{DC}) = 116.5 ± 11.6 Hz nA $^{-1}$, $n = 9$; $P < 0.03$; Fig. 6Bb, bottom).

To further examine the dependence of I_{th} with respect to V_m , we compared in the presence and absence of ongoing synaptic barrage the relation between variations of I_{th} and positive and negative shifts of V_m . As shown in Fig. 5Cb, changes in I_{th} were strongly correlated with modifications in V_m , with a similar linear regression slope in the presence and absence of spontaneous activity (Fig. 6Cb; Pento., $n = 26$, blue circles; Fent., $n = 5$, orange circles; Silent, $n = 12$, black circles). Pooling all tested neurons ($n = 43$), I_{th} values were increased on average by 0.04 ± 0.004 nA per mV change, corresponding to an increase of 0.2 nA for a 5 mV hyperpolarization.

Reliability and regularity of firing responses in the presence and absence of ongoing synaptic barrage

Background synaptic activity, as well as modulating membrane excitability and affecting neuronal firing, may also influence the moment-to-moment variability in the timing and pattern of APs (Burns, 1968; Ermentrout *et al.* 2008; Civillico & Contreras, 2012). We thus examined variability of current-induced spike responses in the two control states and during synaptic silence. Measurements were made for stimulus intensities that elicited a similar mean firing rate (~ 38 Hz) in each condition, so the number and the temporal dispersion of evoked APs could be reliably compared in the different conditions (Fig. 7A and B).

When neurons were submitted to either oscillatory (Fig. 7A, left) or tonic (Fig. 7B, left) synaptic inputs, responses to repeated identical current pulses displayed a high trial-to-trial variability in both the rate and the temporal precision of APs. This changeability in the neuronal discharge could arise from the fluctuations of V_m at the time of current injection. However, we did not find any significant correlation between the V_m preceding the current pulse and the number of evoked APs ($r = 0.02$, $n = 6$ neurons) or their temporal distribution ($r = 0.1$,

$n = 6$ neurons; data not shown). The reliability of spike counts, assessed by measuring the FF, also varied between cells, ranging from 0.14 to 1.64 ($n = 13$ neurons) and from 0.09 to 0.68 ($n = 8$ neurons) during oscillatory and tonic synaptic activity, respectively. Comparison of pooled values calculated from the two states indicated similar variations in firing rate (Pento., FF = 0.54 ± 0.11 , mean firing frequency = 37.6 ± 2.9 Hz, $n = 13$; Fent., FF = 0.38 ± 0.08 , mean firing frequency = 38.2 ± 2 Hz, $n = 8$; $P > 0.2$; Fig. 7A, B and Ca, left). The temporal regularity of firing in the two control conditions was quantified by ISI variability across trials in the same subsets of neurons. Average CV2 of ISIs were similar in neurons recorded under oscillatory or tonic synaptic drive (Pento., mean CV2 = 0.54 ± 0.05 , $n = 13$; Fent., mean CV2 = 0.55 ± 0.07 , $n = 8$; $P > 0.9$), despite a large cell-to-cell variability (Pento., range: 0.22–0.88, $n = 13$; Fent., range: 0.28–0.87, $n = 8$ neurons; Fig. 7A, B and Ca, right). Moreover, the standard deviation of the first ISI (Pento., $\sigma_{1st\ ISI} = 13.4 \pm 2.8$ ms, range: 1.3–32.1 ms, $n = 13$; Fent., $\sigma_{1st\ ISI} = 12.7 \pm 2$ ms, range: 2.9–19.7 ms, $n = 8$; $P = 0.8$) and the last ISI (Pento., $\sigma_{last\ ISI} = 1 \pm 06.7$.8 ms, range: 3.4–31.9 ms, $n = 13$; Fent., $\sigma_{last\ ISI} = 13.3 \pm 2.7$ ms, range: 6–29.8 ms, $n = 8$ neurons; $P > 0.4$) were comparable in the two conditions.

Visual inspection suggested that the lack of reliability in the number and timing of evoked APs resulted, at least partly, from the fluctuating synaptic events occurring within the course of the current injections (Fig. 7A and B, left). In confirmation of this point, evoked firing became highly reproducible when neurons were deprived of synaptic inputs. In neurons initially recorded under pentobarbital, the trial-to-trial variability in spike count was considerably reduced after synaptic silencing (Pento., FF = 0.54 ± 0.11 , mean firing frequency = 37.6 ± 2.9 Hz; Pento. – Silent, FF = 0.10 ± 0.03 , mean firing frequency = 38.1 ± 2.8 Hz, $n = 13$; $P = 0.001$; Fig. 7A and B, left). A similar increase in the stability of current-evoked firing occurred for transitions from a tonic control pattern of activity (Fent., FF = 0.38 ± 0.08 , mean firing frequency = 38.2 ± 2 Hz; Fent. – Silent, FF = 0.07 ± 0.01 , mean firing frequency = 37.7 ± 1.8 Hz, $n = 8$; $P = 0.003$; Fig. 7 and Cc, left).

The low variation in the number of evoked APs in the absence of ongoing synaptic drive occurred together with an increased regularity of spike timing. The mean CV2 of ISIs, which was 0.54 ± 0.05 ($n = 13$) during oscillatory background activity, was reduced to 0.38 ± 0.05 ($n = 13$; $P < 0.001$) in the subsequent silent state (Fig. 7B and Cb, right). A similar increase in the repeatability of spike timing occurred when the transition to silence was made from a tonic pattern of synaptic inputs (Fent., mean CV2 = 0.55 ± 0.07 ; Fent. – Silent: mean CV2 = 0.31 ± 0.04 , $n = 8$; $P < 0.02$; Fig. 7B and Cc, right). Thus synaptic deprivation from either initial state induced

a similar increase in the reliability and precision of action potential firing ($P > 0.4$ for FF and mean CV2 values).

Altogether, these findings suggest that the two modes of ongoing cortical activity, despite their distinct oscillatory *versus* tonic patterns, produce comparable moment-to-moment variations in the rate and timing of APs evoked by incoming excitatory inputs.

Discussion

We have defined the excitability and input–output function of somatosensory cortical neurons *in vivo* during oscillatory and tonic synaptic activities and subsequent isoelectric periods. During the tonic, apparently desynchronized, synaptic pattern, cortical neurons displayed a more depolarized and less variable V_m , a lower R_m and a higher neuronal gain compared to the oscillatory condition. Suppression of background synaptic activities, irrespective of their initial temporal dynamics, increased cell polarization and caused a rightward shift of the $F-I$ curves. Neuronal gain was decreased during transitions from tonic activity to synaptic suppression. Manipulating V_m by DC injection partly reproduced the displacement of $F-I$ curves along the x -axis. A high trial-to-trial variability was evident in current-evoked firing responses under both activity regimes, but was much reduced when synaptic inputs were suppressed. Altogether, these results suggest that oscillatory and tonic synaptic activities differentially impact the transfer function of cortical neurons but cause a comparable moment-to-moment variability in spike response to incoming inputs.

Novelty and validity of the new experimental strategy

Most previous studies on how background synaptic activities influence the transfer function of neocortical neurons have been made *in vitro*, using the dynamic-clamp technique to inject fluctuating artificial synaptic conductances into neurons (Destexhe *et al.* 2003; Silver, 2010). Although this protocol can ‘recreate’ some characteristics of the spontaneous synaptic barrage naturally occurring *in vivo* (Destexhe *et al.* 2001, 2003; Silver, 2010), artificial conductance injection is usually restricted to the soma whereas real synaptic inputs are also distributed throughout neuronal dendrites. In a previous *in vivo* comparison of the integrative properties of cat neocortical cells in active and silent states (Paré *et al.* 1998), synaptic inputs were silenced by local micro-perfusion of tetrodotoxin thus precluding any comparison of $F-I$ relations. More recently, a study in the anaesthetized cat examined modulating effects of various modes of synaptic activity on input–output relations for visual cortex neurons (Cardin *et al.* 2008). Synaptic inputs with different dynamics were induced by distinct visual stimuli,

thus drastically differing from endogenously generated background synaptic activity.

To the best of our knowledge, the present study provides the first quantification of input–output relations in *the same cortical neuron* in the presence and absence of ongoing synaptic activity *in vivo*. ECoG patterns induced by pentobarbital and fentanyl mimic extreme cortical temporal dynamics associated with the sleep–wake cycle. Although the patterns of cortical activity induced by anaesthetics do not have the richness of those occurring during normal states of vigilance, they can capture the basic profiles of natural cortical rhythms and have therefore proven to be a necessary tool for *in vivo* investigations. Specifically, pentobarbital, systemically applied at moderate doses, induced a cortical pattern dominated by 1–6 Hz rhythmicity, closely resembling spindling activity detected during the early stages of sleep in rodents (Timo-Iaria *et al.* 1970; Gottesmann, 1992; Steriade *et al.* 1993; Destexhe *et al.* 2003; Mahon *et al.* 2006). Fentanyl, in contrast, is associated with a cortical activity comparable to the ‘activated’ waking pattern (Steriade *et al.* 2001; Destexhe *et al.* 2003). Indeed, ECoG activity induced by fentanyl is characterized by fast (up to 50 Hz) waves of small amplitude (Steriade *et al.* 2001; Destexhe *et al.* 2003; Constantinople & Bruno, 2011). Cortical cells displayed a depolarized (~ -65 mV) and less fluctuating V_m than during oscillatory activity and firing occurs irregularly (Baranyi *et al.* 1993; Steriade *et al.* 2001; Rudolph *et al.* 2007; Constantinople & Bruno, 2011). Finally, cortical neurons under fentanyl displayed lower values of R_m , consistent with the ‘high-conductance state’ characteristic of these neurons during wakefulness (Destexhe *et al.* 2003). Moreover, previous studies indicated that fentanyl sedation does not alter spontaneous firing activity in the rat somatosensory thalamo-cortical system (Bruno & Sakmann, 2006; Constantinople & Bruno, 2011) or the profile of sensory-evoked responses in barrel cortex neurons (Simons *et al.* 1992).

While pentobarbital may exert allosteric potentiating, agonistic or antagonistic effects on GABA-type A receptors for increasing doses (Muroi *et al.* 2009), it seems unlikely that levels of this anaesthetic, used here to induce the silent state, altered neuronal excitability by amplifying GABAergic synaptic signalling. We noted that ECoG waves and fluctuations in intracellular potentials disappeared with similar kinetics suggesting that both excitatory and inhibitory synaptic transmission were suppressed. In the isoelectric state, no neuronal firing occurred in the absence of stimuli and R_m values were constant rather than reduced as might occur during GABA_A receptor activation. As previously proposed (Lukatch & MacIver, 1996), it seems likely that systemic injection of pentobarbital produces successive effects at both network and cellular levels. Synaptic inhibition is certainly progressively enhanced, first reducing cortical neuronal firing and then effectively

depressing both excitatory and inhibitory synaptic transmission (Lukatch *et al.* 2005; Ferron *et al.* 2009), leading to the slowing of ECoG oscillations, burst suppression and, finally resulting in isoelectric activity.

Functional impact of oscillatory and tonic synaptic activities on cortical neurons

We showed that removing oscillatory or tonic spontaneous synaptic activity induced a membrane hyperpolarization and a rightward shift in $F-I$ relations. Subtractive or additive effects on neuronal input–output relations could also be obtained by DC manipulation during the two active states or the silent condition, suggesting that mean values of V_m , irrespective of ongoing synaptic activities, is a major cellular parameter governing the strength of excitatory input needed to induce firing. This agrees with previous work showing that the responsiveness of visual cortex neurons is strongly correlated with their level of membrane potential when stimulated (Azouz & Gray, 1999; Sanchez-Vives *et al.* 2000). Despite a depolarized V_m , cortical neurons experiencing tonic synaptic activity showed current threshold values similar to those of neurons experiencing an oscillatory synaptic pattern. This could result in part from a lower R_m during tonic synaptic drive, which would act to attenuate responses to small inputs (Barrett, 1975).

The reduced neuronal gain after suppression of tonic synaptic barrage indicates that this type of synaptic pattern not only changes the sensitivity of cortical neurons but also alters the neuronal responsiveness over a wide range of inputs. Moreover, the higher gain, lower R_m and shorter τ_m during this synaptic pattern could also tighten the temporal window in which inputs can be integrated to generate a spike (Rudolph & Destexhe, 2003; Azouz, 2005), a process that might allow cortical neurons to operate as coincidence-detectors during ‘activated’ states.

Previous *in vivo* investigations indicate that reduction of synaptic drive in association cortex neurons of the cat dramatically increases R_m (Paré *et al.* 1998; Destexhe & Paré, 1999; Rudolph *et al.* 2007) measured from the linear region of the $V-I$ curves (Destexhe & Paré, 1999), providing direct evidence that R_m modification was not due to intrinsic currents but has a synaptic origin. Other *in vivo* studies, performed in the rat somatosensory cortex, challenge these findings by showing that R_m is similar or lower during periods of low synaptic activity compared to intense synaptic drive (Zou *et al.* 2005; Waters & Helmchen, 2006), possibly due to anomalous rectification counterbalancing synaptic conductance changes (Waters & Helmchen, 2006). In our experiments, the lack of R_m changes after suppression of network activity did not result from the activation of an inward rectifying voltage-gated conductance. The discrepancy between these different *in vivo* studies could

result from species- and/or cortical region-dependent mechanisms that remain to be elucidated.

In agreement with previous findings (Burns, 1968; Arieli *et al.* 1996; Azouz & Gray, 1999), our data show highly variable responses of cortical neurons *in vivo* to repetitions of the same stimulus. The variability presumably resulted from the fluctuating background synaptic activity since the firing rate and pattern became extremely stable when synaptic activity was suppressed (see McCormick *et al.* 2003). We also showed a similar variability in spontaneous and evoked firing under slow oscillatory and fast tonic synaptic drive, which seems to oppose the idea that precise AP timing is most effectively controlled by fast V_m fluctuations (Mainen & Sejnowski, 1995; Nowak *et al.* 1997).

We thus propose that background synaptic activities, whatever their amplitude and temporal characteristics, facilitate the sensitivity of cortical neurons to incoming inputs via a depolarizing effect. However, the differential basic operations performed during waking- and sleep-type patterns could mainly result from gain modulation mechanisms.

Responsiveness of cortical neurons in the isoelectric brain

Exacerbated responses of cortical neurons have been described during deep anaesthesia generating the burst suppression ECoG pattern (Kroeger & Amzica, 2007). It was suggested that a further deepening of anaesthesia would lead to an isoelectric ECoG and completely suppress cortical excitability (Ferron *et al.* 2009). We have invalidated this assumption. Clinically, a persistent silence in the human electroencephalogram represents an irreversible coma, with all patients either dying or remaining in a vegetative state (Laureys, 2005; Husain, 2006). Such a cerebral silence may be reversible in the case of intoxication by nervous system depressant drugs or hypothermia (Laureys, 2005; Husain, 2006). We have shown that, even after a suppression of synaptic activity lasting for 2 h or more, cortical neurons can generate APs with appropriate dynamical changes in their firing response to stimulus of increasing intensity. This might lead to a re-evaluation of the neuronal functional state of the brain in deep coma or during apparent brain death.

References

- Arieli A, Sterkin A, Grinvald A & Aertsen A (1996). Dynamics of ongoing activity: explanation of the large variability in evoked cortical responses. *Science* **273**, 1868–1871.
- Azouz R (2005). Dynamic spatiotemporal synaptic integration in cortical neurons: neuronal gain, revisited. *J Neurophysiol* **94**, 2785–2796.

- Azouz R & Gray CM (1999). Cellular mechanisms contributing to response variability of cortical neurons *in vivo*. *J Neurosci* **19**, 2209–2223.
- Baranyi A, Szente MB & Woody CD (1993). Electrophysiological characterization of different types of neurons recorded *in vivo* in the motor cortex of the cat. II. Membrane parameters, action potentials, current-induced voltage responses and electrotonic structures. *J Neurophysiol* **69**, 1865–79.
- Barrett JN (1975). Motoneuron dendrites: role in synaptic integration. *Fed Proc* **34**, 1398–1407.
- Braitenberg V & Schüz A (1998). *Cortex: Statistics and Geometry of Neuronal Connectivity*. Springer, Berlin.
- Brillinger DR (2001). *Time Series: Data Analysis and Theory*. SIAM: Society for Industrial and Applied Mathematics.
- Bruno RM & Sakmann B (2006). Cortex is driven by weak but synchronously active thalamocortical synapses. *Science* **312**, 1622–1627.
- Burns D (1968). *The Uncertain Nervous System*. Edward Arnold Ltd, London.
- Cardin JA, Palmer LA & Contreras D (2008). Cellular mechanisms underlying stimulus-dependent gain modulation in primary visual cortex neurons *in vivo*. *Neuron* **59**, 150–160.
- Caton R (1875). The electric currents of the brain. *Br Med J* **2**, 278.
- Chance FS, Abbott LF & Reyes AD (2002). Gain modulation from background synaptic input. *Neuron* **35**, 773–782.
- Charpier S, Mahon S & Deniau JM (1999). *In vivo* induction of striatal long-term potentiation by low-frequency stimulation of the cerebral cortex. *Neuroscience* **91**, 1209–1222.
- Chipaux M, Vercueil L, Kaminska A, Mahon S & Charpier S (2013). Persistence of cortical sensory processing during absence seizures in human and an animal model: evidence from EEG and intracellular recordings. *PLoS One* **8**, e58180.
- Civillico EF & Contreras D (2012). Spatiotemporal properties of sensory responses *in vivo* are strongly dependent on network context. *Front Syst Neurosci* **6**, 25.
- Constantinople C & Bruno RM (2011). Effects and mechanisms of wakefulness on local cortical networks. *Neuron* **69**, 1061–1068.
- Contreras D & Steriade M (1996). Spindle oscillation in cats: the role of corticothalamic feedback in a thalamically generated rhythm. *J Physiol* **490**, 159–179.
- Daoudal G & Debanne D (2003). Long-term plasticity of intrinsic excitability: learning rules and mechanisms. *Learn Mem* **10**, 456–465.
- Destexhe A (2010). Inhibitory “noise”. *Front Cell Neurosci* **4**, 9.
- Destexhe A & Paré D (1999). Impact of network activity on the integrative properties of neocortical pyramidal neurons *in vivo*. *J Neurophysiol* **81**, 1531–1547.
- Destexhe A, Rudolph M, Fellous J M & Sejnowski TJ (2001). Fluctuating conductances recreate *in vivo*-like activity in neocortical neurons. *Neuroscience* **107**, 13–24.
- Destexhe A, Rudolph M & Paré D (2003). The high-conductance state of neocortical neurons *in vivo*. *Nat Rev Neurosci* **4**, 739–751.
- Drummond GB (2009). Reporting ethical matters in *The Journal of Physiology*: standards and advice. *J Physiol* **587**, 713–719.
- Ermentrout GB, Galán RF & Urban NN (2008). Reliability, synchrony and noise. *Trends Neurosci* **31**, 428–434.
- Ferron JF, Kroeger D, Chever O & Amzica F (2009). Cortical inhibition during burst suppression induced with isoflurane anesthesia. *J Neurosci* **29**, 9850–9860.
- Fricker D, Verheugen JA & Miles R (1999). Cell-attached measurements of the firing threshold of rat hippocampal neurones. *J Physiol* **517**, 791–804.
- Genovese CR, Lazar NA & Nichols T (2002). Thresholding of statistical maps in functional neuroimaging using the false discovery rate. *Neuroimage* **15**, 870–878.
- Gottesmann C (1992). Detection of seven sleep–waking stages in the rat. *Neurosci Biobehav Rev* **16**, 31–38.
- Gutnick MJ & Crill WE (1995). The cortical neuron as an electrophysiological unit. In *The Cortical Neuron*, eds Gutnick MJ & Mody I, pp. 33–52. Oxford University Press, Oxford.
- Haider B, Duque A, Hasenstaub AR, Yu Y & McCormick DA (2007). Enhancement of visual responsiveness by spontaneous local network activity *in vivo*. *J Neurophysiol* **97**, 4186–4202.
- Haider B & McCormick DA (2009). Rapid neocortical dynamics: cellular and network mechanisms. *Neuron* **62**, 171–189.
- Hall RD & Lindholm EP (1974). Organization of motor and somatosensory neocortex in the albino rat. *Brain Res* **66**, 23–38.
- Hasenstaub A, Sachdev RN & McCormick DA (2007). State changes rapidly modulate cortical neuronal responsiveness. *J Neurosci* **27**, 9607–22.
- Hô N & Destexhe A (2000). Synaptic background activity enhances the responsiveness of neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol* **84**, 1488–1496.
- Holt GR, Softky WR, Koch C & Douglas RJ (1996). Comparison of discharge variability *in vitro* and *in vivo* in cat visual cortex neurons. *J Neurophysiol* **75**, 1806–1814.
- Husain AM (2006). Electroencephalographic assessment of coma. *J Clin Neurophysiol* **23**, 208–220.
- Kroeger D & Amzica F (2007). Hypersensitivity of the anesthesia-induced comatose brain. *J Neurosci* **27**, 10597–10607.
- Laureys S (2005). Science and society: death, unconsciousness and the brain. *Nat Rev Neurosci* **6**, 899–909.
- Lukatch HS, Kiddoo CE & Maciver MB (2005). Anesthetic-induced burst suppression EEG activity requires glutamate-mediated excitatory synaptic transmission. *Cereb Cortex* **15**, 1322–1331.
- Lukatch HS & MacIver MB (1996). Synaptic mechanisms of thiopental-induced alterations in synchronized cortical activity. *Anesthesiology* **84**, 1425–1434.
- McCormick DA, Shu Y, Hasenstaub A, Sanchez-Vives M, Badoual M & Bal T (2003). Persistent cortical activity: mechanisms of generation and effects on neuronal excitability. *Cereb Cortex* **13**, 1219–1231.
- Mahon S & Charpier S (2012). Bidirectional plasticity of intrinsic excitability controls sensory inputs efficiency in layer 5 barrel cortex neurons *in vivo*. *J Neurosci* **32**, 11377–11389.
- Mahon S, Deniau JM & Charpier S (2001). Relationship between EEG potentials and intracellular activity of striatal and cortico-striatal neurons: an *in vivo* study under different anesthetics. *Cereb Cortex* **11**, 360–373.

- Mahon S, Vautrelle N, Pezard L, Slaght SJ, Deniau JM, Chouvet G & Charpier S (2006). Distinct patterns of striatal medium spiny neuron activity during the natural sleep–wake cycle. *J Neurosci* **26**, 12587–12595.
- Mainen ZF & Sejnowski TJ (1995). Reliability of spike timing in neocortical neurons. *Science* **268**, 1503–1506.
- Muroi Y, Theusch CM, Czajkowski C & Jackson MB (2009). Distinct structural changes in the GABA_A receptor elicited by pentobarbital and GABA. *Biophys J* **96**, 499–509.
- Nowak LG, Sanchez-Vives MV & McCormick DA (1997). Influence of low and high frequency inputs on spike timing in visual cortical neurons. *Cereb Cortex* **7**, 487–501.
- Pantazis D, Nichols T, Baillet S & Leahy R (2005). A comparison of random field theory and permutation methods for the statistical analysis of MEG data. *Neuroimage* **25**, 383–394.
- Pape HC (1996). Queer current and pacemaker: the hyperpolarization-activated cation current in neurons. *Annu Rev Physiol* **58**, 299–327.
- Paré D, Shink E, Gaudreau H, Destexhe A & Lang EJ (1998). Impact of spontaneous synaptic activity on the resting properties of cat neocortical neurons *in vivo*. *J Neurophysiol* **79**, 1450–1460.
- Paxinos G & Watson C (1986). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Sydney.
- Paz JT, Mahon S, Tiret P, Genet S & Delord B (2009). Multiple forms of activity-dependent intrinsic plasticity in layer V cortical neurones *in vivo*. *J Physiol* **587**, 3189–3205.
- Petersen CC, Hahn TT, Mehta M, Grinvald A & Sakmann B (2003). Interaction of sensory responses with spontaneous depolarization in layer 2/3 barrel cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 13638–13643.
- Polack PO & Charpier S (2006). Intracellular activity of cortical and thalamic neurones during high-voltage rhythmic spike discharge in Long-Evans rats *in vivo*. *J Physiol* **571**, 461–476.
- Rudolph M & Destexhe A (2003). Tuning neocortical pyramidal neurons between integrators and coincidence detectors. *J Comput Neurosci* **14**, 239–251.
- Rudolph M, Pospischil M, Timofeev I & Destexhe A (2007). Inhibition determines membrane potential dynamics and controls action potential generation in awake and sleeping cat cortex. *J Neurosci* **27**, 5280–5290.
- Sachdev RN, Ebner FF & Wilson CJ (2004). Effect of subthreshold up and down states on the whisker-evoked response in somatosensory cortex. *J Neurophysiol* **92**, 3511–3521.
- Sanchez-Vives MV, Nowak LG & McCormick DA (2000). Membrane mechanisms underlying contrast adaptation in cat area 17 *in vivo*. *J Neurosci* **20**, 4267–4285.
- Shu Y, Hasenstaub A, Badoual M, Bal T & McCormick DA (2003). Barrages of synaptic activity control the gain and sensitivity of cortical neurons. *J Neurosci* **23**, 10388–10401.
- Silver RA (2010). Neuronal arithmetic. *Nat Rev Neurosci* **11**, 474–489.
- Simons D, Carvell GE, Hershey AE & Bryant DP (1992). Responses of barrel cortex neurons in awake rats and effects of urethane anesthesia. *Exp Brain Res* **91**, 259–272.
- Steriade M (2004). Neocortical cell classes are flexible entities. *Nat Rev Neuroscience* **5**, 121–134.
- Steriade M (2006). Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neuroscience* **137**, 1087–1106.
- Steriade M, Nuñez A & Amzica F (1993). Intracellular analysis of relations between the slow (<1 Hz) neocortical oscillation and other sleep rhythms of the electroencephalogram. *J Neurosci* **13**, 3266–3283.
- Steriade M, Timofeev I & Grenier F (2001). Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *J Neurophysiol* **85**, 1969–1985.
- Teich MC (1992). Fractal neuronal firing patterns. In *Single Neuron Computation*, eds McKenna T, Davis J & Zornetzer SF, pp. 589–625. Boston.
- Timo-Iaria C, Negro N, Schmidek WR, Hoshino K, Lobato de Menezes CE & Leme da Rocha T (1970). Phases and states of sleep in the rat. *Physiol Behav* **5**, 1057–1062.
- Waters J & Helmchen F (2006). Background synaptic activity is sparse in neocortex. *J Neurosci* **26**, 8267–8277.
- Wilent WB & Contreras D (2004). Synaptic responses to whisker deflections in rat barrel cortex as a function of cortical layer and stimulus intensity. *J Neurosci* **24**, 3985–3998.
- Wolfensohn S & Lloyd M (1998). *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*, 2nd edn. Blackwell Science, Oxford.
- Zou Q, Rudolph M, Roy N, Sanchez-Vives M, Contreras D & Destexhe A (2005). Reconstructing synaptic background activity from conductance measurements *in vivo*. *Neurocomputing* **65**, 673–678.

Additional information

Competing interests

The authors declare no competing financial interests.

Author contributions

S.C., S.M., M.C. and T.A.B. designed research. T.A.B., S.M. and S.C. performed the experiments. T.A.B. and M.C. performed the analysis and T.A.B., M.C., S.M. and S.C. participated in the interpretation of the data. S.C. wrote the manuscript and T.A.B., M.C. and S.M. revised and improved it. All the authors have approved the final version of the manuscript.

Funding

This work was supported by grants from the Fondation de France, the Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale, the Pierre & Marie Curie University and the program 'Investissements d'avenir' ANR-10-IAIHU-06.

Acknowledgements

The authors would like to thank R. Miles and M. Pidoux for constructive discussions and helpful comments on the manuscript.

3-3 ARTICLE 3 : SENSORY-EVOKED CORTICAL RESPONSES IN HUMAN AND RAT DURING PERSISTENT ISOELECTRIC BRAIN STATE: AN EEG AND INTRACELLULAR INVESTIGATION

3-3.1 Rappel sur le contexte de la recherche

L'étude décrite ci-dessous est finalisée et fait l'objet d'une publication en cours de rédaction, c'est pourquoi elle est présentée en langue anglaise. Elle résulte d'un shift conceptuel dû à la découverte incidente, lors de l'étude précédente (Article 2), que l'excitabilité des neurones corticaux somatosensoriels, *i.e.* leur capacité à générer des potentiels d'action, est préservée au cours d'un état isoélectrique de longue durée. Cette observation inattendue nous a conduit à tester la capacité des mêmes neurones, et de la zone corticale dans son ensemble, à intégrer des informations sensorielles en absence d'activité synaptique endogène. Une observation effectuée au cours de la même période dans le service de réanimation neurologique indiquait chez un patient plongé dans un coma isoélectrique (pour des raisons thérapeutiques) une persistance de potentiels évoqués visuels dans l'EEG. Nous avons donc entrepris l'étude translationnelle, décrite ci-après, et dont l'objectif visait à confirmer cette observation et à préciser les propriétés neuronales sous-jacentes en utilisant notre préparation expérimentale de cerveau isoélectrique, mise au point chez le rat (Article 1). Les méthodes utilisées au cours de cette étude sont détaillées dans la section 2 « Matériel et méthodes ».

Sensory-evoked cortical responses in human and rat during persistent isoelectric brain state: An EEG and intracellular investigation.

Running title: Sensory-evoked responsiveness during isoelectric brain

Altwegg-Boussac Tristan¹, Fanny Grosselin¹, Schramm Adrien E.¹, Lecas Sarah¹, Chavez Mario¹, Navarro Vincent^{1,2}, Demeret Sophie³, Naccache Lionel^{1,4,5}, Baulac Michel^{1,2,5}, Mahon Séverine^{1,*} & Charpier Stéphane^{1,5,*}.

1. Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UPMC; INSERM U 1127, CNRS, UMR 7225, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, Hôpital Pitié-Salpêtrière, F-75013, Paris, France

2. Epilepsy Unit, Clinical Neurophysiology Department, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, F-75013, Paris, France

3. Intensive Care Unit of Neurology, Neurology Department, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, F-75013, Paris, France

4. Evoked potential Unit, Neurophysiology Department, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, F-75013, Paris, France

5. UPMC Univ Paris 06, F-75005, Paris, France

* S.M. and S.C. have co-supervised the study.

Corresponding author: Stéphane Charpier, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Hôpital Pitié-Salpêtrière, 47 Boulevard de l'hôpital, F-75013, Paris, France. E-mail: stephane.charpier@upmc.fr ; Phone number: +33157274240

Number of pages: 27

Number of figures: 7

Number of words for Abstract: 280

Keywords : isoelectric EEG, barrel cortex, evoked potential, *in vivo*, intracellular recordings, excitability

Abstract

An isoelectric profile is the most pejorative abnormality seen in the electroencephalogram (EEG). It reflects an interruption of endogenous synaptic activity in central neural networks and results in a complete dissolution of conscious processes. This electro-cerebral inactivity is associated with severe brain disorders, from hypothermia to long-lasting anoxia and participate to the diagnosis of cerebral death. It also occurs in a therapeutic context following the administration of high doses of barbiturate-derived drugs required to interrupt hyper-refractory status epilepticus. Isoelectric EEG activity is often considered as the hallmark of a fully unresponsive brain with a cessation of any electrophysiological neuronal function. The aim of this study was to investigate the responsiveness of the neocortex to sensory stimuli during a prolonged isoelectric EEG state and to identify the cellular and synaptic mechanisms underlying the cortical responses that may emerge from an electrically silent brain. Surprisingly, robust, and even exacerbated, sensory-evoked cortical potentials could be generated in patients experiencing thiopental-induced isoelectric EEG profile. We used a comparable pharmacological procedure to induce in rats a similar electro-cerebral inactivity and analyzed the sensory-evoked responses by the means of simultaneous electrocorticographic (ECoG) and intracellular recordings of cortical pyramidal neurons. As in human patients, large and highly reproducible sensory-evoked potentials were generated from a continuous isoelectric ECoG line. Intracellular recordings revealed that neocortical pyramidal cells remained excitable during cortical inactivity and could respond to sensory stimuli by complex synaptic potentials able to trigger action potentials. Sensory-evoked intracellular responses during the isoelectric state were delayed compared to control conditions and exhibited a higher time-to-time stability during iterative stimuli. Our findings demonstrate that cortical neurons and networks can integrate, process and possibly propagate sensory information during drug-induced electro-cerebral inactivity.

Introduction

The electroencephalogram (EEG) provides valuable information during electro-clinical investigation of patients with signs of acute or chronic cerebral suffering, including epileptic seizures, altered mental status and level of consciousness, toxic-metabolic encephalopathy, comas and suspected brain death (Laureys *et al.*, 2004; Noachtar & Rémi, 2009; Andraus & Alves-Leon, 2011; Lehembre *et al.*, 2012). Although EEG spatiotemporal patterns can guide and help to refine the diagnostic possibilities, they do not provide specificity in determining the etiology of the brain dysfunction, and it is hazardous to infer a specific profile of neuronal activity and level of excitability from a particular EEG pattern.

The most critical brain state, systematically associated with a complete dissolution of consciousness in all its dimensions, is represented by an isoelectric or flat ($< 10 \mu\text{V}$) EEG profile (Young, 2000; Husain, 2006; André-Obadia *et al.*, 2014), which is usually considered to result from a total cessation of ongoing synaptic activity and abolishment of neuronal excitability (Kroeger & Amzica, 2007; Ferron *et al.*, 2009). This electro-cerebral inactivity, included in the clinical criteria of brain death (Laureys, 2005), is often associated with irreversible comas when due to ischemic encephalopathy, traumatic head injury, tumor or long lasting anoxia (Trojaborg & Jorgensen, 1973; Husain, 2006). However, it can be temporally or totally reversed (Bental & Leibowitz, 1961; Chatrian *et al.*, 1996) when caused by hypothermia (Stecker *et al.*, 2001) or administration of elevated doses of central nervous system depressant medications, such as barbiturate-derived drugs (Bird & Plum, 1968; Ganes & Lundar, 1983; Chatrian *et al.*, 1996; Laureys, 2005). Drug-dependent isoelectric EEG can also be intentionally induced for therapeutic purpose in patients suffering from status epilepticus in order to protect the brain from deleterious consequences of persistent paroxysmal activity (Orlowski *et al.*, 1984; Rosenow & Knake, 2008; present study).

Cortical responses to sensory stimulations, as recorded by scalp EEG electrodes, are diversely affected during comas and altered states of consciousness, and is thought to be abolished during electro-cerebral inactivity (Domino *et al.*, 1963; Laureys, 2005). Challenging this general assumption, cortical event-related potentials could be recorded in response to various sensory modalities from human patients during the flat episodes of a deep-comatose EEG pattern composed by high-voltage slow waves separated by low-voltage activity (“Burst-Suppression profile”) (Jäntti *et al.*, 1994; Dan & Boyd, 2006). Other studies have reported the persistence of cortical responsiveness to somatosensory and visual stimuli

in humans exhibiting long-lasting isoelectric EEG episodes (Arfel, 1967; Trojaborg & Jorgensen, 1973; Stecker *et al.*, 2001). Finally, sensory-evoked cortical potentials, restricted to the early components of the evoked potential and presenting a delayed latency compared to responses induced on an active EEG, have also been observed during drug-induced silent EEG in the cat (Sutton *et al.*, 1982). These findings are consistent with our recent study demonstrating that intrinsic excitability of neocortical neurons is preserved during a complete interruption of ongoing synaptic activity resulting in flat EEG activity (Altwegg-Boussac *et al.*, 2014; Altwegg-Boussac *et al.*, *in press*).

The aim of the present study was to unveil, for the first time, the cellular and synaptic mechanisms underlying the sensory-evoked cortical responses that could persist during drug-induced isoelectric EEG status. We first demonstrated the possibility to generate sensory-evoked cortical potentials in patients exhibiting a long-lasting, thiopental-induced, isoelectric EEG profile. We then used a similar pharmacological procedure to induce in the rat the same electro-cerebral inactivity, without altering the other physiological parameters. We combined electrocorticogram (ECoG) and intracellular recordings from the whisker-related area of somatosensory cortex, during active and isoelectric ECoG episodes, and applied mechanical stimuli on the contralateral whiskers. As in humans, ample and reproducible sensory-evoked potentials could be evoked on an isoelectric ECoG line in the rat. Intracellular recordings further demonstrated that neocortical pyramidal cells are still excitable during enduring isoelectric EEG. In response to sensory stimuli, rat cortical neurons displayed complex synaptic potentials that could trigger action potentials, demonstrating that neurons can still process and propagate sensory information during electro-cerebral inactivity. Sensory-induced intracellular responses were however delayed compared to those induced during active baseline activity and exhibited a higher reliability during repetition of the same stimuli.

Materials and Methods

The methods relative to the preparation of animals, the electrophysiological recordings and the analysis of data are described in detail in the “Matériels et méthodes” section of this thesis.

Results

Comparison of sensory-evoked potentials recorded from healthy subject and human patients with isoelectric EEG

We made scalp EEG recordings from three patients, aged 17, 50 and 67 years, admitted to the Intensive Care Unit for status epilepticus refractory to medication. After many unsuccessful attempts to stop generalized seizures with antiepileptic (Valproate, Fosphenytoïne, Levetiracetam) and sedative drugs (Midazolam, Clonazepam, Propofol), high doses of sodium thiopental were further administrated to suppress cortical paroxysmal activity. This pharmacological procedure rapidly led to a persistent (1-5 days) isoelectric signal at each EEG electrodes location. This isoelectric EEG could be transiently interrupted by sparse spontaneous epileptiform spikes occurring at very low frequency (0.3 ± 0.09 Hz, $n = 5$ out of 20 recordings, $n = 3$ patients).

In 8 out of 20 recording sessions, we could record a clear-cut evoked potential in the EEG in response to different sensory modalities, while the corresponding spontaneous activity was completely abolished. Evoked-potentials were obtained following auditory, tactile and visual stimulations. To further characterize the cortical responses in isoelectric patients ($n = 8$ recording sessions), we applied triggered transient light flashes at different frequencies with a Xenon lamp (Chipaux *et al.*, 2013). Controlled visual stimulation generated a visual-evoked potential (VEP) in 3 out of 8 recording sessions. VEPs obtained during periods with spontaneous epileptiform spikes were not included in the analysis.

We compared the properties of VEPs generated in the occipital cortical area from a patient with isoelectric EEG activity (Fig. 1A, right; Iso.) with those recorded from a healthy awaked subject, using the same EEG configuration and recording device (Fig 1A, left; Awake). Averaged VEPs ($n = 50$ stimuli at 1 Hz) recorded from the occipital left electrode (O1) of the awaked subject, were composed, as classically described (Harding *et al.*, 1996; Odom *et al.*, 2004, 2010), by an early negative component (N1) occurring at 37.8 ± 0.7 ms ($n = 50$ VEPs), followed by a succession of positive and negative components (Fig. 1A, left). The peak latency of the maximum amplitude response was 155.5 ± 0.9 ms ($n = 50$ VEPs), corresponding to the third negative component (N3) of a standard VEP (Odom *et al.*, 2010). Averaged VEPs recorded from the patient with an isoelectric EEG profile displayed a striking different pattern (Fig. 1A, right). The first detectable component in O1 was inverted in polarity and significantly delayed (Iso., 94.8 ± 0.5 ms, $n = 50$ VEPs, $p \leq 0.001$) compared to

the control response (Fig. 1A, B). Moreover, its absolute magnitude was considerably increased (Awake, $4.4 \pm 14.1 \mu\text{V}$, $n = 50$ VEPs; Iso., $18.3 \pm 4.1 \mu\text{V}$, $n = 50$ VEPs, $p \leq 0.001$) in isoelectric condition (Fig. 1A, B). To further compare the visually-evoked cortical potentials between waking and isoelectric states, we measured different properties of the maximum-amplitude component of the responses in the two conditions. Again, we found that the largest response component was significantly delayed (Awake, 155.5 ± 0.9 ms, $n = 50$ VEPs; Iso., 213.2 ± 0.8 ms, $n = 50$ VEPs, $p \leq 0.001$) and its absolute amplitude was increased (Awake, $13 \pm 14.3 \mu\text{V}$, $n = 50$ VEPs; Iso., $302.6 \pm 13.3 \mu\text{V}$, $n = 50$ VEPs, $p \leq 0.001$) during the isoelectric state (Fig. 1A, B). Furthermore, a large-amplitude VEP could be recorded from all cortical areas in isoelectric condition, suggesting that visual information were propagated and amplified within cortical neural networks, but without functional specificity.

We next compared the trial-to-trial variability of VEP amplitude between the active and isoelectric states. The amplitude variability of the global visually-evoked cortical response (pooling together all components) was assessed by calculating the standard deviation of their mean amplitude calculated in both conditions. The variability of responses was considerably reduced in the isoelectric state compared to the waking state (Awake, σ VEP ampl. = $12.7 \pm 1 \mu\text{V}$, $n = 50$ VEPs; Iso., σ VEP ampl. = $6.3 \pm 1.7 \mu\text{V}$, $n = 50$ VEPs, $p < 0.01$) (Fig. 1A2, B). Altogether, these findings demonstrate that sensory-evoked cortical responses could persist in human after interruption of brain spontaneous activity following a massive injection of a depressant drug. The isoelectric state was accompanied by a robust augmentation in the amplitude of sensory-evoked cortical responses, together with an increase in their time-to-time reproducibility.

Induction of active and isoelectric cortical states in the rat

In order to elucidate the cellular and synaptic mechanisms underlying the persisting sensory-evoked cortical responses during isoelectric status, we generated *in vivo* in the rat ($n = 31$) different active brain patterns and a subsequent enduring isoelectric state (Altwegg-Boussac *et al.*, 2014; *in press*). Fentanyl sedation was used to generate an apparently desynchronized electrocorticographic (ECoG) activity, characterized by low amplitude fluctuations ($136.4 \pm 12.8 \mu\text{V}$, $n = 10$ recordings) (Fig. 2A, B2), closely resembling the activated waking pattern (Mahon *et al.*, 2001; Steriade *et al.*, 2001; Bruno & Sakmann, 2006; Altwegg-Boussac *et al.*, 2014; *in press*). Moreover, the fentanyl-induced ECoG activity showed a predominance of fast waves in the beta and low-gamma frequency ranges (Fig. 2A, B1). Conversely, light

doses of pentobarbital induced an ECoG pattern dominated by rhythmic oscillations with significantly larger amplitude (Pento., $393 \pm 36.6 \mu\text{V}$, $n = 10$ recordings, $p \leq 0.001$) (Fig. 2A, B1). Comparison of frequency contents between both condition showed that low-frequency waves predominated under light pentobarbital (1–10 Hz, $n = 10$ recordings, $p \leq 0.001$) whereas high frequency activity was relatively more present in the fentanyl condition (40–50 Hz, $n = 10$ recordings, $p \leq 0.001$) (Fig. 2B1, inset). ECoG patterns induced with fentanyl and pentobarbital thus modeled two distinct physiological dynamics of spontaneous cortical activity classically recorded in rodents during waking state and early stages of slow-wave sleep, respectively (Timo-Iaria *et al.*, 1970; Steriade *et al.*, 1993; Mahon *et al.*, 2001; Constantinople & Bruno, 2011; Altwegg-Boussac *et al.*, 2014; *in press*).

After a control period with active ECoG patterns (Fent. or Pento.), we induced in the rat an isoelectric brain state, similar to that induced in human patients, by the means of a systemic injection of high doses of sodium pentobarbital ($88.4 \pm 7 \text{ mg.kg}^{-1}$, $n = 21$ experiments). This led to a progressive collapse of ECoG activities reaching a completely flat profile (ECoG ampl. Iso., $3 \pm 0.3 \mu\text{V}$, $n = 10$ recordings) after an average post-injection time of $36.5 \pm 4.2 \text{ min}$ ($n = 21$ experiments). Incidentally, the total suppression of brain electrophysiological activity could unveil the presence of heart beat electrical artefacts in the ECoG (Fig. 2A, inset, 2B1). The induction and the maintenance of the isoelectric state did not affect the O_2 saturation or the end-tidal CO_2 concentration of the rat ($p > 0.7$). Other physiological parameters, including core temperature, respiratory rate and pressure, remained stable throughout the experiments, except for the heart rate which was significantly slowed down during the isoelectric state (Fent., $431.3 \pm 16.2 \text{ beats.min}^{-1}$ *versus* Iso., $335.5 \pm 4 \text{ beats.min}^{-1}$, $n = 10$ recordings; $p = 0.001$; Pento., $404.8 \pm 5.4 \text{ beats.min}^{-1}$ *versus* Iso., $335.5 \pm 4 \text{ beats.min}^{-1}$, $n = 10$ recordings, $p \leq 0.001$), likely due to the depressing effect of sodium pentobarbital on heart rate (Merin, 1975; Sapru & Krieger, 1979).

Alteration of whisker-evoked ECoG potentials during isoelectric state in the rat

We stimulated rat whiskers with air puffs (10–40 psi, 50 ms duration), applied at low frequency (0.4 Hz, $n \geq 20$ trials), and simultaneously recorded the somatosensory evoked-potential (SEP) from the contralateral barrel cortex during the control active state (Fent. or Pento.) and the subsequent isoelectric condition (Iso.). Whatever the initial cortical pattern, clear-cut SEPs could be recorded during the isoelectric state. As seen in human for visually-evoked responses, the rodent SEPs were significantly delayed after deprivation of

spontaneous cortical activity (Fig. 3A, B). In all experiments, the peak latency of the first component in the SEP was considerably increased, as compared to the corresponding control condition (Fent., 20.9 ± 2.2 ms *versus* Iso.(Fent.), 31 ± 1.9 ms, $n = 10$ experiments, $p \leq 0.001$; Pento., 22.8 ± 1.3 ms *versus* Iso.(Pento.), 31.2 ± 1.5 ms, $n = 12$ experiments, $p \leq 0.001$), indicating a significant slow-down in the propagation of sensory events within the neural networks transmitting information from the whiskers to the barrel cortex. This delayed sensory response during the isoelectric state was accompanied by a global amplification of its first negative component, as attested by the increase of the corresponding area under the voltage response (Fent., -0.4 ± 0.2 $\mu\text{V}\cdot\text{ms}^{-1}$ *versus* Iso.(Fent.), -1.4 ± 0.2 $\mu\text{V}\cdot\text{ms}^{-1}$, $n = 10$ experiments, $p < 0.01$; Pento., -0.8 ± 0.1 $\mu\text{V}\cdot\text{ms}^{-1}$ *versus* Iso.(Pento.), -1.2 ± 0.2 $\mu\text{V}\cdot\text{ms}^{-1}$, $n = 12$ experiments, $p < 0.03$) (Fig. 3B1).

The isoelectric state following the suppression of fentanyl-induced desynchronized cortical activity resulted in a strong increase in the amplitude of the first negative component of the SEP (Fent., -35.5 ± 5 μV ; Iso.(Fent.), -70.5 ± 7.6 , $n = 10$ experiments, $p \leq 0.001$), whereas the abolition of the pentobarbital-induced rhythmic pattern did not significantly affect the mean amplitude of this component (Pento., -69 ± 7.7 μV ; Iso.(Pento.), -61 ± 7.7 μV , $n = 12$ experiments, $p > 0.4$). As in human recordings, sensory-evoked responses during the isoelectric state were less variable from one trial to another. Whatever the initial brain state, the amplitude fluctuations of the cortical responses were dramatically reduced after suppression of spontaneous activity (σ ampl. Fent., 26.9 ± 3.1 μV *versus* σ ampl. Iso.(Fent.), 9.1 ± 1.5 μV , $n = 10$ experiments, $p \leq 0.001$; σ ampl. Pento., 51 ± 4.93 μV *versus* σ ampl. Iso.(Pento.), 12.6 ± 2.17 μV , $n = 12$ experiments, $p \leq 0.001$) (Fig. 3B3). Summing up, surface recordings in humans and rodents revealed that cortical responsiveness to sensory stimuli is preserved during drug-induced isoelectric EEG, with sensory-evoked responses being delayed, augmented in amplitude and much more regular from trial-to-trial than those generated during a desynchronized, waking-like, brain state.

Changes in spontaneous activity and membrane excitability of intracellularly-recorded cortical pyramidal neurons during isoelectric state

We performed simultaneous ECoG and intracellular recordings of deep-layer barrel cortex neurons during active cortical states (Fent. or Pento.) and subsequent isoelectric state ($n = 21$ paired recordings) (Fig. 4A). Intracellularly labeled neurons exhibited the typical morphology of pyramidal cells, including a soma of triangular shape and a long apical dendrite extending toward the cortical surface (Fig. 4A1) (Larkman & Mason, 1990; Manns *et al.*, 2004). Consistent with their cellular typology, intra-somatic injection of suprathreshold current pulses induced either regular spiking (RS) ($n = 9$ neurons) or intrinsic bursting (IB) ($n = 12$ neurons) firing patterns (not shown) (Connors & Gutnick, 1990; Steriade, 2004). However, the proportion of IB neurons was higher in the pentobarbital condition (IB Fent., 40 %; IB Pento., 75 %), confirming the predominance of this intrinsic firing profile during sleep-like activity (Steriade *et al.*, 2001).

As previously described (Altwegg-Boussac *et al.*, 2014), the membrane potential (V_m) values of cortical pyramidal neurons recorded under fentanyl, which have an unimodal distribution (Fig. 4A2, inset), were in average relatively depolarized (Fent., -63.5 ± 1.8 mV, $n = 10$ neurons) and displayed weak spontaneous fluctuations (σV_m Fent., 2.56 ± 0.16 mV, $n = 10$ neurons), due to a barrage of erratic and small amplitude synaptic events. This background synaptic activity led to a sustained firing activity in all recorded neurons (9 ± 3.5 Hz, $n = 10$ neurons) (Fig. 4A2). In contrast, pentobarbital-induced oscillatory ECoG activity was associated in cortical cells with more hyperpolarized V_m values (Pento., -68.3 ± 1.1 mV, $n = 12$ neurons, $p < 0.03$), which exhibited a broader unimodal distribution (σV_m Pento., 3.6 ± 0.3 mV, $n = 12$ neurons, $p = 0.002$) caused by large-amplitude rhythmic membrane depolarizations. Whatever the control condition, induction of an isoelectric state in the ECoG was correlated with a significant hyperpolarization of cortical neurons (Fent., -63.5 ± 1.8 mV *versus* Iso.(Fent.), -68.4 ± 1.8 mV, $n = 10$, $p < 0.02$; Pento., -68.3 ± 1.1 mV *versus* Iso.(Pento.), -73 ± 1.3 mV, $n = 12$, $p \leq 0.001$) together with a complete disappearance of V_m fluctuations (σV_m Iso.(Fent.), 0.4 ± 0.02 mV, $n = 10$, $p \leq 0.001$; σV_m Iso.(Pento.), 0.4 ± 0.03 mV, $n = 12$, $p \leq 0.001$) (Fig. 4A2, B). Challenging the previous experimental and theoretical findings (Bernander *et al.*, 1991; Destexhe & Paré, 1999; Rudolph *et al.*, 2005), indicating that sustained ongoing synaptic activity increases the global membrane conductance of neurons, the isoelectric profile was not associated with a significant change in the membrane input resistance (R_m) (Fent., 21.4 ± 2.7 M Ω *versus* Iso.(Fent.), 20.3 ± 2.9 M Ω ,

$n = 9$, $p > 0.4$; Pento., $20.6 \pm 2.6 \text{ M}\Omega$ versus Iso.(Pento.), $20.5 \pm 3.3 \text{ M}\Omega$, $n = 10$, $p > 0.9$) and time constant (τ_m) (Fent., $6.4 \pm 0.4 \text{ ms}$ versus Iso.(Fent.), $6.7 \pm 0.5 \text{ ms}$, $n = 9$, $p > 0.4$; Pento., $6.9 \pm 0.6 \text{ ms}$ versus Iso.(Pento.), $6.4 \pm 0.6 \text{ ms}$, $n = 10$, $p > 0.6$) (Fig. 4A3, B). Moreover, during the isoelectric state, the minimal input current efficient to generate an action potential in the recorded neurons was considerably increased compared to the corresponding control state (Fent., $0.1 \pm 0.1 \text{ nA}$ versus Iso.(Fent.), $0.5 \pm 0.2 \text{ nA}$, $n = 5$, $p < 0.05$; Pento., $0.08 \pm 0.08 \text{ nA}$ versus Iso.(Pento.), $0.7 \pm 0.1 \text{ nA}$, $n = 7$, $p < 0.05$) (data not shown). Altogether, the cellular effects induced by the isoelectric status were similar to those previously described (Altwegg-Boussac *et al.*, 2014), including a disappearance of any spontaneous activity, a significant membrane hyperpolarization and a reduced intrinsic excitability without changes in the membrane input resistance.

Intracellular sensory-evoked responses during active control conditions

In both control conditions, contralateral whisker deflections induced in intracellularly recorded neurons ($n = 21$) a depolarizing postsynaptic potential (dPSP), immediately followed by a hyperpolarizing waveform (Fig. 5A1, B1). In eight neurons (Fent., $n = 4$; Pento., $n = 4$), we estimated the ionic origin of the synaptic potentials composing the sensory-evoked intracellular response by displacing the V_m , in the hyperpolarizing and depolarizing direction, using *DC* injection. Hyperpolarization increased the amplitude and duration of the dPSP whereas depolarization strongly shortened and attenuated the depolarizing responses (Fig. 5A1, B1). We estimated the reversal potential (E_{rev}) of cellular responses at three latencies after the onset of sensory stimulus as indicated by the symbols and solid lines in Figure 5A1 and B1. The corresponding values of response amplitude were plotted as a function of the V_m measured just before the onset of the neuron's response (Fig. 5A2, B2). E_{rev} calculated at the peak of the dPSP under depolarization (filled triangles, $E_{\text{rev}1}$) was $-42.9 \pm 3.4 \text{ mV}$ ($n = 4$) in the fentanyl condition, and $-35.7 \pm 9.1 \text{ mV}$ ($n = 4$) in the pentobarbital condition, suggesting that the early depolarizing response in both conditions was composed by a mixture of excitatory and inhibitory currents (Wilent & Contreras, 2004). E_{rev} calculated at the peak of the response upon hyperpolarization (open squares, $E_{\text{rev}2}$ Fent., $-57.1 \pm 2.1 \text{ mV}$, $n = 4$; $E_{\text{rev}2}$ Pento., $-59 \pm 0.6 \text{ mV}$, $n = 4$) (Fig. 5A3, B3) was close to the reversal potential of chloride-dependent GABA_A -mediated synaptic response previously measured *in vivo* from somatosensory cortex neurons (Wilent & Contreras, 2004; Chipaux *et al.*, 2011). Finally, the later component of the response (filled squares) had a reversal potential ($E_{\text{rev}3}$) of -86.3 ± 12.6

mV (n = 4) under fentanyl, and -73.5 ± 0.7 mV (n = 4) under pentobarbital, suggesting a GABA_B-mediated potassium conductance.

Consequences of the isoelectric state on intracellularly-recorded sensory responses

The mean peak latency of the initial component of sensory-evoked dPSPs was similar between the two active states (Fent., 22.1 ± 2.2 ms, n = 10 neurons; Pento., 25.7 ± 1.9 ms, n = 12 neurons, $p > 0.1$), but its mean amplitude was significantly smaller under fentanyl (Fent., 3.9 ± 1.0 mV, n = 10; Pento., 5.6 ± 0.9 mV, n = 12, $p < 0.03$), possibly due to the more depolarized V_m in this condition, expected to decrease the driving force of glutamatergic synaptic currents (Fig. 6B). Interestingly, the mean variability of sensory responses amplitude was lower when the background activity was desynchronized (σ dPSP ampl. Fent., 2.1 ± 0.3 mV, n = 10; σ dPSP ampl. Pento., 3.0 ± 0.3 mV, n = 12, $p < 0.05$) (Fig. 6B). dPSPs could lead to the generation of an action potential in 70 % of the cells recorded under the fentanyl and 75 % of the cells under pentobarbital. No difference, between the two control conditions, was found regarding the firing probability (Fent., 46.1 ± 10.8 %, n = 7; Pento., 59.8 ± 13.4 %, n = 9, $p > 0.4$), the mean firing latency (Fent., 21.5 ± 2.4 ms, n = 7; Pento., 21.2 ± 1.9 ms, n = 9, $p > 0.7$) (Fig. 6C) and the different properties (amplitude, duration and voltage threshold) of individual action potentials (data not shown).

Whisker stimulations applied during the isoelectric state were still able to induce in cortical neurons synaptic responses composed, as in control periods, of an initial large depolarization, often followed by a long-duration hyperpolarizing component (Fig. 6A, right part). Whisker-evoked cell responses during isoelectric condition could be observed for sensory stimulus as weak as 10 psi. As for the SEP in ECoG records, the peak latency of the early intracellular response in the absence of spontaneous activity was strongly delayed compared to control conditions (Fent., 22.1 ± 2.2 ms *versus* Iso.(Fent.), 31.3 ± 2.2 ms, n = 9, $p \leq 0.001$; Pento., 25.7 ± 1.9 ms *versus* Iso.(Pento.), 31.7 ± 1.7 ms, n = 10, $p < 0.02$) (Fig. 6A1, B). Isoelectric state following fentanyl control period resulted in a significant increase in the amplitude of the sensory-induced dPSP (Fent., 3.9 ± 1 mV *versus* Iso.(Fent.), 6 ± 0.9 mV, n = 9, $p < 0.03$) (Fig. 6A1, B). This could result, at least in part, from the sustained hyperpolarization of neurons during isoelectric state, as measured just before the onset of the synaptic response (Fent., -64.9 ± 1.6 mV; Iso.(Fent.), -68.7 ± 2.1 mV, n = 9, $p < 0.03$) (Fig. 6A1, B). Suppression of the control pentobarbital-induced oscillatory activity also caused a significant membrane polarization (Pento., -70 ± 1.2 mV; Iso.(Pento.), -73.3 ± 1.7 mV, n = 10, $p < 0.009$), but the sensory-evoked response was not significantly increased in amplitude

(Pento., 5.6 ± 0.9 mV; Iso.(Pento.), 7.3 ± 1 mV, $n = 10$, $p > 0.2$) (Fig. 6A2, B). The rising slope of the synaptic depolarization was not affected by the suppression of spontaneous synaptic activity (Fent., 0.7 ± 0.2 mV.ms⁻¹; Iso.(Fent.), 0.7 ± 0.2 mV.ms⁻¹, $n = 9$, $p > 0.9$; Pento., 0.9 ± 0.2 mV.ms⁻¹; Iso.(Pento.), 0.7 ± 0.1 mV.ms⁻¹, $n = 10$, $p > 0.2$). This finding is consistent with the constancy of membrane time constant and suggests that the sensory-evoked synaptic responses generated during the isoelectric state were underpinned by the same synaptic circuits.

In the absence of ongoing synaptic activity, whisker stimulation could also generate suprathreshold dPSPs in cortical neurons. However, the number of responsive neurons during the isoelectric state was considerably reduced compared to the corresponding fentanyl (1 out of 7 neurons) and pentobarbital (5 out of 9 neurons) control conditions. The probability of discharge was significantly decreased compared to initial active states (Fent., 0.46 ± 0.1 versus Iso.(Fent.), 0.01 ± 0.01 , $n = 7$, $p \leq 0.001$; Pento., 0.60 ± 0.13 versus Iso.(Pento.), 0.2 ± 0.1 , $n = 9$, $p < 0.009$) (Fig. 6C). This diminution of evoked firing was not caused by an increase in action potential voltage threshold (Pento. *plus* Fent., -55.1 ± 1.2 mV; Iso., -54.1 ± 0.9 mV, $n = 5$, $p > 0.5$) and probably resulted from the membrane hyperpolarization. Consistent with the augmented peak latency of subthreshold responses, the spike responses was delayed compared to active states (Pento. *plus* Fent., 21.2 ± 1.5 ms; Iso., 27.5 ± 2.2 ms, $n = 5$, $p < 0.05$) (Fig. 6C2). Moreover, the temporal precision of spike discharge, calculated as the standard deviation of the spike response latency, was highly improved during isoelectric state (σ AP latency Pento. *plus* Fent., 1.6 ± 0.3 ; σ AP latency Iso., 0.8 ± 0.2 , $n = 5$, $p < 0.003$) (Fig. 6C2).

The amplitude, peak latency and rising slope of intracellular sensory responses during the isoelectric state were similar whatever the initial control condition (Fig. 6B; $p > 0.1$ for each parameter).

The isoelectric state reduces the trial-to-trial variability of sensory-evoked intracellular responses

During active cortical states, neuronal responses to repeated sensory stimulations are highly variable from one trial to another (Arieli *et al.*, 1996; Azouz & Gray, 1999; Civillico & Contreras, 2012; Mahon & Charpier, 2012). It is hypothesized that response changeability is caused by the “noisy” ongoing synaptic activity continuously circulating within cortical networks which introduces an instantaneous state-dependence of neuronal responsiveness.

Here, we examined how the abolition of spontaneous synaptic activity, occurring during pharmacologically-induced isoelectric state, alters the time-to-time variability of intracellular synaptic responses to iterative sensory stimuli of same intensity. When neurons were submitted to either desynchronized or oscillatory ongoing synaptic inputs, we found a high trial-to-trial variability in the amplitude of sensory responses (σ dPSP ampl. Fent., 2.1 ± 0.3 mV, $n = 9$; σ dPSP ampl. Pento., 3.0 ± 0.3 mV, $n = 10$) (Fig. 7A, B). This was associated with a strong changeability of V_m measured just before the onset of successive dPSPs (σ dPSP foot Fent., 2.1 ± 0.2 mV, $n = 9$; σ dPSP foot Pento., 2.9 ± 0.3 mV, $n = 10$) (Fig. 7A, B). This variability of the pre-stimulus V_m was strongly decreased during the isoelectric condition (Iso.(Fent.), 0.52 ± 0.04 mV, $n = 9$, $p \leq 0.001$; Iso.(Pento.), 0.53 ± 0.03 mV, $n = 10$, $p \leq 0.001$), reflecting the disappearance of background synaptic activity (Fig. 7A, B). As a consequence, neuronal responses became less variable in amplitude (σ dPSP ampl. Iso.(Fent.), 1.4 ± 0.2 mV, $n = 9$, $p < 0.04$; σ dPSP ampl. Iso.(Pento.), 1.9 ± 0.2 mV, $n = 10$, $p < 0.02$). The non-negligible trial-to-trial variations in dPSP amplitude that persisted during the isoelectric state were thus independent of the spontaneous network activity and likely resulted from the probabilistic transmission at synapses within the neural network activated by the sensory stimulus. Interestingly, it seems that this intrinsic functional property of central networks was hidden in the presence of spontaneous synaptic activity since the ratio (σ dPSP ampl.) / (σ dPSP foot) was close to one (Fent., 1.1 ± 0.3 , $n = 9$; Pento., 1.1 ± 0.1 , $n = 10$) whereas it was considerably elevated during the isoelectric state (Iso.(Fent.), 2.9 ± 0.5 , $n = 9$, $p < 0.02$; Iso.(Pento.), 3.7 ± 0.5 , $n = 10$, $p < 0.003$). This activity-independent variability revealed through the isoelectric profile could explain the maintenance of a probabilistic firing response during this state, contrasting with the “all-or-none” shape of the response curve described in absence of background synaptic activity (Hô & Destexhe, 2000; Shu *et al.*, 2003).

Altogether, these findings suggest that cortical pyramidal neurons during isoelectric state are able to integrate sensory inputs in a highly reproducible manner but in smaller number of cell, sensory inputs and possibly propagate information to other cortical or sub-cortical brain regions.

Discussion

A detailed discussion of the above results can be found in the “*Conclusion et discussion*” section of this thesis.

References

- Altwegg-Boussac T, Chavez M, Mahon S & Charpier S (2014). Excitability and responsiveness of rat barrel cortex neurons in the presence and absence of spontaneous synaptic activity in vivo. *J Physiol* **592**, 3577–3595.
- Altwegg-Boussac T, Mahon S, Chavez M, Charpier S & Schramm AE (*in press*). Induction of an isoelectric brain state to investigate the impact of endogenous synaptic activity on neuronal excitability in vivo. *J Vis Exp*.
- Andraus MEC & Alves-Leon SV (2011). Non-epileptiform EEG abnormalities: an overview. *Arq Neuropsiquiatr* **69**, 829–835.
- André-Obadia, N, Sauleau P, Cheliout-Heraut F, Convers P, Debs R, Eisermann M, Gavaret M, Isnard J, Jung J, Kaminska A, Kubis N, Lemesle M, Maillard L, Mazzola M, Michel V, Montavont A, N’Guyen S, Navarro V, Parain D, Périn B, Rosenberg SD, Sediri H, Soufflet C, Szurhaj W, Taussig D, Touzery-De Villepin A, Verceuil L et Lamblin MD (2014). Recommandations françaises sur l’électroencéphalogramme. *Neurophysiol Clin Neurophysiol* **44**, 515–612.
- Arfel G (1967). Stimulations visuelles et silence cérébral. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **23**, 172–175.
- Arieli A, Sterkin A, Grinvald A & Aertsen A (1996). Dynamics of ongoing activity: Explanation of the large variability in evoked cortical responses. *Science* (80-).
- Azouz R & Gray CM (1999). Cellular mechanisms contributing to response variability of cortical neurons in vivo. *J Neurosci* **19**, 2209–2223.
- Bental E & Leibowitz U (1961). Flat electroencephalograms during 28 days in a case of “encephalitis.” *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **13**, 457–460.
- Bernander O, Douglas RJ, Martin KA & Koch C (1991). Synaptic background activity influences spatiotemporal integration in single pyramidal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**, 11569–11573.
- Bird TD & Plum F (1968). Recovery from barbiturate overdose coma with a prolonged isoelectric electroencephalogram. *Neurology* **18**, 456–460.
- Bruno RM & Sakmann B (2006). Cortex is driven by weak but synchronously active thalamocortical synapses. *Science* **312**, 1622–1627.
- Chatrian G-E, Bergamasco B, Bricolo A, Frost JD & Prior P (1996). IFCN recommended standards for electrophysiologic monitoring in comatose and other unresponsive states . Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **99**, 103–122.
- Chipaux M, Charpier S & Polack P-O (2011). Chloride-mediated inhibition of the ictogenic neurones initiating genetically-determined absence seizures. *Neuroscience* **192**, 642–651.
- Chipaux M, Verceuil L, Kaminska A, Mahon S & Charpier S (2013). Persistence of cortical

- sensory processing during absence seizures in human and an animal model: evidence from EEG and intracellular recordings. *PLoS One* **8**, e58180.
- Civillico EF & Contreras D (2012). Spatiotemporal properties of sensory responses in vivo are strongly dependent on network context. *Front Syst neuroscience* **6**, 1–20.
- Connors BW & Gutnick MJ (1990). Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons. *Trends Neurosci* **13**, 99–104.
- Constantinople CM & Bruno RM (2011). Effects and mechanisms of wakefulness on local cortical networks. *Neuron* **69**, 1061–1068.
- Dan B & Boyd SG (2006). Stimulus-sensitive burst-spiking in burst-suppression in children : implications for management of refractory status epilepticus. *Epileptic Disord* **8**, 143–150.
- Destexhe A & Paré D (1999). Impact of network activity on the integrative properties of neocortical pyramidal neurons in vivo. *J Neurophysiol* **81**, 1531–1547.
- Domino E, Corssen G & Sweet R (1963). Effects of various general anesthetics on the visually evoked response in man. *Anesth Analg* **42**, 735–747.
- Ferron J-F, Kroeger D, Chever O & Amzica F (2009). Cortical inhibition during burst suppression induced with isoflurane anesthesia. *J Neurosci* **29**, 9850–9860.
- Ganes T & Lundar T (1983). The effect of thiopentone on somatosensory evoked responses and EEGs in comatose patients. *J neurosurgery, psychiatry* **46**, 509–514.
- Harding GF, Odom J V, Spileers W & Spekreijse H (1996). Standard for visual evoked potentials 1995. *Vision Res* **36**, 3567–3572.
- Hô N & Destexhe A (2000). Synaptic background activity enhances the responsiveness of neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol* **84**, 1488–1496.
- Husain AM (2006). Electroencephalographic Assessment of Coma. *J Clin Neurophy* **23**, 208–220.
- Jääntti V, Eriksson K, Hartikainen K & Baer GA (1994). Epileptic EEG discharges during burst suppression. *Neuropediatrics* **25**, 271–273.
- Kroeger D & Amzica F (2007). Hypersensitivity of the anesthesia-induced comatose brain. *J Neurosci* **27**, 10597–10607.
- Larkman A & Mason A (1990). Correlations between morphology and electrophysiology of pyramidal neurons in slices of rat visual cortex. I. Establishment of cell classes. *J Neurosci* **10**, 1407–1414.
- Laureys S (2005). Death, unconsciousness and the brain. *Nat Rev Neurosci* **6**, 899–909.
- Laureys S, Perrin F, Faymonville M-E, Schnakers C, Boly M, Bartsch V, Majerus S, Moonen

- G & Maquet P (2004). Cerebral processing in the minimally conscious state. *Neurology* **63**, 916–918.
- Lehembre R, Gosseries O, Lugo Z, Jedidi Z & Chatelle C (2012). Electrophysiological investigations of brain function in coma, vegetative and minimally conscious patients. *Arch Ital Biol* **150**, 122–139.
- Mahon S & Charpier S (2012). Bidirectional plasticity of intrinsic excitability controls sensory inputs efficiency in layer 5 barrel cortex neurons *in vivo*. *J Neurosci* **32**, 11377–11389.
- Mahon S, Deniau JM & Charpier S (2001). Relationship between EEG potentials and intracellular activity of striatal and cortico-striatal neurons: an *in vivo* study under different anesthetics. *Cereb Cortex* **11**, 360–373.
- Manns ID, Sakmann B & Brecht M (2004). Sub- and suprathreshold receptive field properties of pyramidal neurones in layers 5A and 5B of rat somatosensory barrel cortex. *J Physiol* **556**, 601–622.
- Merin RG (1975). Effect of anesthetics on the heart. *Surg Clin North Am* **55**, 759–774.
- Noachtar S & Rémi J (2009). The role of EEG in epilepsy: A critical review. *Epilepsy Behav* **15**, 22–33.
- Odom JV, Bach M, Barber C, Brigell M, Marmor MF, Tormene AP & Holder GE (2004). Visual evoked potentials standard (2004). *Doc Ophthalmol* **108**, 115–123.
- Odom JV, Bach M, Brigell M, Holder GE, McCulloch DL, Tormene AP & Vaegan (2010). ISCEV standard for clinical visual evoked potentials (2009 update). *Doc Ophthalmol* **120**, 111–119.
- Orlowski JP, Erenberg G, Lueders H & Cruse RP (1984). Hypothermia and barbiturate coma for refractory status epilepticus. *Crit Care Med* **12**, 367–372.
- Rosenow F & Knake S (2008). Recent and future advances in the treatment of status epilepticus. *Ther Adv Neurol Disord* **1**, 33–42.
- Rudolph M, Pelletier JG, Paré D & Destexhe A (2005). Characterization of synaptic conductances and integrative properties during electrically induced EEG-activated states in neocortical neurons *in vivo*. *J Neurophysiol* **94**, 2805–2821.
- Sapru HN & Krieger AJ (1979). Cardiovascular and respiratory effects of some anesthetics in the decerebrate rat. *Eur J Pharmacol* **53**, 151–158.
- Shu Y, Hasenstaub A, Badoual M, Bal T & McCormick DA (2003). Barrages of synaptic activity control the gain and sensitivity of cortical neurons. *J Neurosci* **23**, 10388–10401.
- Stecker MM, Cheung AT, Pochettino A, Kent GP, Patterson T, Weiss SJ & Bavaria JE (2001). Deep hypothermic circulatory arrest: I. Effects of cooling on electroencephalogram and evoked potentials. *Ann Thorac Surg* **71**, 14–21.

- Steriade M (2004). Neocortical cell classes are flexible entities. *Nat Rev Neurosci* **5**, 121–134.
- Steriade M, Nunez A & Amzica F (1993). Intracellular Analysis of Relations between the Slow (<1) Neocortical Oscillation and Other Sleep Rhythms of the Electroencephalogram. *J Neurosci* **73**, 3266–3283.
- Steriade M, Timofeev I & Grenier F (2001). Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *J Neurophysiol* **85**, 1969–1985.
- Sutton LN, Frewen T, Marsh R, Jaggi J & Bruce DA (1982). The effects of deep barbiturate coma on multimodality evoked potentials. *J Neurosurg* **57**, 178–185.
- Timo-Iaria C, Negrão N, Schmidek WR, Hoshino K, Lobato de Menezes CE & Leme da Rocha T (1970). Phases and states of sleep in the rat. *Physiol Behav* **5**, 1057–1062.
- Trojaborg W & Jorgensen EO (1973). Evoked cortical potentials in patients with “isoelectric” EEGs. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **35**, 301–309.
- Wilent WB & Contreras D (2004). Synaptic responses to whisker deflections in rat barrel cortex as a function of cortical layer and stimulus intensity. *J Neurosci* **24**, 3985–3998.
- Young GB (2000). The EEG in Coma. *J Clin Neurophysiol* **17**, 473–485.

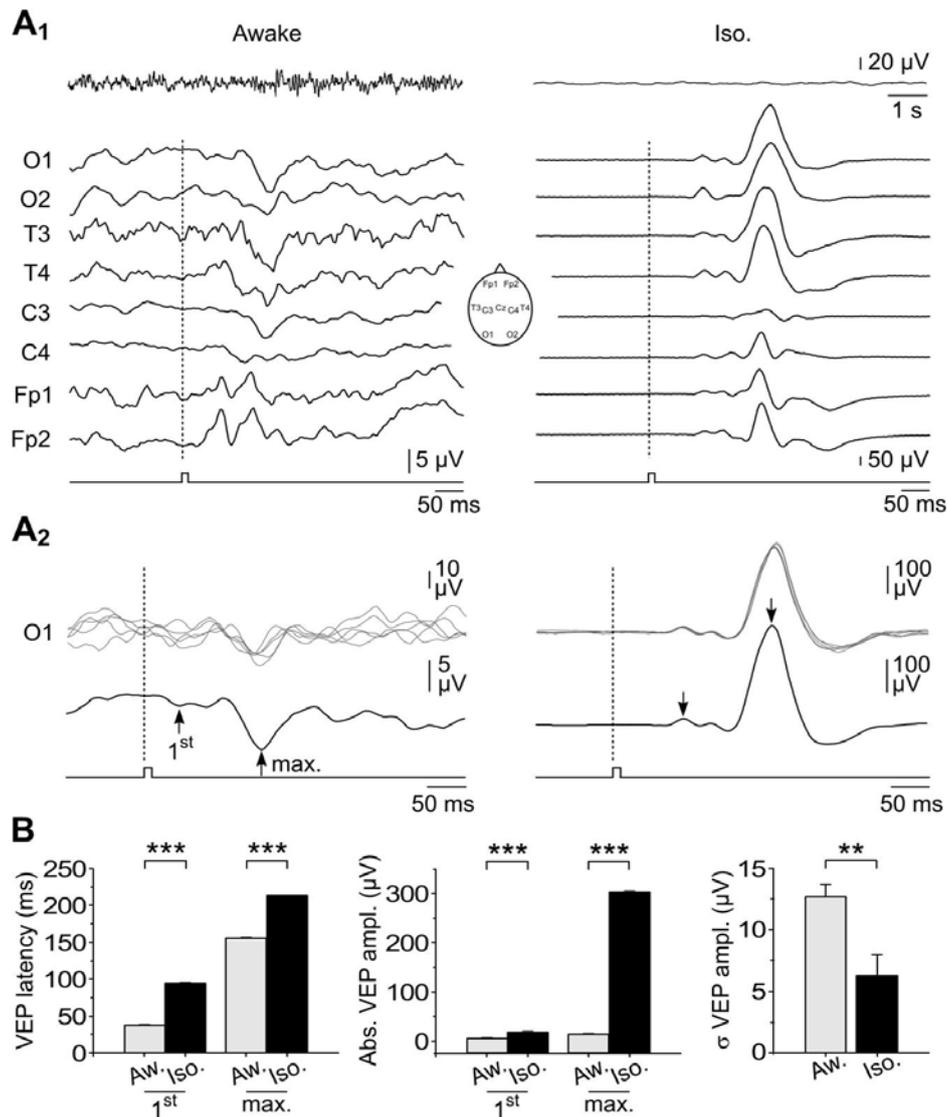


Figure 1 Comparison of visually-evoked potentials recorded from waking and isoelectric human subjects. (A) Visually-evoked potentials (VEPs) in response to repeated light flashes (bottom traces) (12ms duration) recorded from the scalp EEG electrodes (eight electrodes positioned as indicated in the inset) in a waking subject (Awake) and in a patient exhibiting an isoelectric EEG due to pharmacological treatment preventing refractory status epilepticus (Iso.). Top traces in (A1) are spontaneous recordings (10s duration) of the occipital cortex in both subjects. Bottom traces are the average of 50 successive trials. Dashed lines indicate the onset of the stimuli. (A2) Superimposed individual VEPs ($n = 5$) recorded from the occipital electrode O1 (top traces) and the corresponding averaged responses (bottom traces, $n = 50$ successive trials). The arrows indicate the first (1st) and the maximum-amplitude (max.) component from which measurements were made. (B) Summary data of the mean latency and amplitude of the first and maximum-amplitude evoked response recorded from awake (Aw.) and isoelectric (Iso.) subjects. The right histogram depicts the trial-to-trial amplitude

variability (σ VEP ampl.) of all VEP components recorded during the waking (Aw.) and isoelectric (Iso.) state. ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$.

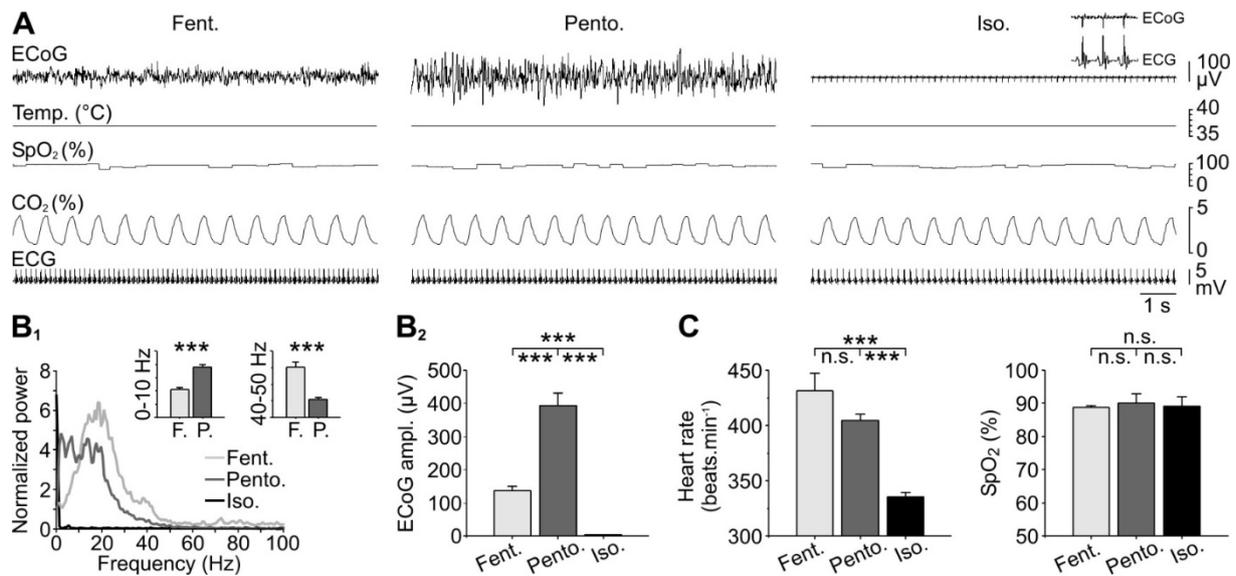


Figure 2 ECoG patterns and corresponding physiological parameters monitored in the rat during the three conditions of brain activity. (A) Simultaneous recordings (10s duration) of the somatosensory cortex electrocorticogram (ECoG, top), core temperature (Temp.), oxygen saturation (SpO₂), transcutaneous carbon dioxide pressure (pCO₂) and electrocardiogram (ECG) under fentanyl (Fent., left panel) and pentobarbital (Pento., middle panel) anesthesia and after induction of an isoelectric cortical state (Iso., right panel). The segment of paired ECoG and ECG recordings depicted in the inset shows that the cardiac electrical activity could be captured by the brain surface electrode. (B) Quantitative comparison of the ECoG patterns. (B₁) Averaged spectral power densities of ECoG signals (computed from normalized amplitudes) recorded under fentanyl (Fent., light grey; n = 10 rats), pentobarbital (Pento., dark grey; n = 10 rats) and during the isoelectric state (Iso., black; n = 10 rats). The inset shows the pooled cortical powers in the 0-10 and 40-50 Hz bands calculated from rats anesthetized with fentanyl (F., n = 10) or pentobarbital (P., n = 10). Note the relative prominence of the low frequencies under pentobarbital, whereas the low γ -range frequency was more present under fentanyl. (B₂) Pooled data comparing the amplitude of ECoG signals (from representative periods of 30 s) obtained during the three states. (C) Comparison of the physiological parameters associated with the three brain states (Fent., n = 3 rats; Pento., n = 5 rats, Iso., n = 4 rats). The pooled histograms revealed that the heart rate (left) was slowed down during the isoelectric state, though the oxygen saturation did not present any significant modification. The other parameters were unchanged (not shown). The middle (Pento.) and right (Iso.) records in (A) are from the same experiment. ***p \leq 0.001; n.s., non-significant.

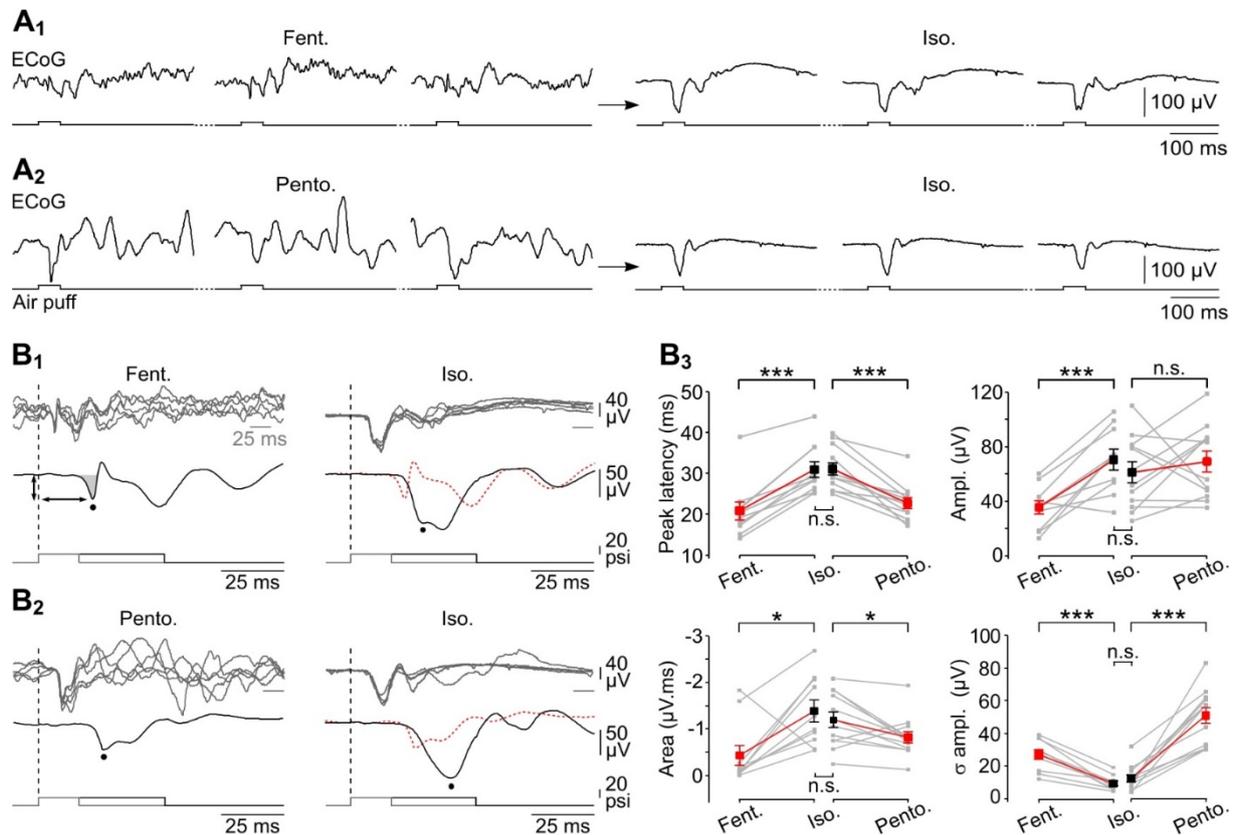


Figure 3 Comparison of ECoG potentials evoked by whisker stimulation during active and silent brain states in the rat. (A) Typical cortical responses ($n = 3$ successive trials) evoked by contralateral whisker stimulations (Air puffs of 50 ms duration, 20 psi) applied under fentanyl (Fent., **A1**) and pentobarbital (Pento., **A2**) anaesthesia, and during the subsequently induced isoelectric state (Iso., right panels). (B) Superimposition of five ECoG potentials (top records) evoked by air puffs delivered to the contralateral whiskers (bottom traces, dashed lines indicate the onset of the stimuli), under fentanyl (**B1**), pentobarbital (**B2**) and during the isoelectric state. The corresponding averaged responses ($n \geq 49$ successive trials) are displayed with an extended time base (middle black trace). The peak latency of sensory responses was measured from the onset of the stimulus to the peak deflection (horizontal arrow) and their amplitude from the baseline value preceding the stimulation to the peak (vertical arrow). The area of cortical responses was computed from its onset to the return to the same potential (grey area in **B1**). (**B3**) Summary data of the peak latency, amplitude (Ampl.), trial-to-trial amplitude variation (σ ampl., $n \geq 20$ successive trials) and area of the sensory-evoked responses obtained under fentanyl (Fent., $n = 10$ experiments), pentobarbital (Pento., $n = 12$ experiments) and after the suppressive injection (Iso.). Here and in the following figures, the grey lines indicate individual experiments and the red lines connect the corresponding mean values (\pm SEM) of the indicated conditions. * $p < 0.05$; *** $p \leq 0.001$; n.s., non-significant. **A1**, **B1** and **A2**, **B2** are from two different experiments.

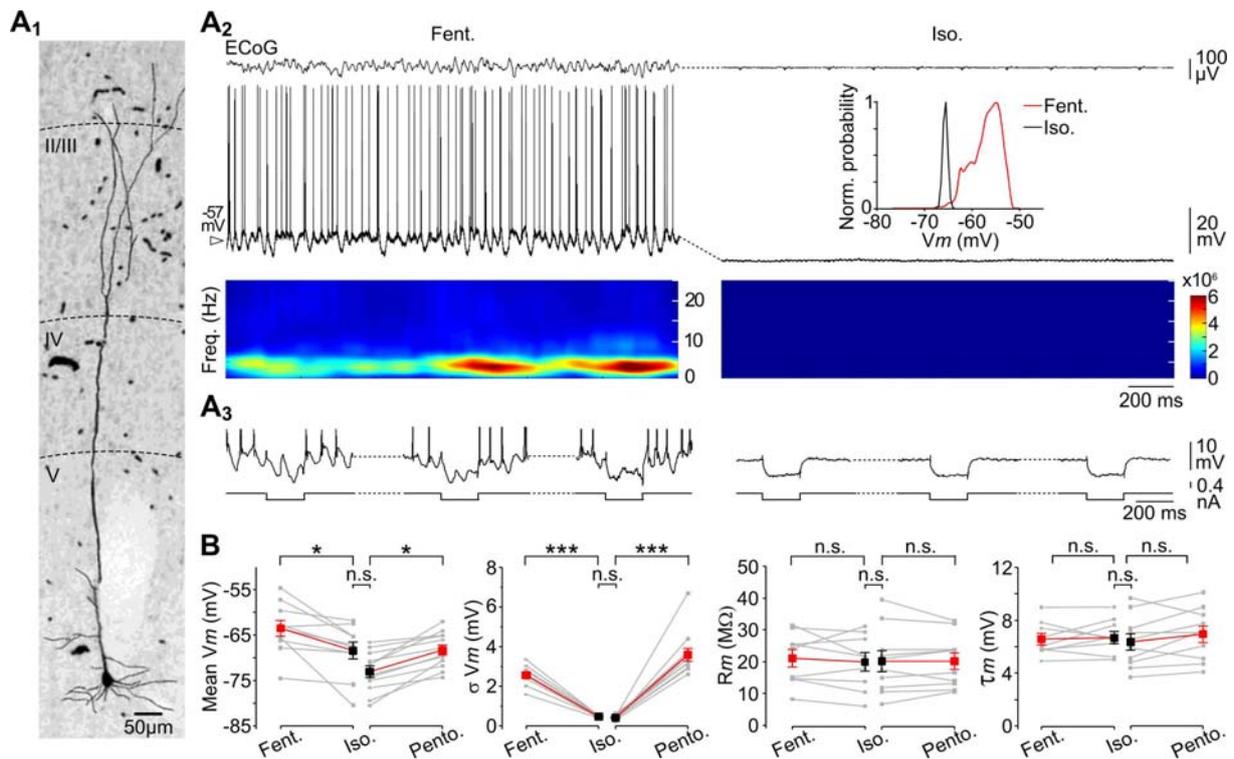


Figure 4 Impact of suppressing spontaneous brain electrical activities on membrane properties of cortical pyramidal neurons. (A) Morphological and electrophysiological features of a layer V pyramidal neuron of the rat somatosensory cortex intracellularly recorded during active and isoelectric states. (A1) Synthetic projection micrograph (from a 50 μm -thick whole mount) of a neurobiotin-injected cortical pyramidal neuron whose soma was located in layer V of the barrel cortex (the cortical layers are delimited by the dashed lines). (A2) Simultaneous recordings of ECoG (top records) and intracellular activity (bottom records) during the active (fentanyl anaesthesia, left) and subsequent isoelectric state (right). Time-frequency maps of the intracellular signals are aligned with the corresponding records. The inset at right shows the normalized probability density of V_m values (bin size 0.5 mV, 10 s of recording) extracted from the illustrated neuron during the active and silent condition. (A3) Representative intracellular responses (top records) to negative current pulse injections (200 ms, -0.4 nA, bottom traces) during the states indicated in (A2). Action potentials are truncated. (B) Population data of the mean V_m , V_m fluctuations (σV_m), membrane input resistance (R_m) and time constant (τ_m) of neurons recorded under fentanyl (Fent., $n = 10$ neurons), pentobarbital (Pento., $n = 12$ neurons) and during the following isoelectric status (Iso.). * $p < 0.05$; *** $p \leq 0.001$; n.s., non-significant. A1-A3 are from the same neuron.

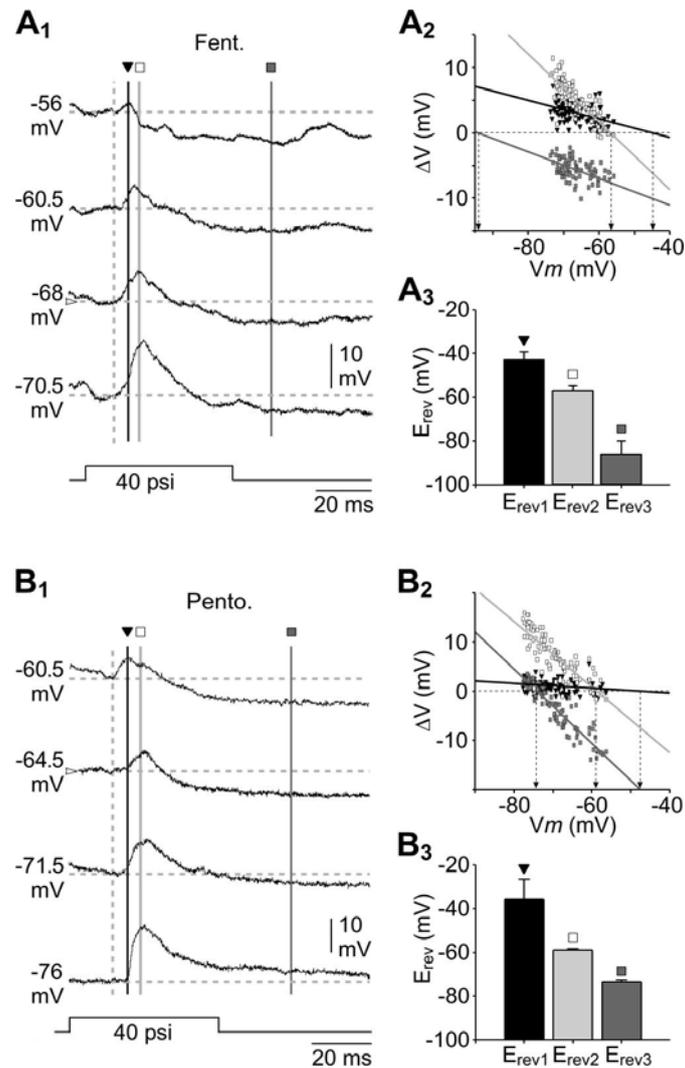


Figure 5 Voltage-dependence of the different synaptic components of the sensory-evoked intracellular responses. (A1, B1) Examples of intracellular synaptic responses to whisker stimulations (40 psi, bottom traces) applied at rest (arrowhead) and from three levels of DC-induced membrane polarisation, under fentanyl (A1) and pentobarbital (B1). The solid lines indicate the different times at which the amplitude of responses was measured, using the pre-stimulus V_m (dashed lines) as a reference. The plots in (A2) and (B2) represent the amplitude (ΔV) of the different synaptic components as a function of the pre-stimulus V_m (V_m). The reversal potentials (E_{rev}) of the three components were extrapolated from the best linear fits of the pooled values (vertical arrows). (A3, B3) Pooled data of the mean reversal potential of each synaptic component (Fent., $n = 4$ cells; Pento., $n = 4$ neurons). The initial component (filled triangles) likely reflects an overlapping of excitatory and inhibitory synaptic events (E_{rev1}), whereas the later components are presumably GABA_A (open squares) (E_{rev2}) and GABA_B (filled squares) (E_{rev3}) responses.

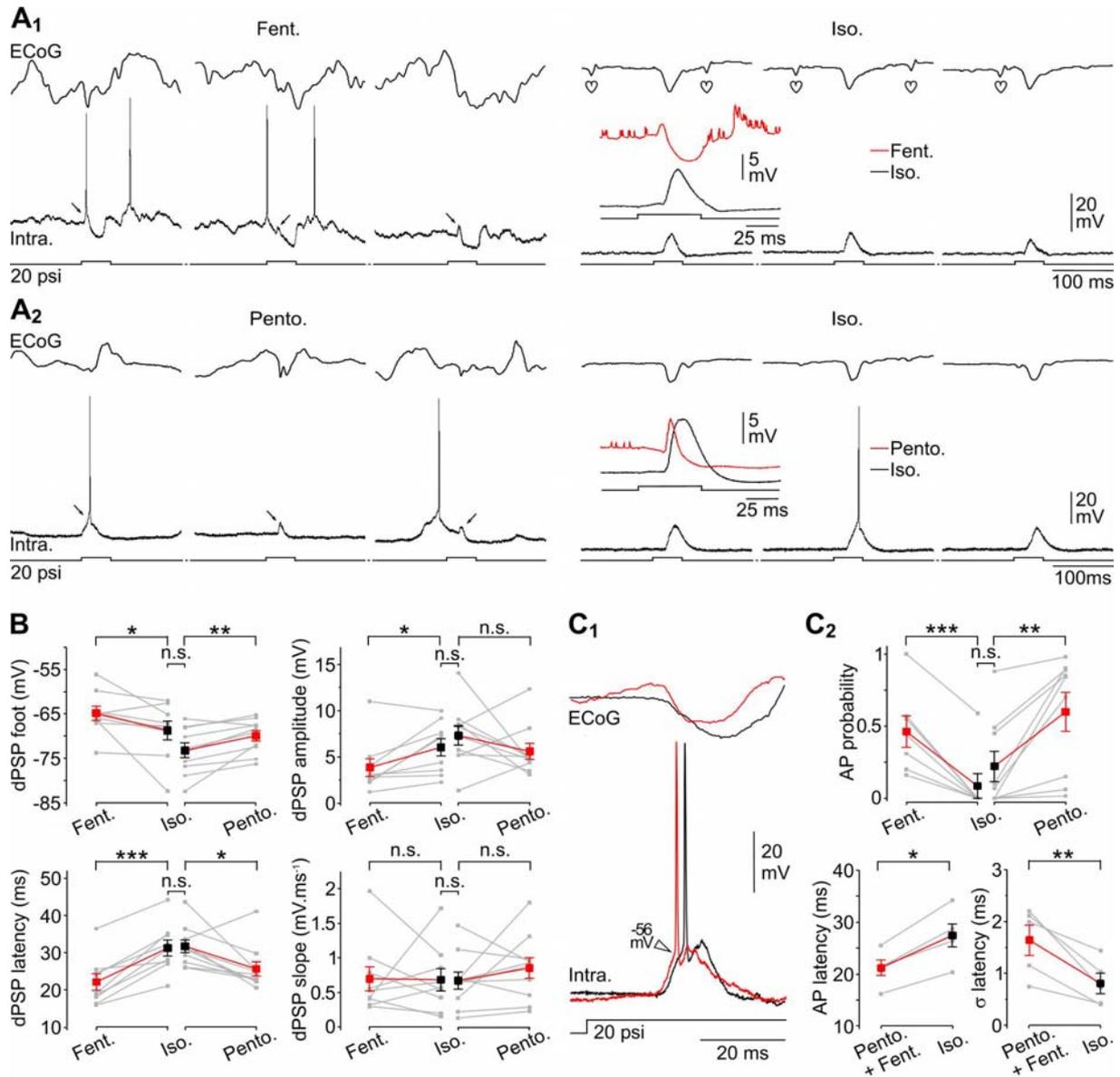


Figure 6 Sensory-evoked intracellular responses in the isoelectric state. (A) Simultaneous recordings of ECoG (top traces) and intracellular (bottom traces) responses to three successive whisker stimulations (20 psi, lowest traces) applied under fentanyl (Fent., **A1**), pentobarbital (Pento., **A2**) and during the following isoelectric state (right panels). Arrows indicate the depolarizing postsynaptic potentials (dPSPs) induced by the sensory stimuli in the presence of ongoing synaptic activity. The insets at right show an expansion of averaged intracellular sensory responses obtained in the presence of spontaneous synaptic activity (red traces) (Fent., $n = 25$ successive trials; Pento., $n = 124$ successive trials) and during the corresponding isoelectric condition (black traces) (**A1**, $n = 46$ successive trials; **A2**, $n = 126$ successive trials). Heart symbols indicate the cardiac artefact seen in the ECoG signal. (B) Population data showing the mean value of V_m at the onset of the dPSPs (foot dPSP), their mean amplitude (dPSP amplitude), peak latency (dPSP latency) and the slope of their

rising phase (dPSP slope), in the indicated conditions. **(C)** Properties of the sensory-evoked suprathreshold responses in the three conditions of brain activity. **(C1)** Simultaneous recording of ECoG and suprathreshold intracellular responses (Intra.) to whisker stimulation applied under pentobarbital (red traces) and after suppression of the spontaneous synaptic activity (black traces). Note that the voltage threshold (arrowhead) and the amplitude of action potentials (dashed line) were not affected during the isoelectric state. **(C2)** Population data of action potential (AP) probability, latency and latency jitter (σ latency) in the indicated cortical states. Values of AP latencies recorded under fentanyl and pentobarbital were pooled for statistical purpose (fentanyl, $n = 1$ neuron, pentobarbital, $n = 4$ neurons). * $p < 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; n.s., non-significant. Records shown in **A1**, **A2** and **C1** are from three distinct neurons.

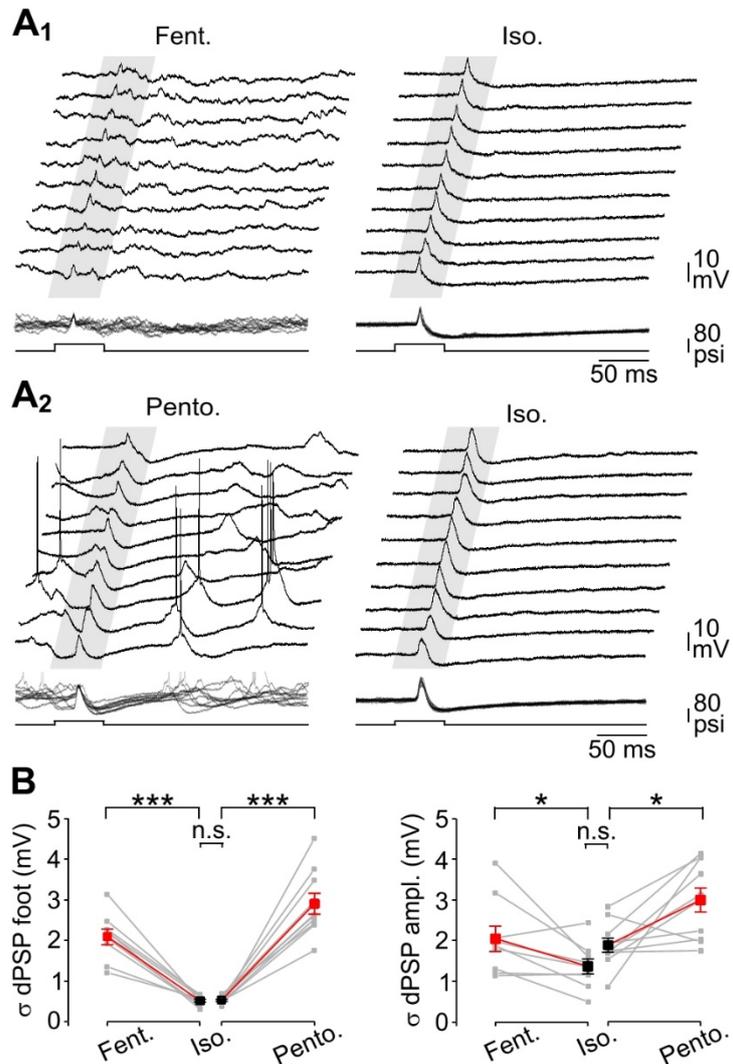


Figure 7 Comparison of the trial-to-trial amplitude variability of sensory-evoked synaptic responses during the three brain states. (A) Ten intracellular synaptic responses (grey areas) induced by iterative whisker stimuli (lowest traces) applied under fentanyl (A1), pentobarbital (A2) and during the subsequent isoelectric period (Iso.). Bottom records are the superimposition of the ten top traces. (B) Population data showing the trial-to-trial variability of the pre-stimulus V_m (σ dPSP foot) and dPSP amplitude. Note the considerable decrease in the variability of the sensory responses during the isoelectric condition. * $p < 0.05$; *** $p \leq 0.001$; n.s., non-significant.

4 CONCLUSION ET DISCUSSION

4-1 DESCRIPTION SYNTHETIQUE DE L'ETUDE ET RESUME DES PRINCIPAUX RESULTATS

Dans la première partie de ma thèse, j'ai pu étudier dans le cortex à tonneaux du rat l'effet de deux dynamiques d'activités synaptiques spontanées induites par une sédation au fentanyl et une anesthésie au pentobarbital, mimant respectivement des activités EEG et intracellulaire de veille ou de sommeil. Afin de comprendre l'impact spécifique de chacun de ces bruits synaptiques endogènes sur les neurones des couches infragranulaires du cortex, j'ai mesuré les propriétés membranaires passives, la fonction de transfert neuronale, ainsi que la régularité de décharge en présence de chacun des deux types de bruits synaptiques (type « éveil » ou « sommeil ») et après suppression de toute activité synaptique spontanée.

Nous avons montré que dans une condition d'activité corticale proche de celle obtenue pendant l'éveil (fentanyl), le potentiel membranaire des neurones corticaux était plus dépolarisé, et fluctuait avec une plus faible amplitude que dans un état cortical de type « sommeil ». De plus, la résistance membranaire était relativement plus faible et le gain de la fonction de transfert était plus important. La suppression de ces deux types d'activité synaptique avait pour effet de diminuer la sensibilité des neurones, probablement en raison de l'hyperpolarisation membranaire, sans pour autant modifier significativement la résistance membranaire. De plus, l'interruption d'un bruit de type « désynchronisé » réduisait le gain de la relation entrée-sortie du neurone. Enfin, le bruit synaptique induisait une grande variabilité dans la réponse du neurone, au cours d'injections répétées de courant. Cependant, malgré des patrons d'activité spontanée très différents, la variabilité de la décharge neuronale, d'un essai à l'autre, était comparable dans les deux conditions d'activité corticale. L'ensemble de ces résultats montre que l'impact différentiel d'un bruit de type « éveil » ou « sommeil », résidait principalement dans le contrôle du gain de la fonction de transfert neuronal.

La persistance d'une excitabilité neuronale en l'absence d'activité synaptique spontanée nous a conduit à poursuivre nos recherches vers une caractérisation approfondie de la capacité du cortex à répondre à des stimuli environnementaux dans l'état isoélectrique. Cette étude a été menée chez l'animal et chez l'homme en collaboration avec les services d'EEG, de Potentiel Evoqué et de Réanimation Neurologique de la Pitié-Salpêtrière.

Nous avons montré que les réseaux corticaux étaient toujours réactifs à des stimuli sensoriels malgré un état persistant d'inactivité électro-cérébrale spontanée. Ce résultat, obtenu chez des patients plongés dans un coma isoélectrique pour des raisons thérapeutiques, était confirmé dans un modèle similaire de suppression d'activité neuronale spontanée chez le rat. Chez l'homme, comme chez l'animal, les potentiels induits par des stimulations sensorielles dans l'état isoélectrique étaient retardés et bien plus reproductibles lors de stimulations répétées. Les enregistrements intracellulaires effectués dans le cortex à tonneaux du rat démontraient que la stimulation sensorielle générait un potentiel postsynaptique dépolarisant capable de déclencher un PA. Les réponses intracellulaires évoquées par des stimuli sensoriels avaient elles aussi un délai plus important, et étaient bien plus constantes que celles générées en présence d'activité endogène. De plus, la probabilité d'évoquer un PA était significativement plus faible dans l'état isoélectrique. Ces résultats démontrent que les réseaux sensoriels corticaux et leurs afférences sous-corticales peuvent intégrer des informations sensorielles, avec un certain retard, et les propager au cours d'un état d'inactivité électro-cérébrale.

4-2 DE NOUVELLES DONNEES SUR LE ROLE FONCTIONNEL DU BRUIT SYNAPTIQUE DANS LE NEOCORTEX

4-2.1 Induction des activités de types « éveil » et « sommeil » : limites et pertinence

Dans le but d'étudier le rôle fonctionnel de deux activités synaptiques spontanées physiologiques sur la relation entrée-sortie des neurones corticaux, nous avons utilisé une préparation *in vivo*, préservant l'intégrité anatomo-fonctionnelle des réseaux cérébraux, nous permettant d'être le plus proche de la situation physiologique. Nous avons néanmoins mimé pharmacologiquement deux structures de bruit synaptique associées à deux états corticaux extrêmes, la veille et le sommeil. En plus de mimer deux patrons d'activité synaptique spontanée, ces drogues induisaient deux états cérébraux mettant en jeu une activité neuromodulatrice spécifique (McCormick, 1992). Le fentanyl inhibe une part des afférences cholinergiques provenant des noyaux pontins du tronc cérébral (Lydic et Baghdoyan, 2005 ; Brown et coll., 2011), provoquant possiblement une augmentation des courants potassiques voltage-dépendant I_M et calcium-dépendant I_{AHP} . Le pentobarbital, en potentialisant l'activité GABAergique de l'aire préoptique de l'hypothalamus, inhibe les centres de l'éveil du pons et du mesencéphal contrôlant l'« activation » corticale (Saper et coll., 2005). En conséquence, il est possible qu'une part des changements d'excitabilité observés dans notre étude soit due à l'activité distincte des systèmes neuromodulateurs dans chaque état.

Bien que l'utilisation de drogues anesthésiantes limite l'interprétation physiologique de nos résultats, elle était néanmoins nécessaire pour notre protocole expérimental. L'injection systémique des drogues permettait de maintenir chez l'animal des constantes physiologiques stables, d'induire de façon contrôlée une dynamique temporelle d'activité spontanée particulière et d'assurer la stabilité des enregistrements intracellulaires sur des durées très longues (> 1h), permettant d'appliquer l'ensemble des protocoles. De plus, cette préparation permettait à l'animal de bénéficier d'une assistance respiratoire pendant toute la durée de l'expérience afin d'assurer la stabilité des enregistrements intracellulaires, mais aussi de prévenir une possible dépression respiratoire provoquée par l'induction de l'état isoélectrique.

L'activité corticale de veille était mimée par des injections systémiques de fentanyl lequel est un puissant analgésique, agoniste des récepteurs opioïdes, agissant principalement dans la voie nociceptive descendante, au niveau du tronc cérébral (Brown et coll., 2011). Par

cet effet analgésique, le fentanyl module indirectement l'état de veille. De plus, cette drogue diminue la libération d'acétylcholine par la formation réticulée pontine (Lydic et Baghdoyan, 2005) qui influence aussi l'excitabilité corticale. Malgré son effet sédatif, le fentanyl génère néanmoins des activités électriques spontanées apparemment désynchronisées et similaires à celles enregistrées lors de l'éveil (Mahon et coll., 2001, 2006 ; Steriade et coll., 2001 ; Bruno et Sakmann, 2006). Aux concentrations de fentanyl utilisées dans notre étude, l'ECOG exprimait des activités de faibles amplitudes et composées d'oscillations rapides dans les bandes de fréquences *bêta/gamma*.

Au niveau intracellulaire, l'activité des cellules pyramidales présentait des propriétés comparables à celles enregistrées lors de la veille (Mahon et coll., 2001 ; Steriade et coll., 2001 ; Constantinople et Bruno, 2011). Le potentiel membranaire moyen était dépolarisé et situé dans la gamme de potentiel observé chez l'animal éveillé (Steriade et coll., 2001 ; Rudolph et coll., 2007). Ce bruit synaptique se traduisait par une distribution unimodale du potentiel membranaire, comme cela a pu être précédemment rapporté lors de l'éveil (Steriade et coll., 2001 ; Constantinople et Bruno, 2011) ou à la suite de l'activation du système activateur ascendant (Rudolph et coll., 2005), lequel était composé de fluctuations de faibles amplitudes oscillant à hautes fréquences. De plus, l'activité corticale sous fentanyl était associée à une fréquence de décharge soutenue des cellules pyramidales, similaire à celle enregistrée chez le rat éveillé (de Kock et Sakmann, 2009 ; Vijayan et coll., 2010). Le coefficient de variation de la décharge était aux alentours de 1, en accord avec la forte irrégularité de la décharge enregistrée lors de l'éveil (Shadlen et Newsome, 1998).

La correspondance de cet état cortical, induit par le fentanyl, avec un état d'éveil se retrouve aussi dans la réponse corticale à des stimulations sensorielles. Chez l'homme, l'injection de fentanyl ne modifie ni l'amplitude, ni la latence des potentiels évoqués par des stimulations visuelles ou somatosensorielles (Loughnan et coll., 1987 ; Koht, 1988). Chez le rat, plusieurs études ont montré que le fentanyl ne modifiait ni l'amplitude des potentiels postsynaptiques (Bruno et Sakmann, 2006 ; Pidoux et coll., 2011) ni la latence des potentiels d'action (Simons et coll., 1992) évoqués par la stimulation des vibrisses. L'ensemble de ces observations suggère fortement que l'état cortical induit par le fentanyl mime de manière fiable et pertinente, un état d' « activation », apparenté à un état de veille.

Dans le but de mimer une activité synaptique spontanée de sommeil, nous avons utilisé le pentobarbital. Cette drogue est un hypnotique de la famille des barbituriques dont

l'effet principal est de potentialiser l'activité GABAergique en augmentant le temps d'ouverture du canal GABA_A, prolongeant ainsi l'effet inhibiteur postsynaptique (Richards, 2002 ; Mathers et coll., 2007). Le pentobarbital agit rapidement au niveau des centres respiratoires et de veille du tronc cérébral, du prosencéphale basal et de l'hypothalamus, diminuant consécutivement l'« activation » corticale (Brown et coll., 2011). Le pentobarbital modifie ainsi l'état de vigilance et l'activité synaptique spontanée aux niveaux des réseaux corticaux. Suite à l'injection de doses modérées de pentobarbital, l'enregistrement ECoG présentait des fluctuations de potentiel de grandes amplitudes oscillant périodiquement à faibles fréquences (7-14 Hz) (Steriade et coll., 1993b ; Contreras et Steriade, 1996 ; Steriade, 1997), proche des fuseaux d'endormissement observés dans les premiers stades de sommeil chez le rat (Timo-Iaria et coll., 1970 ; Gottesmann, 1992 ; Mahon et coll., 2006) et le chat (Steriade et coll., 1993b ; Fuentealba et coll., 2005). Au niveau intracellulaire, le potentiel membranaire des neurones corticaux oscillait en phase avec les ondes rythmiques de l'ECoG (Mahon et coll., 2001), suggérant une forte synchronie à basse fréquence des dépolarisations synaptiques au sein des réseaux corticaux (Steriade et coll., 1993b).

4-2.2 Impact différentiel des différents bruits synaptiques sur les neurones corticaux

En comparaison au bruit synaptique de type « éveil », l'activité spontanée de type « sommeil » était caractérisée par un potentiel membranaire plus hyperpolarisé, oscillant périodiquement à des fréquences plus lentes. Les fluctuations de potentiel membranaire étaient, par ailleurs, nettement plus amples dans cet état. La suppression de l'activité spontanée, qu'elle soit de type oscillatoire ou apparemment « desynchronisée », avait pour effet d'hyperpolariser le neurone, en accord avec l'effet dépolarisant du bruit synaptique sur le potentiel membranaire moyen (Paré et coll., 1998 ; Paré et Destexhe, 1999 ; Rudolph et coll., 2007).

Nous avons montré *in vivo* que la présence de bruit synaptique induisait, comparativement à l'état isoélectrique, une translation de la relation entrée-sortie vers la gauche traduisant une augmentation de la sensibilité du neurone à des entrées excitatrices de faible intensité (Destexhe et coll., 2003 ; Abbott et Chance, 2005 ; Cardin et coll., 2008 ; Haider et McCormick, 2009). L'injection de courant *DC* reproduisait cet effet additif sur la relation entrée-sortie, suggérant que la sensibilité à de faibles entrées était contrôlée par le niveau du potentiel membranaire moyen. Il est néanmoins probable que les fluctuations de

potentiel membranaire, générées par les deux types d'activités synaptiques spontanées, participent aussi à l'augmentation de sensibilité observée, comme cela a été suggéré par des études computationnelles (Hô et Destexhe, 2000 ; Salinas et Sejnowski, 2000) et expérimentales utilisant le *dynamic-clamp in vitro* (Chance et coll., 2002 ; McCormick et coll., 2003 ; Shu et coll., 2003a). Ce dernier mécanisme pourrait expliquer l'absence de différence de sensibilité en présence d'un bruit synaptique de type « sommeil », comparé à l'éveil, alors que le potentiel membranaire est plus hyperpolarisé. L'effet soustractif qui devrait résulter de l'hyperpolarisation membranaire sous pentobarbital serait donc compensé par l'augmentation des fluctuations de potentiel membranaire, résultant des oscillations synchrones de type « sommeil » (Hô et Destexhe, 2000). De plus, la résistance membranaire, légèrement plus élevée dans cet état, pourrait agir en augmentant la réponse du neurone pour de faibles courants dépolarisants (Destexhe et coll., 2003 ; McCormick et coll., 2003).

La fréquence de décharge des neurones dans une condition de type « éveil » était relativement élevée dans les neurones pyramidaux de la couche V, confirmant ainsi la vision selon laquelle les neurones sont soumis dans cet état de vigilance à un bombardement synaptique intense (Steriade et coll., 2001 ; Destexhe et coll., 2003 ; Sachdev et coll., 2004). Cependant, en contradiction avec nombre de précédentes études comparant, *in vivo*, la résistance membranaire dans les états « hauts » et « bas » associés aux ondes lentes (Timofeev et coll., 1996 ; Paré et coll., 1998 ; Destexhe et Paré, 1999 ; Rudolph et coll., 2005, 2007 ; Léger et coll., 2005), l'intense barrage synaptique dans ces neurones ne semblait pas influencer la résistance membranaire au niveau somatique. Ces résultats se révèlent néanmoins en accord avec des études menées sous uréthane dans le cortex à tonneaux de rat *in vivo* (Zou et coll., 2005 ; Waters et Helmchen, 2006), ou encore avec celles décrivant une résistance membranaire similaire ou plus élevée pendant les états « activés » que pendant les états de silence synaptique dans le réseau cortical (Steriade et coll., 2001 ; Rudolph et coll., 2005). Une étude a par ailleurs pu montrer que l'absence de changement de résistance observée était due à la présence d'une rectification entrante dans le sens dépolarisant (Waters et Helmchen, 2006). Cependant, dans notre étude, aucune rectification membranaire n'a pu être mise en évidence en présence comme en l'absence d'activité synaptique.

Il est possible que l'impact du bombardement synaptique sur la résistance membranaire du neurone varie en fonction de l'organisation, le long de l'arborisation dendritique, des connexions synaptiques, et du répertoire de canaux ioniques spécifiques à

chaque neurone. En accord avec cette hypothèse, la modulation de la résistance membranaire par l'activité spontanée peut être assez variable d'une cellule à l'autre (Reig et coll., 2015). De plus, une étude a montré que les périodes de suppression de l'activité synaptique spontanée, induites par une anesthésie à l'isoflurane chez le chat, conduisaient à une augmentation ou une diminution de la résistance membranaire, en fonction des cellules enregistrées (Ferron et coll., 2009). Enfin, une étude menée dans le néocortex de rat *in vitro* a montré que dans les cellules pyramidales du néocortex, les conductances synaptiques étaient compartimentalisées dans un espace restreint le long de l'arborisation dendritique (Williams, 2004). Ceci suggère que les entrées synaptiques sur les dendrites des neurones pyramidaux peuvent n'avoir qu'un impact relativement faible au niveau somatique, dans les neurones enregistrés dans notre étude. Cela peut être dû à leur morphologie ainsi qu'à l'organisation des connexions synaptiques sur l'arborisation dendritique, spécifique à chaque espèce et à chaque région corticale (Lund et coll., 1993 ; Elston, 2002 ; Reig et coll., 2015). L'impact du bruit synaptique sur la résistance membranaire somatique pourrait donc être relativement limité dans les neurones pyramidaux des couches profondes du cortex à tonneaux du rat.

Le bruit synaptique de type « désynchronisé » induisait une augmentation significative du gain de la relation entrée-sortie neuronale. Ainsi un contexte synaptique de type « éveil » accroît la variation relative de la fréquence de décharge pour des entrées d'intensité croissante. Cette observation contraste avec plusieurs études de *dynamic-clamp* montrant que l'augmentation de conductance, combinée aux fluctuations de voltage membranaire générées par le bruit synaptique, diminue le gain de la relation $F-I$ (Chance et coll., 2002 ; McCormick et coll., 2003 ; Shu et coll., 2003a). L'augmentation du gain observé ici est cependant en accord avec d'autres études *in vitro*, qui utilisent aussi la technique de *dynamic-clamp* ou celle de *current-clamp*. Elles montrent que des fluctuations du potentiel membranaire peuvent être sans effet ou provoquer une augmentation du gain neuronal (Destexhe et coll., 2001 ; Higgs et coll., 2006 ; Fernandez et coll., 2011). Le bruit pourrait augmenter le gain en diminuant la conductance potassique, impliquée dans l'adaptation lente, lors de la décharge de potentiels d'action (Higgs et coll., 2006). Cette conductance potassique étant d'autant plus importante que la décharge neuronale est élevée, la présence d'un bruit synaptique intense aurait donc un effet multiplicatif sur la relation entrée-sortie neuronale. Il est possible aussi que la dépolarisation observée en présence de bruit synaptique induise une modification du gain de la relation entrée-sortie en bloquant des conductances potassiques voltage-dépendantes et/ou en mettant en jeu une rectification entrante dans le sens dépolarisant, due à

l'activation de canaux sodiques de type persistant (Steriade, 2004). En présence d'un bruit synaptique de type « sommeil », les fluctuations de potentiel membranaire de plus grandes amplitudes, associées à des entrées synaptiques plus synchrones comparé au bruit de type « éveil », pourraient participer à la diminution de la pente de la courbe $F-I$ (Hô et Destexhe, 2000).

En présence d'une activité synaptique de type « éveil », le coefficient de variation de la décharge était très irrégulier (proche de 1), impliquant une distribution aléatoire des ISI (Shadlen et Newsome, 1998 ; Salinas et Sejnowski, 2000). Ce coefficient de variation était similaire à celui enregistré chez l'animal éveillé (Softky et Koch, 1993 ; Stevens et Zador, 1998). Sous pentobarbital, la fréquence de décharge spontanée était légèrement plus faible. En accord avec plusieurs études précédentes (Arieli et coll., 1996 ; Azouz et Gray, 1999), nous avons montré que le bruit synaptique avait pour effet de générer des décharges très variables d'un essai à l'autre lors d'injections répétées de stimuli de même intensité. En absence d'activité spontanée, la régularité de la fréquence de décharge et du patron de décharge étaient sensiblement similaires à celle observée *in vitro* (Mainen et Sejnowski, 1995 ; McCormick et coll., 2003). Cette observation suggère que la variabilité des réponses résulte principalement des fluctuations spontanées du potentiel membranaire.

Etonnamment, les deux patrons d'activité synaptique spontanée, dont les dynamiques étaient visiblement très différentes, induisaient une variabilité similaire de décharges évoquées à la fois dans le taux et le patron temporel de décharge. Les fluctuations oscillatoires du potentiel membranaire sous pentobarbital suggèrent que le réseau afférant s'active de manière synchrone et périodique. Cette dynamique d'activité provoque un patron de décharge relativement régulier mais contraint par la fréquence à laquelle le réseau oscille (Ermentrout et coll., 2008 ; Tiesinga et coll., 2008). Ainsi, il est possible que, dans cet état, l'irrégularité du patron temporel de décharge, résulte du fait que la stimulation soit générée de manière indépendante par rapport à la phase de l'oscillation.

4-2.3 Conséquences sur le traitement des informations sensorielles

La présence d'un bruit synaptique désynchronisé dans le réseau cortical avait pour effet de diminuer significativement l'amplitude de la dépolarisation synaptique évoqué par la stimulation des vibrisses. La dépolarisation membranaire, au cours de ce tonus synaptique, participe probablement à cet effet en diminuant la force électromotrice des courants

synaptiques excitateurs (Petersen et coll., 2003 ; Sachdev et coll., 2004 ; Crochet et Petersen, 2006 ; Haider et coll., 2007). De manière cohérente, l'amplitude de la réponse synaptique était significativement plus grande en présence d'une activité de type sommeil, durant laquelle le potentiel membranaire était en moyenne plus hyperpolarisé. De plus, comme montré par de nombreuses études comparant la réponse corticale dans des états de veille et de sommeil (Meeren et coll., 1998 ; Massimini et coll., 2005), le potentiel évoqué cortical était plus ample sous pentobarbital, ce qui suggérait une augmentation globale des entrées synaptiques thalamo-corticales dans le cortex à tonneaux (Coenen, 1995 ; Haider et coll., 2007). Supportant cette hypothèse, le mode de décharge en bouffées dû à l'hyperpolarisation de ces neurones lors du sommeil lent, contrastant avec la décharge tonique pendant la veille (Glenn et Steriade, 1982 ; McCormick et Bal, 1997 ; Sherman, 2001 ; Crunelli et coll., 2006), devait renforcer le poids synaptique sur leurs cibles corticales et accroître les activités de réseau. Cependant, une étude de *dynamic clamp* a montré qu'en présence de bruit synaptique, le mode de décharge en bouffées des neurones thalamo-corticaux n'était pas limité à des états hyperpolarisés (Wolfart et coll., 2005). De plus, la probabilité de réponse du neurone thalamique à l'injection d'une conductance mimant une entrée synaptique devenait indépendante du potentiel membranaire en présence de bruit synaptique (Wolfart et coll., 2005). Par ailleurs, la similarité de latence de la réponse et de ces différentes composantes, ainsi que de la pente de dépolarisation dans chacune des conditions d'activité spontanée donnaient à penser que le réseau sensoriel mis en jeu suite à la stimulation des vibrisses était similaire en présence d'une activité de type « éveil » et de type « sommeil » (Pidoux et coll., 2011).

En accord avec des études ultérieures (Azouz et Gray, 1999 ; Haider et coll., 2007 ; Rigas et Castro-Alamancos, 2009), et de façon concordante avec nos résultats montrant une augmentation de sensibilité neuronale en présence de bruit synaptique, notre étude montrait que les neurones corticaux étaient plus excitables lors des stimulations sensorielles quand ceux-ci étaient soumis à une activité synaptique. En effet, plus de 63 % des neurones généraient une réponse supra-liminaire en présence de bruit synaptique, alors que la probabilité de décharge de ces mêmes neurones était nulle après suppression de l'activité synaptique spontanée. De plus, la probabilité de décharge évoquée par la stimulation des vibrisses était toujours plus élevée en présence d'activité synaptique spontanée, démontrant une augmentation de la fiabilité du neurone à évoquer un PA à la suite d'une série de

stimulations sensorielles (Tiesinga et coll., 2008). Malgré l'hyperpolarisation des neurones sous pentobarbital, leur capacité à générer un PA demeurait assez similaire à celle mesurée sous fentanyl. Ce résultat est cohérent avec la similarité de sensibilité neuronale calculée sur la relation $F-I$ en présence de deux types de bruit synaptique.

En présence d'activité spontanée, la réponse évoquée au niveau du réseau cortical et des neurones était plus précoce comparé à l'état isoélectrique. Nous avons montré que l'activité spontanée avait pour effet de diminuer la latence du pic de la dépolarisation intracellulaire, ainsi que celle du PA généré. Cette accélération de la réponse en présence de bruit, déjà montré *in vitro* (Shu et coll., 2003a ; Rigas et Castro-Alamancos, 2009) et *in vivo* (Haider et coll., 2007), semble être associée à l'état dépolarisé des neurones corticaux, et aussi très probablement, des neurones thalamiques. La pente de la dépolarisation du potentiel postsynaptique étant en moyenne similaire, la différence de potentiel membranaire plus ample dans l'état hyperpolarisé nécessite donc un temps de dépolarisation plus long. On peut supposer que, pour les mêmes raisons, la latence du PA thalamique soit plus lente, amplifiant ainsi le ralentissement de l'intégration synaptique au niveau cortical.

De même qu'en réponse à des injections de courant, la réponse sensorielle neuronale est beaucoup plus irrégulière en présence de bruit synaptique. Cette variabilité d'amplitude de la réponse est dépendante des fluctuations de potentiels survenant au moment de la fluctuation (Arieli et coll., 1996 ; Petersen et coll., 2003 ; Fontanini et coll., 2008). Nous avons observé, sur l'ensemble des cellules enregistrées, que la variabilité d'amplitude des réponses était relativement réduite lors d'une activité de type « éveil », en accord avec la plus faible amplitude des fluctuations membranaires dans cet état. La variabilité d'amplitude de la réponse sous-liminaire était cohérente avec la variabilité de latence de la décharge en présence de bruit synaptique, contrastant avec la précision de la réponse supra-liminaire dans l'état isoélectrique.

4-2.4 Implications sur le système des vibrisses : du neurone au comportement

Il apparaît donc que les activités synaptiques spontanées, bien qu'extrêmement coûteuses en énergie (Raichle, 2010), permettent d'augmenter considérablement la vitesse d'intégration et la sensibilité des neurones à des entrées sensorielles provenant des vibrisses du rat.

Lors de l'éveil, le rat est dans une interaction constante avec son environnement. L'information provenant du système des vibrisses est essentielle pour lui permettre de s'orienter, d'optimiser son déplacement, et de se faire une représentation spatiale de l'environnement (Kleinfeld et Deschênes, 2011). La modulation du gain de la fonction de transfert neuronale par l'activité spontanée de type « éveil » correspond à un ré-échelonnage des réponses neuronales pour une même gamme d'intensité de stimulation. L'accroissement du gain des réponses neuronales pourrait permettre aux neurones de mieux dissocier les entrées sensorielles qu'il reçoit. Les projections efférentes du cortex somatosensoriel primaire sur les structures corticales et sous-corticales permettraient de générer une réponse motrice ainsi qu'un retour sensoriel optimal et spécifique à chaque stimulation de l'environnement.

Lors de l'éveil, il est possible que la propagation de l'information dans le système thalamo-cortical soit plus restreinte spatialement (Muller et Destexhe, 2012), provoquant l'activation d'un nombre plus faible de neurones corticaux et expliquant l'amplitude réduite du potentiel évoqué dans cet état. Cette augmentation de la résolution spatiale, déjà décrite chez le rongeur (Petersen et coll., 2003), est en accord avec la diminution des champs récepteurs des neurones corticaux dans un état de veille (Simons et coll., 1992 ; Wörgötter et coll., 1998) et cohérente avec la capacité des neurones, décrite dans notre étude, à dissocier plus finement des entrées distinctes. Chez l'animal éveillé, l'activité de type « désynchronisé » pourrait permettre de limiter la propagation aux stimuli « sensés » et de filtrer ainsi les informations non pertinentes (Meeren et coll., 1998). Les neurones thalamo-corticaux constituant la principale voie d'entrée des informations sensorielles au cortex, il serait intéressant, par la suite, d'identifier, dans les mêmes conditions expérimentales, comment ces différentes conditions de bruit synaptique affectent l'intégration et la propagation des informations sensorielles dans les neurones relais thalamiques.

Nous avons pu montrer que le bruit synaptique provoquait une forte variabilité dans la réponse neuronale. Il en découle que cette variabilité est essentielle au système sensoriel car elle permet de contextualiser la stimulation perçue à un temps donné (Arieli et coll., 1996 ;

Fontanini et Katz, 2008). En effet, le caractère constamment variable de la réponse, permet d'intégrer, en plus de la composante reproductible dépendante du stimulus, une composante variable dépendant de l'état cérébral au moment de la stimulation. Ainsi, les autres modalités sensorielles, les aires d'intégration supérieures, et l'activité motrice, sont à tout moment susceptibles de contrôler l'intégration et la transmission de l'information des vibrisses en influençant la dynamique de l'activité synaptique de fond. De cette façon, l'intégration sensorielle s'effectue de façon optimale par rapport à l'état interne du cerveau à l'instant de la stimulation.

Chez l'animal éveillé, il est néanmoins nécessaire que la réponse sensorielle soit transmise de manière suffisamment fiable dans le temps, afin de traiter correctement cette information. Dans notre étude, nous avons pu distinguer uniquement une diminution de la variabilité sous-liminaire dans l'état de type « éveil » sans modulation de la probabilité de décharge ni de sa précision temporelle d'un essai à l'autre. Etant donné l'augmentation supposée de la sélectivité spatiale de la réponse pendant l'éveil, il est possible que, dans notre protocole expérimental, les enregistrements non spécifiques, effectués dans l'ensemble du cortex à tonneaux, aient atténué l'augmentation de probabilité et de précision temporelle observable au niveau d'une colonne morpho-fonctionnelle spécifique.

4-3 POTENTIALITES DU CERVEAU SANS POTENTIEL

4-3.1 Mécanismes d'induction de l'état isoélectrique

Différentes étiologies peuvent mener à une inactivité électro-cérébrale, caractérisée par un tracé EEG plat (Young, 2000 ; Husain, 2006). Dans notre étude, nous avons utilisé un état isoélectrique induit par l'injection systémique de pentobarbital. Ce barbiturique agissait en plusieurs dizaines de minutes. Il avait d'abord pour effet d'augmenter le spectre de puissance de l'EEG pour les basses fréquences. Puis, l'activité spontanée était interrompue par des périodes isoélectriques de durées croissantes, alternant avec des bouffées d'activité de tailles de plus en plus réduites, caractérisant un patron EEG de type « *burst-suppression* » (Steriade et coll., 1994 ; Husain, 2006). Enfin, les bouffées d'activités disparaissaient, laissant place à un EEG totalement isoélectrique.

Les mécanismes d'action du pentobarbital décrits dans la littérature sont complexes et parfois contradictoires. En effet, cette drogue semble agir principalement comme un potentiateur de l'activité GABAergique, en augmentant le temps d'ouverture du canal GABA_A en présence de GABA (Richards, 1972, 2002 ; Steinbach et Akk, 2001 ; Wan et coll., 2003 ; Rudolph et Antkowiak, 2004), augmentant ainsi la conductance membranaire neuronale (Mathers et coll., 2007). Cependant, l'action du pentobarbital dépend fortement de sa concentration (Wan et coll., 2003). Ainsi, il a été montré que jusqu'à des concentrations élevées, le pentobarbital n'activait pas, seul, le R-GABA_A (Mathers et Barker, 1980 ; Wan et coll., 2003). Une autre étude a montré également qu'en fonction de la dose, l'effet du pentobarbital était opposé : à de faibles doses, le pentobarbital potentialisait l'activité GABAergique, alors qu'à des doses élevées, il provoquaient le blocage du R-GABA_A (Muroi et coll., 2009). De plus, le pentobarbital pourrait agir au niveau présynaptique en inhibant la sécrétion de glutamate et en augmentant la sécrétion de GABA (Richards, 2002), ainsi qu'au niveau postsynaptique en bloquant les récepteurs AMPA et NMDA (Richards, 2002 ; Rudolph et Antkowiak, 2004). Enfin le pentobarbital pourrait, à faible dose, agir, au niveau somatique, en activant les courants potassiques I_{Kir} et I_{leak} ainsi qu'en inhibant le courant I_H (Wan et coll., 2003).

En résumé le pentobarbital a une action variable en fonction de la dose administrée ; il opère de façon non spécifique sur de nombreux sites d'action, synaptiques et membranaires ;

et l'ensemble de ses mécanismes d'action est globalement cohérent avec une diminution de l'activité des neurones et un effet inhibiteur sur l'activité synaptique excitatrice.

Dans notre protocole expérimental, les activités spontanées sur l'ECOG et au niveau intracellulaire disparaissaient progressivement et avec des cinétiques similaires, suggérant que l'ensemble des transmissions synaptiques excitatrices et inhibitrices étaient supprimées. De plus, dans l'état isoélectrique, aucune décharge spontanée ne survenait et la résistance membranaire n'était pas affectée par la suppression progressive de l'activité spontanée (Ferron et coll., 2009 ; Taub et coll., 2013), contrairement à la forte diminution attendue lorsque les canaux GABAergiques étaient ouverts (Mathers et coll., 2007). En somme, nos résultats suggèrent que cette drogue n'avait pas d'effet direct sur les propriétés électriques membranaires des neurones (Taub et coll., 2013).

Nous émettons l'hypothèse que l'injection de pentobarbital augmente dans un premier temps la transmission synaptique inhibitrice, menant à une réduction de la fréquence de décharge des cellules pyramidales et des interneurons (Lukatch et coll., 2005 ; Taub et coll., 2013). Puis, la diminution progressive de la transmission excitatrice provoque un arrêt de la décharge spontanée de l'ensemble des neurones se traduisant par la suppression de toute transmission synaptique, et aboutissant finalement à l'induction d'un circuit neuronal latent. L'arrêt de l'activité synaptique spontanée, observé simultanément dans les deux hémisphères cérébraux ainsi que dans le thalamus (observation personnelle), renforce l'hypothèse d'un arrêt global de l'activité synaptique spontanée dans tout le cerveau. Le silence neuronal ainsi que des circuits corticaux et sous-corticaux, mène donc à un EEG et un potentiel membranaire complètement isoélectrique.

4-3.2 Isoélectrique mais activable

L'inactivité électro-cérébrale est le profil EEG le plus sévère que l'on puisse observer (Husain, 2006). Quelle que soit son étiologie, anoxique, traumatique ou médicamenteuse, ce profil est généralement considéré comme étant associé à une suppression de l'excitabilité neuronale (Ferron et coll., 2009) et à une incapacité totale du cerveau à répondre à des stimulations sensorielles, que ce soit chez l'homme ou l'animal (Domino et coll., 1963 ; Kirshbaum et Carollo, 1970 ; Kroeger et Amzica, 2007).

Au cours de ma thèse j'ai montré que les neurones corticaux étaient toujours excitables dans un état isoélectrique induit par les barbituriques. La stimulation directe du neurone par des injections de courant dépolarisant permettait de générer un ou plusieurs potentiels d'action. De plus, les stimulations sensorielles effectuées chez l'homme et chez l'animal ont montré que, dans cet état cérébral extrême, les informations sensorielles pouvaient toujours être intégrées et propagées, des fibres sensorielles primaires jusqu'au cortex somatosensoriel primaire, et même au-delà étant donné la capacité des neurones de sortie du cortex somatosensoriel (cellules pyramidales des couches profondes) à générer des potentiels d'action.

La latence de la réponse corticale et intracellulaire était néanmoins plus grande en absence d'activité spontanée. Ce résultat est cohérent avec des études précédentes mesurant l'impact d'une augmentation progressive des doses de barbiturique sur les potentiels évoqués chez l'homme et chez l'animal (Ciganek, 1961 ; Domino et coll., 1963 ; Ikuta, 1966 ; Sutton et coll., 1982). Il demeure toutefois peu probable que ce ralentissement soit directement dû à un effet du pentobarbital car celui-ci n'affecte pas la vitesse de conduction axonale (Thornton et coll., 1968 ; Sutton et coll., 1982 ; Richards, 2002). L'hyperpolarisation de l'ensemble des neurones centraux en raison de l'absence d'activité synaptique spontanée, pourrait en revanche expliquer l'augmentation de latence de la réponse corticale (Hasenstaub et coll., 2007 ; Rigas et Castro-Alamancos, 2009). En effet, la vitesse de dépolarisation du potentiel postsynaptique dépolarisant étant similaire, il est possible que l'hyperpolarisation, en provoquant une augmentation du temps de dépolarisation jusqu'au seuil de décharge, est pour effet de ralentir progressivement la propagation de l'information, de la fibre sensorielle primaire jusqu'au neurone cortical.

Le patron de décharge évoqué par des injections de courant était très régulier d'un essai à l'autre. De la même façon, à la suite de stimulations sensorielles, l'amplitude du potentiel évoqué cortical ainsi que celle du potentiel postsynaptique apparaissait nettement plus reproductible, suggérant que le bruit synaptique était la principale cause de la variabilité de réponse. Cependant, il persistait une variabilité non négligeable d'un essai à l'autre dans l'amplitude des potentiels postsynaptiques. Cette variabilité intrinsèque, probablement due à une autre forme de bruit associée à la transmission synaptique probabiliste dans les réseaux neuronaux, peut expliquer la capacité du neurone dans cet état isoélectrique, à répondre de

manière probabiliste et non de façon binaire comme cela a pu être décrit dans des études réalisées *in vitro* ainsi que dans des modèles computationnels en absence de bruit synaptique (Hô et Destexhe, 2000 ; Shu et coll., 2003a).

Les enregistrements multi-EEG effectués chez l'homme et le rat (observations personnelles) suggèrent que dans cet état, la réponse sensorielle n'est pas restreinte à l'aire sensorielle associée au stimulus mais qu'elle est propagée quasi-simultanément à l'ensemble du néocortex. Etant donné la faible probabilité de décharge au niveau cortical, et la faible différence de latence entre les potentiels évoqués des différentes aires corticales dans l'état isoélectrique, cette perte de sélectivité spatiale, semble être due à une transmission thalamo-corticale anormalement diffuse, sans doute en raison d'une dérégulation des réseaux synaptiques excitateurs du thalamus ou du noyau trigéminal du tronc cérébral.

4-3.3 Vers une réévaluation neurophysiologique du coma neuroprotecteur et de la mort encéphalique ?

Nos résultats ont montré que l'EEG isoélectrique, associé à l'arrêt des activités électro-cérébrales endogènes, n'était pas synonyme d'une suspension de l'excitabilité neuronale et d'une déconnexion fonctionnelle du cerveau avec son environnement. Le maintien des propriétés d'excitabilité cellulaire et d'une sensibilité des circuits périphériques et centraux à des stimuli exogènes confirment les rares cas de réactivité cérébrale sensorielle décrits chez l'homme présentant un tracé EEG isoélectrique résultant d'une hypothermie (Stecker et coll., 2001), d'une anoxie, d'un trauma crânien ou encore provoqué par une tumeur cérébrale (Trojaborg et Jorgensen, 1973).

Dans notre étude, l'arrêt des activités électro-cérébrales était provoqué par l'administration de fortes doses de barbiturique. L'utilisation de cet anesthésique central est souvent utilisé en dernier recours chez des patients souffrant d'« état de mal épileptique » hyper-réfractaire dans le but d'interrompre la crise épileptique (Claassen et coll., 2002 ; Dan et Boyd, 2006). Bien que les barbituriques soient très efficaces pour stopper l'état de mal, le coma neuroprotecteur induit peut néanmoins avoir des effets délétères et peut même, lors d'administration prolongée, provoquer la mort (Yaffe et Lowenstein, 1993). La démonstration d'une persistance d'excitabilité corticale, au niveau de larges réseaux et des neurones individuels, au cours d'un silence cérébral de longue durée conduit à réévaluer l'état

fonctionnel du cortex dans une telle condition. Chez les patients, dont les activités neuronales individuelles ne peuvent être enregistrées, un examen plus approfondi des potentiels évoqués pourrait néanmoins permettre une évaluation plus fine de la profondeur du coma, d'établir un pronostic de récupération et, ainsi, d'optimiser les doses de thiopental administrées aux patients.

Un EEG isoélectrique de longue durée, confirmé de manière répétée, est aussi un des critères électrocliniques participant à l'établissement du diagnostic de mort encéphalique. Bien que la question demeure controversée (Bernat, 2013), la mort encéphalique est classiquement définie, d'un point de vue neurophysiologique, comme un arrêt irréversible des activités du cerveau « dans son ensemble » (Laureys, 2005), incluant une disparition des réflexes du tronc cérébral, un coma totalement aréactif, une apnée et, selon les pays et les époques, un tracé EEG « plat », de longue durée et répété. Cette définition, qui présente également une valeur juridique, se fonde sur des critères physiologiques et neurophysiologiques « intégrés ». Dès lors, ni le statut fonctionnel des neurones individuels, ni la potentialité des réseaux neuronaux à intégrer des informations ne sont pris en compte (Bernat, 2013).

Au cours des derniers mois de mes recherches doctorales, j'ai pu avec mon directeur de thèse (et sous le contrôle des médecins du service de réanimation neurologique) observer chez une patiente diagnostiquée en état de mort encéphalique, une activité EEG dans les régions fronto-polaires suite à des séries de stimulations visuelles. Cette observation, apparemment incompatible avec « un arrêt irréversible des activités du cerveau dans son ensemble », a en fait déjà été décrite dans la littérature (Arfel, 1967). Elle a pu être attribuée à une contamination des potentiels évoqués visuels par des potentiels électrorétinographiques résiduels, survivant pendant plusieurs heures à l'extinction des activités cérébrales spontanées (Arfel, 1967 ; Machado et coll., 1993). Bien que, dans le cas que nous avons examiné, un tel processus n'est pas exclu, il reste néanmoins possible, que l'activité électrique observé soit compatible avec de « véritables » potentiels corticaux. Il n'est pas question à ce stade de reconsidérer l'établissement du diagnostic de mort cérébrale, démontrant le caractère irréversible de la cessation des fonctions cérébrales globales (Shutter, 2014). En revanche, il apparaît à la lumière de nos travaux que « mort cérébrale » n'est pas équivalent à « mort neuronale », ou même à perte des processus d'intégration et de propagation des événements neurophysiologiques. Un examen détaillé des propriétés intrinsèques et synaptiques neuronales dans des préparations animales de mort encéphalique (utilisant les diverses

étiologies décrites chez l'homme) devrait apporter de nouvelles informations sur le véritable statut neurophysiologique du cerveau, du neurone au réseau de grande dimension, dans cette *terra incognita* physiologique que constitue la zone péri-mortem.

5 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott LF et Chance FS (2005). Drivers and modulators from push-pull and balanced synaptic input. *Prog Brain Res* 149, 147–155.
- Adrian E et Matthews B (1934). The Berger rhythm: potential changes from the occipital lobes in man. *Brain* 57, 355–385.
- Altwegg-Boussac T, Chavez M, Mahon S et Charpier S (2014). Excitability and responsiveness of rat barrel cortex neurons in the presence and absence of spontaneous synaptic activity in vivo. *J Physiol* 592, 3577–3595.
- Altwegg-Boussac T, Mahon S, Chavez M, Charpier S et Schramm AE (in press). Induction of an isoelectric brain state to investigate the impact of endogenous synaptic activity on neuronal excitability in vivo. *J Vis Exp*.
- Amzica F et Steriade M (2000). Integration of low-frequency sleep oscillations in corticothalamic networks. *Acta Neurobiol Exp* 60, 229–245.
- Andraus MEC et Alves-Leon SV (2011). Non-epileptiform EEG abnormalities: an overview. *Arq Neuropsiquiatr* 69, 829–835.
- André-Obadia N, Sauleau P, Cheliout-Heraut F, Convers P, Debs R, Eisermann M, Gavaret M, Isnard J, Jung J, Kaminska A, Kubis N, Lemesle M, Maillard L, Mazzola M, Michel V, Montavont A, N’Guyen S, Navarro V, Parain D, Périn B, Rosenberg SD, Sediri H, Soufflet C, Szurhaj W, Taussig D, Touzery-De Villepin A, Verceuil L et Lamblin MD (2014). Recommandations françaises sur l’électroencéphalogramme. *Neurophysiol Clin Neurophysiol* 44, 515–612.
- Arfel G (1967). Stimulations visuelles et silence cérébral. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 23, 172–175.
- Arieli A, Sterkin A, Grinvald A et Aertsen A (1996). Dynamics of ongoing activity: explanation of the large variability in evoked cortical responses. *Science* 273, 1868–1871.
- Armstrong-James M, Fox K et Das-Gupta A (1992). Flow of excitation within rat barrel cortex on striking a single vibrissa. *J Neurophysiol* 68, 1345–1358.
- Armstrong-James M et George MJ (1988). Influence of anesthesia on spontaneous activity and receptive field size of single units in rat Sm1 neocortex. *Exp Neurol* 99, 369–387.
- Aserinsky E et Kleitman N (1953). Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science* 118, 273–274.
- Azouz R (2005). Dynamic spatiotemporal synaptic integration in cortical neurons: neuronal gain, revisited. *J Neurophysiol* 94, 2785–2796.

- Azouz R et Gray CM (1999). Cellular mechanisms contributing to response variability of cortical neurons in vivo. *J Neurosci* 19, 2209–2223.
- Bean BP (2007). The action potential in mammalian central neurons. *Nat Rev Neurosci* 8, 451–465.
- Bellavance M-A, Demers M et Deschênes M (2010). Feedforward inhibition determines the angular tuning of vibrissal responses in the principal trigeminal nucleus. *J Neurosci* 30, 1057–1063.
- Belze O, Remérand F, Pujol A et Fusciardi J (2013). Hyperammonaemic encephalopathy and a flat electroencephalogram caused by valproic acid. *Acta Anaesthesiol Scand* 57, 1084–1084.
- Bennett C, Arroyo S et Hestrin S (2013). Subthreshold mechanisms underlying state-dependent modulation of visual responses. *Neuron* 80, 350–357.
- Bental E et Leibowitz U (1961). Flat electroencephalograms during 28 days in a case of “encephalitis.” *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 13, 457–460.
- Berger H (1929). Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* 87, 527–570.
- Berger H (1930). Über das Elektrenkephalogramm des Menschen II. *Arch. J Psychol Neurol.* 40, 160–179.
- Berger H (1933). Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* 100, 301–320.
- Bernander O, Douglas RJ, Martin KA et Koch C (1991). Synaptic background activity influences spatiotemporal integration in single pyramidal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 11569–11573.
- Bernat JL (2013). Controversies in defining and determining death in critical care. *Nat Rev Neurol* 9, 164–173.
- Bialek W (1987). Physical limits to sensation and perception. *Annu Rev of Biophysic Chem* 16, 455–478.
- Bindman LJ (1988). Comparison of the electrical properties of neocortical neurones in slices in vitro and in the anaesthetized rat. *Exp Brain Res* 69, 489–496.
- Binzegger T, Douglas RJ et Martin KAC (2004). A quantitative map of the circuit of cat primary visual cortex. *J Neurosci* 24, 8441–8453.
- Bird TD et Plum F (1968). Recovery from barbiturate overdose coma with a prolonged isoelectric electroencephalogram. *Neurology* 18, 456–460.
- Bosman LWJ, Houweling AR, Owens CB, Tanke N, Shevchouk OT, Rahmati N, Teunissen WHT, Ju C, Gong W, Koekkoek SKE et De Zeeuw CI (2011). Anatomical pathways involved in generating and sensing rhythmic whisker movements. *Front Integr Neurosci* 5, 1–28.

- Braitenberg V et Schüz A (1998). *Cortex: statistics and geometry of neuronal connectivity*. Springer, Berlin.
- Brecht M (2007). Barrel cortex and whisker-mediated behaviors. *Curr Opin Neurobiol* 17, 408–416.
- Brecht M, Preilowski B, Merzenich MM (1997). Functional architecture of the mystacial vibrissae. *Behav Brain Res* 84, 81–97.
- Brecht M, Roth A et Sakmann B (2003). Dynamic receptive fields of reconstructed pyramidal cells in layers 3 and 2 of rat somatosensory barrel cortex. *J Physiol* 553, 243–265.
- Brecht M et Sakmann B (2002a). Whisker maps of neuronal subclasses of the rat ventral posterior medial thalamus, identified by whole-cell voltage recording and morphological reconstruction. *J Physiol* 538, 495–515.
- Brecht M et Sakmann B (2002b). Dynamic representation of whisker deflection by synaptic potentials in spiny stellate and pyramidal cells in the barrels and septa of layer 4 rat somatosensory cortex. *J Physiol* 543, 49–70.
- Brock LG, Coombs JS et Eccles JC (1952). The recording of potentials from motoneurons with an intracellular electrode. *J Physiol* 117, 431–460.
- Broicher T, Malerba P, Dorval AD, Borisyuk A, Fernandez FR et White JA (2012). Spike phase locking in CA1 pyramidal neurons depends on background conductance and firing rate. *J Neurosci* 32, 14374–14388.
- Brown EN, Lydic R et Schiff ND (2010). General anesthesia, sleep, and coma. *N Engl J Med*. 363, 2638–2650.
- Brown EN, Purdon PL et Van Dort CJ (2011). General anesthesia and altered states of arousal: a systems neuroscience analysis. *Annu Rev Neurosci* 34, 601–628.
- Brown TG (1911). The intrinsic factors in the act of progression in the mammal. *Proc R Soc London Ser B* 84, 308–319.
- Bruno RM, Khatri V, Land PW et Simons DJ (2003). Thalamocortical angular tuning domains within individual barrels of rat somatosensory cortex. *J Neurosci* 23, 9565–9574.
- Bruno RM et Sakmann B (2006). Cortex is driven by weak but synchronously active thalamocortical synapses. *Science* 312, 1622–1627.
- Bureau I, von Saint Paul F et Svoboda K (2006). Interdigitated paralemniscal and lemniscal pathways in the mouse barrel cortex. *PLoS Biol* 4, 2361–2371.
- Buzsáki G, Anastassiou CA et Koch C (2012). The origin of extracellular fields and currents - EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nat Rev Neurosci* 13, 407–420.
- Buzsáki G et Draguhn A (2004). Neuronal oscillations in cortical networks. *Science* 304, 1926–1930.
- Cantero J, Atienza M et Salas R (2000). Spectral features of EEG alpha activity in human REM sleep: two variants with different functional roles? *Sleep* 23, 1–5.

- Cardin JA, Palmer LA et Contreras D (2008). Cellular mechanisms underlying stimulus-dependent gain modulation in primary visual Cortex Neurons in vivo. *Neuron* 59, 150–160.
- Carvell GE et Simons DJ (1990). Biometric Analyses of Vibrissal Tactile Discrimination in the Rat. *J Neurosci* 10, 2638–2648.
- Caton R (1875). The electric currents of the brain. *Br Med J* 2, 278.
- Chance FS et Abbott LF (2009). Simulating in vivo background activity in a slice with the dynamic clamp. In *Dynamic-Clamp: From principles to applications*, ed. Destexhe A & Bal T, Springer, New York.
- Chance FS, Abbott LF et Reyes AD (2002). Gain modulation from background synaptic input. *Neuron* 35, 773–782.
- Charpier S (2004). Bases neurophysiologiques des signaux EEG et MEG. In: *L'imagerie fonctionnelle (EEG) et magnétique (MEG) : ses applications en sciences cognitives*, ed. Bernard R, Hermes, Paris.
- Chatrian G-E, Bergamasco B, Bricolo A, Frost JD et Prior P (1996). IFCN recommended standards for electrophysiologic monitoring in comatose and other unresponsive states. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 99, 103–122.
- Chauvette S, Crochet S, Volgushev M et Timofeev I (2011). Properties of Slow Oscillation during Slow-Wave Sleep and Anesthesia in Cats. *J Neurosci* 31, 14998–15008.
- Chen D et Fetz EE (2005). Characteristic membrane potential trajectories in primate sensorimotor cortex neurons recorded in vivo. *J Neurophysiol* 94, 2713–2725.
- Chipaux M, Charpier S et Polack P-O (2011). Chloride-mediated inhibition of the ictogenic neurones initiating genetically-determined absence seizures. *Neuroscience* 192, 642–651.
- Chipaux M, Vercueil L, Kaminska A, Mahon S et Charpier S (2013). Persistence of cortical sensory processing during absence seizures in human and an animal model: evidence from EEG and intracellular recordings. *PLoS One* 8, e75257.
- Ciganek L (1961). The EEG response (evoked potential) to light stimulus in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 13, 165–172.
- Civillico EF et Contreras D (2012). Spatiotemporal properties of sensory responses in vivo are strongly dependent on network context. *Front Syst neuroscience* 6, 1–20.
- Claassen J, Hirsch LJ, Emerson RG et Mayer SA (2002). Treatment of refractory status epilepticus with pentobarbital, propofol, or midazolam: a systematic review. *Epilepsia* 43, 146–153.
- Coenen A (1995). Neuronal activities underlying the electroencephalogram and evoked potentials of sleeping and waking: implications for information processing. *Neurosci Biobehav Rev* 19, 447–463.

- Connors BW et Gutnick MJ (1990). Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons. *Trends Neurosci* 13, 99–104.
- Connors BW, Gutnick MJ et Prince DA (1982). Electrophysiological properties of neocortical neurons in vitro. *J Neurophysiol* 48, 1302–1320.
- Constantinople CM et Bruno RM (2011). Effects and mechanisms of wakefulness on local cortical networks. *Neuron* 69, 1061–1068.
- Constantinople CM et Bruno RM (2014). Deep cortical layers are activated directly by thalamus. *science* 340, 1591–1594.
- Contreras D (2004). Electrophysiological classes of neocortical neurons. *Neural Networks* 17, 633–646.
- Contreras D, Destexhe A, Sejnowski TJ et Steriade M (1997). Spatiotemporal patterns of spindle oscillations in cortex and thalamus. *J Neurosci* 17, 1179–1196.
- Contreras D, Timofeev I et Steriade M (1996). Mechanisms of long-lasting hyperpolarizations underlying slow sleep oscillations in cat corticothalamic networks. *J Physiol* 494, 251–264.
- Corsi-Cabrera M, Rosales-Lagarde A, Del Río-Portilla Y, Sifuentes-Ortega R et Alcántara-Quintero B (2015). Effects of selective REM sleep deprivation on prefrontal gamma activity and executive functions. *Int J Psychophysiol* 96, 115–124.
- Creutzfeld OD (1995). *Cortex cerebri: performance, structural and functional organisation of the cortex*. Oxford University Press, Oxford.
- Creutzfeld OD, Watanabe S et Lux HD (1966). Relations between EEG phenomena and potentials of single cortical cells. II. Spontaneous and convulsoid activity. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 20, 19–37
- Crick F et Koch C (1998). Consciousness and neuroscience. *Cereb Cortex* 8, 97–107.
- Crochet S, Fuentealba P, Cissé Y, Timofeev I et Steriade M (2006). Synaptic plasticity in local cortical network in vivo and its modulation by the level of neuronal activity. *Cereb Cortex* 16, 618–631.
- Crochet S et Petersen CCH (2006). Correlating whisker behavior with membrane potential in barrel cortex of awake mice. *Nat Neurosci* 9, 608–610.
- Crochet S et Petersen CCH (2009). Cortical dynamics by layers. *Neuron* 64, 298–300.
- Crochet S, Poulet JFA, Kremer Y et Petersen CCH (2011). Synaptic mechanisms underlying sparse coding of active touch. *Neuron* 69, 1160–1175.
- Crunelli V, Cope DW et Hughes SW (2006). Thalamic T-type Ca²⁺ channels and NREM sleep. *Cell Calcium* 40, 175–190.
- Curtis DR et Lodge D (1977). Pentobarbitone enhancement of the inhibitory action of GABA. *Nature* 270, 543–544.

- Dan B et Boyd SG (2006). Stimulus-sensitive burst-spiking in burst-suppression in children : implications for management of refractory status epilepticus. *Epileptic Disord* 8, 143–150.
- Dawson DR et Killackey HP (1987). The organization and mutability of the forepaw and hindpaw representations in the somatosensory cortex of the neonatal rat. *J Comp Neurol* 256, 246–256.
- DeFelipe J et Farinas I (1992). The pyramidal neuron of the cerebral cortex : morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. *Prog Neurobiol* 39, 563–607.
- DeFrance J et Sheer DF (1988). Focused arousal 40-Hz and motor programming. In: *The EEG of mental activities*, ed. D. Giannitrapani, F. Murri, Karger, Basel.
- de Kock CPJ, Bruno RM, Spors H et Sakmann B (2007). Layer- and cell-type-specific suprathreshold stimulus representation in rat primary somatosensory cortex. *J Physiol* 581, 139–154.
- de Kock CPJ et Sakmann B (2009). Spiking in primary somatosensory cortex during natural whisking in awake head-restrained rats is cell-type specific. *Proc Natl Acad Sci USA* 106, 16446–16450.
- Dement W et Kleitman N (1957). Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility, and dreaming. *EEG Clin Neurophysiol* 9, 673–690.
- Desîlets-Roy B, Varga C, Lavallée P et Deschênes M (2002). Substrate for cross-talk inhibition between thalamic barreloids. *J Neurosci* 22, 218–222.
- Destexhe A (2010). Inhibitory “noise”. *Front Cell Neurosci* 4, 1–7.
- Destexhe A (2011). Intracellular and computational evidence for a dominant role of internal network activity in cortical computations. *Curr Opin Neurobiol* 21, 717–725.
- Destexhe A, Contreras D et Steriade M (1998). Mechanisms underlying the synchronizing action of corticothalamic feedback through inhibition of thalamic relay cells. *J Neurophysiol* 79, 999–1016.
- Destexhe A, Contreras D et Steriade M (1999). Spatiotemporal analysis of local field potentials and unit discharges in cat cerebral cortex during natural wake and sleep states. *J Neurosci* 19, 4595–4608.
- Destexhe A, Hughes SW, Rudolph M et Crunelli V (2007). Are corticothalamic “up” states fragments of wakefulness? *Trends Neurosci* 30, 334–342.
- Destexhe A et Paré D (1999). Impact of network activity on the integrative properties of neocortical pyramidal neurons in vivo. *J Neurophysiol* 81, 1531–1547.
- Destexhe A, Rudolph M, Fellous JM et Sejnowski TJ (2001). Fluctuating synaptic conductances recreate in vivo-like activity in neocortical neurons. *Neuroscience* 107, 13–24.
- Destexhe A, Rudolph M et Paré D (2003). The high-conductance state of neocortical neurons in vivo. *Nat Rev Neurosci* 4, 739–751.

- Destexhe A et Rudolph-Lilith M (2012). *Neuronal noise*, Springer Series in Computational Neuroscience, New York.
- Diamond ME, von Heimendahl M, Knutsen PM, Kleinfeld D et Ahissar E (2008). “Where” and “what” in the whisker sensorimotor system. *Nat Rev Neurosci* 9, 601–612.
- Domino E, Corssen G et Sweet R (1963). Effects of various general anesthetics on the visually evoked response in man. *Anesth Analg* 42, 735–747.
- Dörfl J (1985). The innervation of the mystacial region of the white mouse: a topographical study. *J Anat* 142, 173–184.
- Douglas RJ et Martin KAC (2004). Recurrent neuronal circuits in the neocortex. *Current Biol* 17, 496–500.
- Elston GN (2002). Cortical heterogeneity: implications for visual processing and polysensory integration. *J Neurocytol* 31, 317–335.
- Ermentrout GB, Galán RF et Urban NN (2008). Reliability, synchrony and noise. *Trends Neurosci* 31, 428–434.
- Erzurumlu RS, Murakami Y et Rijli FM (2010). Mapping the face in the somatosensory brainstem. *Nat Rev Neurosci* 11, 252–263.
- Faisal AA, Selen LPJ et Wolpert DM (2008). Noise in the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 9, 292–303.
- Fatt P et Katz B (1950). Some observations on biological noise. *Nature* 166, 597–598.
- Fatt P et Katz B (1952). Spontaneous subthreshold activity at motor nerve endings. *J Physiol* 117, 109–128.
- Feldmeyer D, Brecht M, Helmchen F, Petersen CCH, Poulet JFA, Staiger JF, Luhmann HJ et Schwarz C (2013). Barrel cortex function. *Prog Neurobiol* 103, 3–27.
- Fellous J-M, Rudolph M, Destexhe A et Sejnowski T (2003). Synaptic background noise controls the input/output characteristics of single cells in an in vitro model of in vivo activity. *Neuroscience* 122, 811–829.
- Ferezou I, Bolea S et Petersen CCH (2006). Visualizing the cortical representation of whisker touch: voltage-sensitive dye imaging in freely moving mice. *Neuron* 50, 617–629.
- Ferezou I, Haiss F, Gentet LJ, Aronoff R, Weber B et Petersen CCH (2007). Spatiotemporal dynamics of cortical sensorimotor integration in behaving mice. *Neuron* 56, 907–923.
- Fernandez FR, Broicher T, Truong A et White JA (2011). Membrane voltage fluctuations reduce spike frequency adaptation and preserve output gain in CA1 pyramidal neurons in a high-conductance state. *J Neurosci* 31, 3880–3893.
- Fernandez FR et White JA (2010). Gain control in CA1 pyramidal cells using changes in somatic conductance. *J Neurosci* 30, 230–241.
- Ferron J-F, Kroeger D, Chever O et Amzica F (2009). Cortical inhibition during burst suppression induced with isoflurane anesthesia. *J Neurosci* 29, 9850–9860.

- Fink EL, Alexander H, Marco CD, Dixon CE, Kochanek PM, Jenkins LW, Lai Y, Donovan HA, Hickey RW et Clark RS (2004). Experimental model of pediatric asphyxial cardiopulmonary arrest in rats. *Pediatr Crit Care Med* 5, 139–144.
- Fiser J, Chiu C et Weliky M (2004). Small modulation of ongoing cortical dynamics by sensory input during natural vision. *Nature* 431, 573–578.
- Fontanini A et Katz DB (2008). Behavioral states, network states, and sensory response variability. *J Neurophysiol* 100, 1160–1168.
- Fox K (2008). *Barrel Cortex*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Franken P, Dijk DJ, Tobler I et Borbély AA (1994). High-frequency components of the rat electrocorticogram are modulated by the vigilance states. *Neurosci Lett* 167, 89–92.
- Freeman J et Ingvar DH (1967). Effects of fentanyl on cerebral cortical blood flow and EEG in the cat. *Acta Anaesthesiol Scand* 181–191.
- Freeman WJ et van Dijk B (1987). Spatial patterns of visual cortical fast EEG during conditioned reflex in a rhesus monkey. *Brain Research* 422, 267–76.
- Fricke D, Verheugen JAH et Miles R (1999). Cell-attached measurements of the firing threshold of rat hippocampal neurones. *J Physiol* 517, 791–804.
- Friedberg MH, Lee SM et Ebner FF (1999). Modulation of receptive field properties of thalamic somatosensory neurons by the depth of anesthesia. *J Neurophysiol* 81, 2243–2252.
- Fuentealba P, Timofeev I, Bazhenov M, Sejnowski TJ et Steriade M (2005). Membrane bistability in thalamic reticular neurons during spindle oscillations. *J Neurophysiol* 93, 294–304.
- Fuller PM, Saper CB et Lu J (2007). The pontine REM switch: past and present. *J Physiol* 584, 735–741.
- Furuta T, Kaneko T et Deschênes M (2009). Septal neurons in barrel cortex derive their receptive field input from the lemniscal pathway. *J Neurosci* 29, 4089–4095.
- Furuta T, Urbain N, Kaneko T et Deschênes M (2010). Corticofugal control of vibrissa-sensitive neurons in the interpolaris nucleus of the trigeminal complex. *J Neurosci* 30, 1832–1838.
- Galán RF, Fourcaud-Trocme N, Ermentrout GB et Urban NN (2006). Correlation-induced synchronization of oscillations in olfactory bulb neurons. *J Neurosci* 26, 3646–3655.
- Ganes T et Lundar T (1983). The effect of thiopentone on somatosensory evoked responses and EEGs in comatose patients. *J neurosurgery, psychiatry* 46, 509–514.
- Geisler CD et Gerstein GL (1961). The surface EEG in relation to its sources. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol* 13, 927–934.

- Gentet LJ, Avermann M, Matyas F, Staiger JF et Petersen CCH (2010). Membrane potential dynamics of GABAergic neurons in the barrel cortex of behaving mice. *Neuron* 65, 422–435.
- Gevins A, Smith ME, Mcevoy L et Yu D (1997). High-resolution EEG mapping of cortical activation related to working memory: effects of task difficulty, type of processing, and practice. *Cereb Cortex* 7, 374–385.
- Gibson JM et Welker WI (1983). Quantitative studies of stimulus coding in first-order vibrissa afferents of rats. 1. Receptive field properties and threshold distributions. *Somatosens Res*, 1, 51–67.
- Glenn LL et Steriade M (1982). Discharge rate and excitability of cortically projecting intralaminar thalamic neurons during waking and sleep states. *J Neurosci* 2, 1387–1404.
- Gottesmann C (1992). Detection of seven sleep-waking stages in the rat. *Neurosci Biobehav Rev* 16, 31–38.
- Graham LJ et Schramm A (2009). In vivo Dynamic-Clamp manipulation of extrinsic and intrinsic conductances: functional roles of shunting inhibition and I_h in rat and cat cortex. In: *Dynamic-Clamp: From principles to applications*, ed. Destexhe A & Bal T, Springer, New York.
- Gu N, Vervaeke K, Hu H, Storm JF (2005). Kv7/KCNS/M and HCN/h, but not KCa2/SK channels contribute to the somatic medium after-hyperpolarization and excitability control in CA1 hippocampal pyramidal cells. *J Physiol* 566, 689–715.
- Gutnick MJ et Crill WE (1995). The cortical neuron as an electrophysiological unit. In: *The cortical neuron*, ed. Gutnick & Mody, Oxford University Press, Oxford.
- Haidarliu S et Ahissar E (1997). Spatial organization of facial vibrissae and cortical barrels in guinea pig and golden hamster. *J Comp Neurol* 385, 515–527.
- Haider B, Duque A, Hasenstaub AR et McCormick DA (2006). Neocortical network activity in vivo is generated through a dynamic balance of excitation and inhibition. *J Neurosci* 26, 4535–4545.
- Haider B, Duque A, Hasenstaub AR, Yu Y et McCormick DA (2007). Enhancement of visual responsiveness by spontaneous local network activity in vivo. *J Neurophysiol* 97, 4186–4202.
- Haider B, Häusser M et Carandini M (2013). Inhibition dominates sensory responses in the awake cortex. *Nature* 493, 97–100.
- Haider B et McCormick DA (2009). Rapid neocortical dynamics: cellular and network mechanisms. *Neuron* 62, 171–189.
- Harding GF, Odom JV, Spileers W et Spekreijse H (1996). Standard for visual evoked potentials 1995. *Vision Res* 36, 3567–3572.
- Harris KD et Mrsic-Flogel TD (2013). Cortical connectivity and sensory coding. *Nature* 503, 51–58.

- Harris KD et Thiele A (2011). Cortical state and attention. *Nat Rev Neurosci* 12, 509–523.
- Hasenstaub A, Sachdev RNS et McCormick DA (2007). State changes rapidly modulate cortical neuronal responsiveness. *J Neurosci* 27, 9607–9622.
- Higgs MH, Slee SJ et Spain WJ (2006). Diversity of gain modulation by noise in neocortical neurons: regulation by the slow afterhyperpolarization conductance. *J Neurosci* 26, 8787–8799.
- Higley MJ et Contreras D (2003). Nonlinear integration of sensory responses in the rat barrel cortex : an intracellular study in vivo. *J Neurosci* 23, 10190–10200.
- Hô N et Destexhe A (2000). Synaptic background activity enhances the responsiveness of neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 84, 1488–1496.
- Hogan K et Fitzpatrick J (1987). The cerebral origin of the alpha rhythm. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 69, 79–81.
- Holt GR et Koch C (1997). Shunting inhibition does not have a divisive effect on firing rates. *Neural Comput* 9, 1001–1013.
- Holt GR, Softky WR, Koch C et Douglas RJ (1996). Comparison of discharge variability in vitro and in vivo in cat visual cortex neurons. *J Neurophysiol* 75, 1806–1814.
- Hunter JD, Milton JG, Thomas PJ et Cowan JD (1998). Resonance effect for neural spike time reliability resonance effect for neural spike time reliability. *J Neurophysiol* 80, 1427–1438.
- Husain AM (2006). Electroencephalographic assessment of Coma. *J Clin Neurophysiol* 23, 208–220.
- Ikuta T (1966). Effects of thiopental on the human somatosensory evoked response. *Folia Psychiatr Neurol* 20, 19–31.
- Jääntti V, Eriksson K, Hartikainen K et Baer GA (1994). Epileptic EEG discharges during burst suppression. *Neuropediatrics* 25, 271–273.
- Jones EG (1975). Varieties and distribution of non-pyramidal cells in the somatic sensory cortex of the squirrel monkey. *J Comp Neurol* 160, 205–267.
- Jones BE (2005). From waking to sleeping: neuronal and chemical substrates. *Trends Pharmacol Sci* 26, 578–586.
- Kahana MJ, Sekuler R, Caplan JB, Kirschen M, Madsen JR (1999). Human theta oscillations exhibit task dependence during virtual maze navigation. *Nature* 399, 781–784.
- Kahana MJ, Seelig D et Madsen JR (2001). Theta returns. *Curr Opin Neurobiol* 11, 739–744.
- Kara P, Reinagel P et Reid RC (2000). Low response variability in simultaneously recorded retinal, thalamic, and cortical neurons. *Neuron* 27, 635–646.

- Katzel D, Zemelman BV, Buetfering C, Wolfel M, Miesenbock G (2011). The columnar and laminar organization of inhibitory connections to neocortical excitatory cells. *Nat Neurosci* 14, 100–7.
- Kirshbaum RJ et Carollo VJ (1970). Reversible iso-electric EEG in barbiturate coma. *JAMA* 212, 1215.
- Kisley MA et Gerstein GL (1999*a*). The continuum of operating modes for a passive model neuron. 1154, 1139–1154.
- Kleinfeld D et Deschênes M (2011). Neuronal basis for object location in the vibrissa scanning sensorimotor system. *Neuron* 72, 455–468.
- Knutzen PM et Ahissar E (2009). Orthogonal coding of object location. *Trends Neurosci* 32, 101–109.
- Koht A (1988). Anesthesia and evoked potentials: Overview. *Int J Clin Monit Comput* 5, 167–173.
- Korn H et Faure P (2003). Is there chaos in the brain? II. Experimental evidence and related models. *C R Biol* 326, 787–840.
- Kosko B (2006). *Noise*. Penguin Group, New York.
- Kremer Y, Léger J-F, Goodman D, Brette R et Bourdieu L (2011). Late emergence of the vibrissa direction selectivity map in the rat barrel cortex. *J Neurosci* 31, 10689–10700.
- Kroeger D et Amzica F (2007). Hypersensitivity of the anesthesia-induced comatose brain. *J Neurosci* 27, 10597–10607.
- Kroeger D, Florea B et Amzica F (2013). Human brain activity patterns beyond the isoelectric line of extreme deep coma. *PLoS One* 8, e75257.
- Larkman A et Mason A (1990). Correlations between morphology and electrophysiology of pyramidal neurons in slices of rat visual cortex. I. Establishment of cell classes. *J Neurosci* 10, 1407–1414.
- Laureys S (2005). Death, unconsciousness and the brain. *Nat Rev Neurosci* 6, 899–909.
- Laureys S, Perrin F, Faymonville M-E, Schnakers C, Boly M, Bartsch V, Majerus S, Moonen G et Maquet P (2004). Cerebral processing in the minimally conscious state. *Neurology* 63, 916–918.
- Lee S, Carvell GE et Simons DJ (2008). Motor modulation of afferent somatosensory circuits. *Nat Neurosci* 11, 1430–1438.
- Lee S-H et Dan Y (2012). Neuromodulation of brain states. *Neuron* 76, 209–222.
- Lee S-H, Land PW et Simons DJ (2007). Layer- and cell-type-specific effects of neonatal whisker-trimming in adult rat barrel cortex. *J Neurophysiol* 97, 4380–4385.
- Lefort S, Tómm C, Floyd Sarria JC et Petersen CCH (2009). The excitatory neuronal network of the C2 barrel column in mouse primary somatosensory cortex. *Neuron* 61, 301–316.

- Léger J-F, Stern EA, Aertsen A et Heck D (2005). Synaptic integration in rat frontal cortex shaped by network activity. *J Neurophysiol* 93, 281–293.
- Lehembre R, Gosseries O, Lugo Z, Jedidi Z, Chatelle C, Sadzot B, Laureys S et Noirhomme Q (2012). Electrophysiological investigations of brain function in coma, vegetative and minimally conscious patients. *Arch Ital Biol* 150, 122–139.
- Leiser SC et Moxon KA (2006). Relationship between physiological response type (RA and SA) and vibrissal receptive field of neurons within the rat trigeminal ganglion. *J Neurophysiol* 95, 3129–3145.
- Leiser SC et Moxon KA (2007). Responses of trigeminal ganglion neurons during natural whisking behaviors in the awake rat. *Neuron* 53, 117–133.
- Lemieux M, Chauvette S et Timofeev I (2015). Neocortical inhibitory activities and long-range afferents contribute to the synchronous onset of silent states of the neocortical slow oscillation. *J Neurophysiol* 113, 768–779.
- Llinás RR (1988). The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous function. *Science* 242, 1654–1664.
- Llinás RR et Ribary URS (1993). Coherent 40-Hz oscillation characterizes dream state in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 2078–2081.
- Llinás RR et Paré D (1991). Of dreaming and wakefulness. *Neuroscience* 44, 521–535.
- Lopes da Silva FH (2010). EEG: Origin and measurement. In: EEG-fMRI, ed. Mulert C & Lemieux L, Springer Berlin Heidelberg.
- Lopes da Silva FH et Storm Van Leeuwen W (1977). The cortical source of the alpha rhythm. *Neurosci Lett* 6, 237–241.
- Lopes da Silva F et van Rotterdam A (2005). EEG event-related desynchronization (ERD) and event-related synchronization (ERS). In: *Electroencephalography: Basic principles, clinical applications, and related fields*, ed. Niedermeyer E & Lopes da Silva F, 5th edn. Lippincott Williams & Wilkins, New York.
- Loughnan BL, Sebel PS, Thomas D et Rutherford CF (1987). Evoked potentials following diazepam or fentanyl. *Anaesthesia* 42, 195–198.
- Lübke J et Feldmeyer D (2007). Excitatory signal flow and connectivity in a cortical column: focus on barrel cortex. *Brain Struct Funct* 212, 3–17.
- Lukatch HS, Kiddoo CE et Maciver MB (2005). Anesthetic-induced burst suppression EEG activity requires glutamate-mediated excitatory synaptic transmission. *Cereb Cortex* 15, 1322–1331.
- Lumpkin EA, Marshall KL et Nelson AM (2010). The cell biology of touch. *J Cell Biol* 191, 237–248.
- Lund JS, Yoshioka T et Levitt JB (1993). Comparison of intrinsic connectivity in different areas of macaque monkey cerebral cortex. *Cereb Cortex* 3, 148–162.

- Lydic R et Baghdoyan HA (2005). Sleep, anesthesiology, and the neurobiology of arousal state control. *Anesthesiology* 103, 1268–1295.
- Machado C et Santiesteban R (1993). Visual evoked potentials and electroretinography in brain-dead patients. *Documenta Ophthalmol* 84, 89–96.
- Mahon S, Casassus G, Mulle C et Charpier S (2003). Spike-dependent intrinsic plasticity increases firing probability in rat striatal neurons in vivo. *J Physiol* 550, 947–959.
- Mahon S et Charpier S (2012). Bidirectional plasticity of intrinsic excitability controls sensory inputs efficiency in layer 5 barrel cortex neurons in Vivo. *J Neurosci* 32, 11377–11389.
- Mahon S, Deniau JM et Charpier S (2001). Relationship between EEG potentials and intracellular activity of striatal and cortico-striatal neurons: an in vivo study under different anesthetics. *Cereb Cortex* 11, 360–373.
- Mahon S, Vautrelle N, Pezard L, Slaght SJ, Deniau J-M, Chouvet G et Charpier S (2006). Distinct patterns of striatal medium spiny neuron activity during the natural sleep-wake cycle. *J Neurosci* 26, 12587–12595.
- Mainen ZF et Sejnowski TJ (1995). Reliability of spike timing in neocortical neurons. *Science* 268, 1503–1506.
- Manns ID, Sakmann B et Brecht M (2004). Sub- and suprathreshold receptive field properties of pyramidal neurones in layers 5A and 5B of rat somatosensory barrel cortex. *J Physiol* 556, 601–622.
- Markram H, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg G et Wu C (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci* 5, 793–807.
- Marshall L, Helgadóttir H, Mölle M et Born J (2006). Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature* 444, 610–613.
- Mason A et Larkman A (1990). Correlations between morphology and electrophysiology of pyramidal neurons in slices of rat visual cortex. II. Electrophysiology. *J Neurosci* 10, 1415–1428.
- Massimini M, Ferrarelli F, Huber R, Esser SK, Singh H et Tononi G (2005). Breakdown of cortical effective connectivity during sleep. *Science* 309, 2228–2232.
- Mathers DA, Wan X et Puil E (2007). Barbiturate activation and modulation of GABA(A) receptors in neocortex. *Neuropharmacology* 52, 1160–1168.
- Mathers DA et Barker JL (1980). (-)Pentobarbital opens ion channels of long duration in cultured mouse spinal neurons. *Science* 209, 507–509.
- Matsumura M, Cope T et Fetz EE (1988). Sustained excitatory synaptic input to motor cortex neurons in awake animals revealed by intracellular recording of membrane potentials. *Exp Brain Res* 70, 463–469.
- Matyas F, Sreenivasan V, Marbach F, Wacongne C, Boglarka B, Mateo C, Aronoff R et Petersen CCH (2010). Motor control by sensory cortex. *Science* 330, 1240–1244.

- McCormick DA (1992). Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex and their role in neuromodulation of thalamocortical activity. *Prog Neurobiol* 39, 337–388.
- McCormick DA et Bal T (1997). Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu Rev Neurosci* 20, 185–215.
- McCormick DA, Mcginley MJ et Salkoff DB (2015). Brain state dependent activity in the cortex and thalamus. *Curr Opin Neurobiol* 31, 133–140.
- McCormick DA et Pape H (1990). Noradrenergic and serotonergic modulation of a hyperpolarization-activated cation current in thalamic relay neurones. *J Physiol* 431, 319–342.
- McCormick DA, Shu Y, Hasenstaub A, Sanchez-Vives MV, Badoual M et Bal T (2003). Persistent cortical activity: mechanisms of generation and effects on neuronal excitability. *Cereb Cortex* 13, 1219–1231.
- McCraty R, Atkinson M, Tomasino D et Bradley RT (2009). The coherent heart: heart-brain interactions, psychophysiological coherence, and the emergence of system-wide order. *Integr Rev* 5, 10–115.
- Meeren HK, Van Luijckelaar ELJ et Coenen AM (1998). Cortical and thalamic visual evoked potentials during sleep-wake states and spike-wave discharges in the rat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Potentials Sect* 108, 306–319.
- Merin RG (1975). Effect of anesthetics on the heart. *Surg Clin North Am* 55, 759–774.
- Migliore M et Shepherd GM (2002). Emerging rules for the distributions of active dendritic conductances. *Nat Rev Neurosci* 3, 362–370.
- Miller KD et Troyer TW (2002). Neural noise can explain expansive, power-law nonlinearities in neural response functions. *J Neurophysiol* 87, 653–659.
- Miltner WH, Braun C, Arnold M, Witte H et Taub E (1999). Coherence of gamma-band EEG activity as a basis for associative learning. *Nature* 397, 434–436.
- Minnery BS et Simons DJ (2003). Response properties of whisker-associated trigeminothalamic neurons in rat nucleus principalis. *J Neurophysiol* 89, 40–56.
- Mitchell SJ et Silver RA (2003). Shunting inhibition modulates neuronal gain during synaptic excitation. *Neuron* 38, 433–445.
- Morison RS et Basset DL (1945). Electrical activity of the thalamus and basal ganglia in the decorticate cats. *J Neurophysiol.* 8, 309–314.
- Mountcastle VB (1997). The columnar organization of the cerebral cortex. *Brain* 120, 701–722.
- Muller L et Destexhe A (2012). Propagating waves in thalamus, cortex and the thalamocortical system: experiments and models. *J Physiol Paris* 106, 222–238.
- Muroi Y, Theusch CM, Czajkowski C et Jackson MB (2009). Distinct structural changes in the GABAA receptor elicited by pentobarbital and GABA. *Biophys J* 96, 499–509.

- Murphy BK et Miller KD (2003). Multiplicative gain changes are induced by excitation or inhibition alone. *J Neurosci* 23, 10040–10051.
- Nadim F et Bucher D (2014). Neuromodulation of neurons and synapses. *Curr Opin Neurobiol* 29, 48–56.
- Niedermeyer (2005). The normal EEG of the Waking Adult. In: *Electroencephalography: Basic principles, clinical applications, and related fields*, ed. Niedermeyer E & Lopes da Silva F, 5th edn. Lippincott Williams & Wilkins, New York.
- Niell CM et Stryker MP (2010). Report modulation of visual responses by behavioral state in mouse visual cortex. *Neuron* 65, 472–479.
- Noachtar S et Rémi J (2009). The role of EEG in epilepsy: A critical review. *Epilepsy Behav* 15, 22–33.
- Nordhoff G (2014). *Unlocking the brain, vol.1: Coding*, Oxford University Press. New York.
- Nowak LG, Azouz R, Sanchez-Vives MV, Gray CM et McCormick DA (2003). Electrophysiological classes of cat primary visual cortical neurons in vivo as revealed by quantitative analyses. *J Neurophysiol* 89, 1541–1566.
- Nowak LG, Sanchez-Vives MV et McCormick DA (1997). Influence of low and high frequency inputs on spike timing in visual cortical neurons. *Cereb Cortex* 7, 487–501.
- Nunez PL (1989). Generation of human EEG by a combination of long and short range neocortical interactions. *Brain Topogr* 1, 199–215.
- O'Connor DH, Peron SP, Huber D et Svoboda K (2010). Neural activity in barrel cortex underlying vibrissa-based object localization in mice. *Neuron* 67, 1048–1061.
- O'Keefe J et Recce ML (1993). Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus* 3, 317–330.
- Odom JV, Bach M, Barber C, Brigell M, Marmor MF, Tormene AP et Holder GE (2004). Visual evoked potentials standard (2004). *Doc Ophthalmol* 108, 115–123.
- Odom JV, Bach M, Brigell M, Holder GE, McCulloch DL, Tormene AP et Vaegan (2010). ISCEV standard for clinical visual evoked potentials (2009 update). *Doc Ophthalmol* 120, 111–119.
- Okun M et Lampl I (2008). Instantaneous correlation of excitation and inhibition during ongoing and sensory-evoked activities. *Nat Neurosci* 11, 535–537.
- Okun M, Naim A et Lampl I (2010). The subthreshold relation between cortical local field potential and neuronal firing unveiled by intracellular recordings in awake rats. *J Neurosci* 30, 4440–4448.
- Orlowski JP, Erenberg G, Lueders H et Cruse RP (1984). Hypothermia and barbiturate coma for refractory status epilepticus. *Crit Care Med* 12, 367–372.
- Otazu G, Tai L-H, Yang Y et Zador AM (2014). Engagin in an auditory task suppresses responses in auditory cortex. *Nat Neurosci* 12, 646–654.

- Ozer M, Graham LJ, ErKaymaz O et Uzuntarla M (2007). Impact of synaptic noise and conductance state on spontaneous cortical firing. *Neuroreport* 18, 1371–1374.
- Paré D, Shink E, Gaudreau H, Destexhe A et Lang EJ (1998). Impact of spontaneous synaptic activity on the resting properties of cat neocortical pyramidal neurons *In vivo*. *J Neurophysiol* 79, 1450–1460.
- Paré D et Destexhe A (1999). Impact of network activity on the integrative properties of neocortical pyramidal neurons *in vivo*. *J Neurophysiol* 81, 1531–1547.
- Paxinos G et Watson C (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, Sidney.
- Penttonen N et Buzsaki G (2003). Natural logarithmic relationship between brain oscillators. *Thalamus Relat Syst* 48, 1–8.
- Petersen CC et Sakmann B (2000). The excitatory neuronal network of rat layer 4 barrel cortex. *J Neurosci* 20, 7579–7586.
- Petersen CCH (2007). The functional organization of the barrel cortex. *Neuron* 56, 339–355.
- Petersen CCH et Crochet S (2013). Synaptic computation and sensory processing in neocortical layer 2/3. *Neuron* 78, 28–48.
- Petersen CCH, Hahn TTG, Mehta M, Grinvald A et Sakmann B (2003). Interaction of sensory responses with spontaneous depolarization in layer 2/3 barrel cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 13638–13643.
- Petreaunu L, Huber D, Sobczyk A et Svoboda K (2007). Channelrhodopsin-2-assisted circuit mapping of long-range callosal projections. *Nat Neurosci* 10, 663–668.
- Petreaunu L, Mao T, Sternson SM et Svoboda K (2009). The subcellular organization of neocortical excitatory connections. *Nature* 457, 1142–1145.
- Pfurtscheller G (1992). Event-related synchronization (ERS): an electrophysiological correlate of cortical areas at rest. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 83, 62–69.
- Pfurtscheller G et Lopes da Silva F (1999). Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. *Clin Neurophysiol*, 110, 1842–1857.
- Pfurtscheller G et Lopes da Silva F (2005). Biophysical aspects of EEG and magnetoencephalographic generation. In: *Electroencephalography: Basic principles, clinical applications, and related fields*, ed. Niedermeyer E & Lopes da Silva F, 5th edn. Lippincott Williams & Wilkins, New York.
- Pidoux M, Mahon S, Deniau J-M et Charpier S (2011). Integration and propagation of somatosensory responses in the corticostriatal pathway: an intracellular study *in vivo*. *J Physiol* 589, 263–281.
- Pinto L, Goard MJ, Estandian D, Xu M, Kwan AC, Lee S-H, Harrison TC, Feng G et Dan Y (2013). Fast modulation of visual perception by basal forebrain cholinergic neurons. *Nat Neurosci* 16, 1857–1863.

- Piwkowska Z, Pospischil M, Brette R, Sliwa J, Rudolph-Lilith M, Bal T et Destexhe A (2008). Characterizing synaptic conductance fluctuations in cortical neurons and their influence on spike generation. *J Neurosci Methods* 169, 302–322.
- Polack P-O, Friedman J et Golshani P (2013). Cellular mechanisms of brain state – dependent gain modulation in visual cortex. *Nat Neurosci* 16, 1331–1341.
- Polack P-O, Mahon S, Chavez M et Charpier S (2009). Inactivation of the somatosensory cortex prevents paroxysmal oscillations in cortical and related thalamic neurons in a genetic model of absence epilepsy. *Cereb Cortex* 19, 2078–2091.
- Poulet JFA (2014). Keeping an eye on cortical states. *Neuron* 84, 246–248.
- Poulet JFA, Fernandez LMJ, Crochet S et Petersen CCH (2012). Thalamic control of cortical states. *Nat Neurosci* 15, 370–372.
- Poulet JFA et Petersen CCH (2008). Internal brain state regulates membrane potential synchrony in barrel cortex of behaving mice. *Nature* 454, 881–885.
- Prescott SA et De Koninck Y (2003). Gain control of firing rate by shunting inhibition: roles of synaptic noise and dendritic saturation. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 2076–2081.
- Prinz AA, Abbott LF et Marder E (2004). The dynamic clamp comes of age. *Trends Neurosci* 27, 218–224.
- Raichle ME (2010). Two views of brain function. *Trends Cogn Sci* 14, 180–190.
- Ramon y Cajal, S (1904). *Textura del Sistema nervioso del hombre y de los vertebrados*. Imprenta N. Moya, Madrid.
- Reig R, Zerlaut Y, Vergara R, Destexhe A et Sanchez-Vives MV (2015). Gain modulation of synaptic inputs by network state in auditory cortex in vivo. *J Neurosci* 35, 2689–2702.
- Reimer J, Froudarakis E, Cadwell CR, Yatsenko D, Denfield GH et Tolias AS (2014). Pupil fluctuations track fast switching of cortical states during quiet wakefulness. *Neuron* 84, 355–362.
- Renart A, de la Rocha J, Bartho P, Hollender L, Parga N, Reyes A et Harris KD (2010). The asynchronous state in cortical circuits. *Science* 327, 587–590.
- Rice FL, Kinnman E, Aldskogius H, Johansson O et Arvidsson J (1993). The innervation of the mystacial pad of the rat as revealed by PGP 9.5 immunofluorescence. *J Comp Neurol* 337, 366–385.
- Richards CD (1972). On the mechanism of barbiturate anaesthesia. *J Physiol* 227, 749–767.
- Richards CD (2002). Anaesthetic modulation of synaptic transmission in the mammalian CNS. *Br J Anaesth* 89, 79–90.
- Rigas P et Castro-Alamancos MA (2009). Impact of persistent cortical activity (up States) on intracortical and thalamocortical synaptic inputs. *J Neurophysiol* 102, 119–131.
- Ringach DL (2009). Spontaneous and driven cortical activity: implications for computation. *Curr Opin Neurobiol* 19, 439–444.

- Rosanova M et Timofeev I (2005). Neuronal mechanisms mediating the variability of somatosensory evoked potentials during sleep oscillations in cats. *J Neurosci* 25, 569–582.
- Rosenow F et Knake S (2008). Recent and future advances in the treatment of status epilepticus. *Ther Adv Neurol Disord* 1, 33–42.
- Roth C, Achermann P et Borbély AA (1999). Alpha activity in the human REM sleep EEG: topography and effect of REM sleep deprivation. *Neurosci Lett* 266, 632–635.
- Rudolph M et Destexhe A (2003a). A fast-conducting, stochastic integrative mode for neocortical neurons in vivo. *J Neurosci* 23, 2466–2476.
- Rudolph M et Destexhe A (2003b). The discharge variability of neocortical neurons during high-conductance states. *Neuroscience* 119, 855–873.
- Rudolph M, Pelletier JG, Paré D et Destexhe A (2005). Characterization of synaptic conductances and integrative properties during electrically induced EEG-activated states in neocortical neurons in vivo. *J Neurophysiol* 94, 2805–2821.
- Rudolph M, Pospischil M, Timofeev I et Destexhe A (2007). Inhibition determines membrane potential dynamics and controls action potential generation in awake and sleeping cat cortex. *J Neurosci* 27, 5280–5290.
- Rudolph U et Antkowiak B (2004). Molecular and neuronal substrates for general anaesthetics. *Nat Rev Neurosci* 5, 709–720.
- Sachdev RNS, Ebner FF et Wilson CJ (2004). Effect of subthreshold up and down states on the whisker-evoked response in somatosensory cortex. *J Neurophysiol* 92, 3511–3521.
- Sakata S et Harris KD (2009). Laminar structure of spontaneous and sensory-evoked population activity in auditory cortex. *Neuron* 64, 404–418.
- Salinas E et Sejnowski TJ (2000). Impact of correlated synaptic input on output firing rate and variability in simple neuronal models. *J Neurosci* 20, 6193–6209.
- Salinas E et Sejnowski TJ (2001). Correlated neuronal activity and the flow of neural information. *Nat Rev Neurosci* 2, 539–550.
- Salmelin R et Hari R (1994). Characterization of spontaneous MEG rhythms in healthy adults. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 91, 237–248.
- Sanchez-Vives MV et McCormick DA (2000). Cellular and network mechanisms of rhythmic recurrent activity in neocortex. *Nat Neurosci* 3, 1027–1034.
- Saper CB, Scammell TE et Lu J (2005). Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature* 437, 1257–1263.
- Sapru HN et Krieger AJ (1979). Cardiovascular and respiratory effects of some anesthetics in the decerebrate rat. *Eur J Pharmacol* 53, 151–158.
- Schneider DM, Nelson A et Mooney R (2014). A synaptic and circuit basis for corollary discharge in the auditory cortex. *Nature* 513, 189–194.

- Schölvinck ML, Saleem AB, Benucci XA, Harris XKD et Carandini XM (2015). Cortical state determines global variability and correlations in visual cortex. *35*, 170–178.
- Scott JC, Ponganis K et Stanski DR (1985). EEG Quantitation of narcotic effect: the comparative pharmacodynamics of fentanyl and alfentanil. *Anesthesiology* 62, 234–241.
- Sebel PS, Bovill JG, Wauquier A et Rog P (1981). Effects of high-dose fentanyl anesthesia on the electroencephalogram. *Anesthesiology* 55, 203–211.
- Sejnowski T et Destexhe A (2000). Why do we sleep? *Brain Res* 886, 208–223.
- Shadlen MN et Newsome WT (1998). The variable discharge of cortical neurons: implications for connectivity, computation, and information coding. *J Neurosci* 18, 3870–3896.
- Sharbrough FW (2005). Non specific abnormal EEG patterns. In: *Electroencephalography: Basic principles, clinical applications, and related fields*, ed. Niedermeyer E & Lopes da Silva F, 5th edn. Lippincott Williams & Wilkins, New York.
- Sharott A, Doig NM, Mallet N et Magill PJ (2012). Relationships between the firing of identified striatal interneurons and spontaneous and driven cortical activities in vivo. *J Neurosci* 32, 13221–13236.
- Sherman SM (2001). Tonic and burst firing: dual modes of thalamocortical relay. *Trends Neurosci* 24, 122–126.
- Sherrington CS (1906). *The integrative action of the nervous system*, Yale Unive. New Heaven.
- Shu Y, Hasenstaub A, Badoual M, Bal T et McCormick DA (2003a). Barrages of synaptic activity control the gain and sensitivity of cortical neurons. *J Neurosci* 23, 10388–10401.
- Shu Y, Hasenstaub A et McCormick DA (2003b). Turning on and off recurrent balanced cortical activity. *Nature* 423, 288–293.
- Shutter L (2014). Pathophysiology of brain death: what does the brain do and what is lost in brain death? *J Crit Care* 29, 683–686.
- Silver RA (2010). Neuronal arithmetic. *Nat Rev Neurosci* 11, 474–489.
- Simons DJ et Carvell GE (1989). Thalamocortical response transformation in the rat vibrissa/barrel system. *J Neurophysiol* 61, 311–330.
- Simons DJ, Carvell GE, Hershey AE et Bryant DP (1992). Responses of barrel cortex neurons in awake rats and effects of urethane anesthesia. *Exp Brain Res* 91, 259–272.
- Singer, W (1993). Synchronization of cortical activity and its putative role in information processing and learning. *Annu Rev Physiol* 55, 349–74.
- Softky WR et Koch C (1993). The highly irregular firing of cortical cells is inconsistent with temporal integration of random EPSPs. *J Neurosci* 13, 334–350.

- Speckmann E-J et Elger E (2005). Introduction to the neurophysiological basis of the EEG and DC potentials. In: *Electroencephalography: Basic principles, clinical applications, and related fields*, ed. Niedermeyer E & Lopes da Silva F, 5th edn. Lippincott Williams & Wilkins, New York.
- Spruston N (2008). Pyramidal neurons: dendritic structure and synaptic integration. *Nat Rev Neurosci* 9, 206–221.
- Spruston N et Johnston D (1992). Perforated patch-clamp analysis of the passive membrane properties of three classes of hippocampal neurons. *J of Neurophysiol.* 67, 508–529.
- Stafstrom CE, Schwindt PC et Crill WE (1982). Negative slope conductance due to a persistent subthreshold sodium current in cat neocortical neurons in vitro. *Brain Res* 236, 221–226.
- Stecker MM, Cheung AT, Pochettino A, Kent GP, Patterson T, Weiss SJ et Bavaria JE (2001). Deep hypothermic circulatory arrest: I. Effects of cooling on electroencephalogram and evoked potentials. *Ann Thorac Surg* 71, 14–21.
- Steinbach JH et Akk G (2001). Modulation of GABA(A) receptor channel gating by pentobarbital. *J Physiol* 537, 715–733.
- Steriade M (1997). Synchronized activities of coupled oscillators in the cerebral cortex and thalamus at different levels of vigilance. *Cereb Cortex* 9, 583–604.
- Steriade M (2004). Neocortical cell classes are flexible entities. *Nat Rev Neurosci* 5, 121–134.
- Steriade M (2005). Cellular substrates of brain rhythms. In: *Electroencephalography: Basic principles, clinical applications, and related fields*, ed. Niedermeyer E & Lopes da Silva F, 5th edn. Lippincott Williams & Wilkins, New York.
- Steriade M (2006). Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neuroscience* 137, 1087–1106.
- Steriade M, Amzica F et Contreras D (1994). Cortical and thalamic cellular correlates of electroencephalographic burst-suppression. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 90, 1–16.
- Steriade M Contreras D Amzica F et Timofeev I (1996). Synchronization of fast (30–40 Hz) spontaneous oscillations in intrathalamic and thalamocortical networks. *J Neurosci* 16, 2788–2808.
- Steriade M et Deschênes M (1988). Intrathalamic and brainstem-thalamic networks involved in resting and alert states. In: *Cellular Thalamic Mechanisms*, ed. Bentivoglio M and Spreafico R. Elsevier, Amsterdam.
- Steriade M, Domich L, Oakson G, Deschenes M (1987). The deafferented reticular thalamic nucleus generates spindle rhythmicity. *J Neurophysiol* 57, 260–273.

- Steriade M, Gloor P, Llinás RR, Lopes da Silva F et Mesulam, MM (1990). Basic mechanisms of cerebral rhythmic activities. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 76, 481–508.
- Steriade M et Llinás RR (1988). The functional states of the thalamus and the associated neuronal interplay. *Am Physiol Soc* 68, 649–742.
- Steriade, McCormick DA et Sejnowski TJ (1993*a*). Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science* 262, 679–685.
- Steriade M, Nunez A et Amzica F (1993*b*). Intracellular analysis of relations between the slow (<1) neocortical oscillation and other sleep rhythms of the electroencephalogram. *J Neurosci* 73, 3266–3283.
- Steriade M, Timofeev I et Grenier F (2001). Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *J Neurophysiol* 85, 1969–1985.
- Stevens CF et Zador AM (1998). Input synchrony and the irregular firing of cortical neurons. *Nat Neurosci* 1, 210–217.
- Storm Van Leeuwen W, Wieneke G, Spoelstra P et Versteeg H (1978). Lack of bilateral coherence of mu rhythm. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 44, 140–146.
- Sutton LN, Frewen T, Marsh R, Jaggi J et Bruce DA (1982). The effects of deep barbiturate coma on multimodality evoked potentials. *J Neurosurg* 57, 178–185.
- Tan AYY, Chen Y, Scholl B, Seidemann E et Priebe NJ (2014). Sensory stimulation shifts visual cortex from synchronous to asynchronous states. *Nature* 509, 226–229.
- Taub AH, Katz Y et Lampl I (2013). Cortical balance of excitation and inhibition is regulated by the rate of synaptic activity. *J Neurosci* 33, 14359–14368.
- Thornton JA, Whelpton D et Borwn BH (1968). The effect of general anaesthetic agents on nerve conduction velocities. *Br J Anaesth* 40, 583–587.
- Tiesinga P, Fellous J-M et Sejnowski TJ (2008). Regulation of spike timing in visual cortical circuits. *Nat Rev Neurosci* 9, 97–107.
- Timofeev I, Contreras D et Steriade M (1996). Synaptic responsiveness of cortical and thalamic neurones during various phases of slow sleep oscillation in cat. *J Physiol* 494, 265–278.
- Timofeev I, Grenier F et Steriade M (2001). Disfacilitation and active inhibition in the neocortex during the natural sleep-wake cycle: an intracellular study. 98, 1924–1929.
- Timofeev I et Steriade M (1996). Low-frequency rhythms in the thalamus of intact-cortex and decorticated cats. *J Neurophysiol* 76, 4152–68.
- Timo-Iaria C, Negrão N, Schmidek WR, Hoshino K, Lobato de Menezes CE et Leme da Rocha T (1970). Phases and states of sleep in the rat. *Physiol Behav* 5, 1057–1062.
- Trojaborg W et Jorgensen EO (1973). Evoked cortical potentials in patients with “isoelectric” EEGs. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 35, 301–309.

- Veinante P et Deschênes M (1999). Single- and multi-whisker channels in the ascending projections from the principal trigeminal nucleus in the rat. *J Neurosci* 19, 5085–5095.
- Vijayan S, Hale GJ, Moore CI, Brown EN et Wilson M (2010). Activity in the barrel cortex during active behavior and sleep. *J Neurophysiol* 103, 2074–2084.
- Villablanca J (1974). Role of the thalamus in sleep control: sleep-wakefulness studies in chronic diencephalic and athalamic cats. In: *Basic sleep mechanisms*, ed. Petre-Quadens & J. Schlag, pp. 51–81. Academic, New York.
- Vinck M, Batista-Brito R, Knoblich U et Cardin JA (2015). Arousal and locomotion make distinct contributions to cortical activity patterns and visual encoding. *Neuron* 86, 740–754.
- Wan X, Mathers D et Puil E (2003). Pentobarbital modulates intrinsic and GABA-receptor conductances in thalamocortical inhibition. *Neuroscience* 121, 947–958.
- Waters J et Helmchen F (2006). Background synaptic activity is sparse in neocortex. *J Neurosci* 26, 8267–8277.
- Welker C (1971). Microelectrode delineation of fine grain somatotopic organization of (SmI) cerebral neocortex in albino rat. *Brain Res* 26, 259–75.
- Welker C et Woolsey TA (1974). Structure of layer IV in the somatosensory neocortex of the rat: description and comparison with the mouse. *J Comp Neurol* 158, 437–453.
- Wester JC et Contreras D (2012). Columnar interactions determine horizontal propagation of recurrent network activity in neocortex. *J Neurosci* 32, 5454–5471.
- White EL et Peters A (1993). Cortical modules in the posteromedial barrel subfield (Sm1) of the mouse. *J Comp Neurol* 334, 86–96.
- White JA, Rubinstein JT et Kay AR (2000). Channel noise in neurons. *Trends Neurosci* 23, 131–137.
- Wilent WB et Contreras D (2004). Synaptic responses to whisker deflections in rat barrel cortex as a function of cortical layer and stimulus intensity. *J Neurosci* 24, 3985–3998.
- Wilent WB et Contreras D (2005). Dynamics of excitation and inhibition underlying stimulus selectivity in rat somatosensory cortex. *Nat Neurosci* 8, 1364–1370.
- Williams SR (2004). Spatial compartmentalization and functional impact of conductance in pyramidal neurons. *Nat Neurosci* 7, 961–967.
- Wimmer VC, Bruno RM, de Kock CPJ, Kuner T et Sakmann B (2010). Dimensions of a projection column and architecture of VPM and POm axons in rat vibrissal cortex. *Cereb Cortex* 20, 2265–2276.
- Wolfart J, Debay D, Le Masson G, Destexhe A et Bal T (2005). Synaptic background activity controls spike transfer from thalamus to cortex. *Nat Neurosci* 8, 1760–1767.

- Woolsey TA et Van der Loos H (1970). About the physiological organization of the cerebral cortex of the mouse and the rat. In: Which the shape, size, organization and number of the barrels particularly. *Brain Res* 17, 205–242.
- Woolsey TA, Welker C et Schwartz RH (1975). Comparative anatomical studies of the SmL face cortex with special reference to the occurrence of “barrels” in layer IV. *J Comp Neurol* 164, 79–94.
- Wörgötter F, Suder K, Zhao Y, Kerscher N, Eysel UT et Funke K (1998). State-dependent receptive-field restructuring in the visual cortex. *Nature* 396, 165–168.
- Yaffe K et Lowenstein DH (1993). Prognostic factors of pentobarbital therapy for refractory generalized status epilepticus. *Neurology* 43, 895–900.
- Young GB (2000). The EEG in Coma. *J Clin Neurophysiol* 17, 473–485.
- Yu C, Derdikman D, Haidarliu S et Ahissar E (2006). Parallel thalamic pathways for whisking and touch signals in the rat. *PLoS Biol* 4, e124.
- Yuste R, Simons D (1997). Barrels in the desert: the sde boker workshop on neocortical circuits. *Neuron* 19, 231–237.
- Zhang ZW et Deschênes M (1997). Intracortical axonal projections of lamina VI cells of the primary somatosensory cortex in the rat: a single-cell labeling study. *J Neurosci* 17, 6365–6379.
- Zhou M, Liang F, Xiong XR, Li L, Li H, Xiao Z, Tao HW et Zhang LI (2014). Scaling down of balanced excitation and inhibition by active behavioral states in auditory cortex. *Nat Neurosci* 17, 841–850.
- Zou Q, Rudolph M, Roy N, Sanchez-Vives MV, Contreras D et Destexhe A (2005). Reconstructing synaptic background activity from conductance measurements in vivo. *Neurocomputing* 65, 673–678.