



HAL
open science

Etude de l'inhibition corticale au cours du cycle veille-sommeil

Aurélie Brécier-Videira

► **To cite this version:**

Aurélie Brécier-Videira. Etude de l'inhibition corticale au cours du cycle veille-sommeil. Neurobiologie. Université de Lyon, 2020. Français. NNT : 2020LYSE1291 . tel-03326764

HAL Id: tel-03326764

<https://theses.hal.science/tel-03326764>

Submitted on 26 Aug 2021

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.



N°d'ordre NNT : 2020LYSE1291

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale N° 476
Neurosciences et Cognition

Spécialité de doctorat : Neurosciences

Soutenue publiquement le 11/12/2020, par :
Aurélie Brécier

Etude de l'inhibition corticale au cours du cycle veille-sommeil

Devant le jury composé de :

Bal, Thierry Directeur de recherche CNRS
Crochet, Sylvain Chargé de recherche INSERM
Didier, Anne Professeure de l'Université Claude Bernard Lyon 1
Férezou, Isabelle Chargée de recherche CNRS
Zugaro, Michaël Directeur de recherche CNRS

Rapporteur
Examineur
Présidente
Rapporteuse
Examineur

Gentet, Luc Chargé de recherche INSERM, Lyon

Directeur de thèse

Résumé

Pendant le cycle veille-sommeil, notre cerveau doit maintenir une balance entre excitation et inhibition pour opérer efficacement. Dans le néocortex, l'inhibition est principalement assurée par les neurones à parvalbumine (PV), les neurones à somatostatine (SST) et les neurones au peptide vasoactif intestinal (VIP). Toutefois l'implication de ces interneurons dans le maintien de cette balance au cours du sommeil reste mal connue. Le premier objectif de ma thèse a donc été de caractériser l'activité de ces interneurons pendant le sommeil. L'enregistrement ciblé de ces cellules génétiquement identifiées dans le cortex somatosensoriel primaire de souris habituées à dormir tête-restreinte ont révélé une augmentation de l'activité des cellules PV en sommeil lent et en sommeil paradoxal, une modification du type de décharge des neurones SST en sommeil lent et une activation des neurones VIP lors du sommeil paradoxal. De plus, l'activité de ces interneurons est également modulée par les oscillations observées pendant le sommeil, comme les fuseaux du sommeil, le rythme delta et thêta. Dans une seconde partie, nous avons émis l'hypothèse que l'intégration corticale de l'information sensorielle pendant le sommeil pouvait être modulée par l'activité dynamique interneuronale que nous avons observée. Pour cela des déflections légères et passives d'une vibrisse ont été réalisées au cours des différents états de vigilance. De façon surprenante, nos résultats indiquent que l'ensemble des acteurs de la balance excitation-inhibition répondent avec une plus forte intensité à une stimulation ayant lieu pendant le sommeil lent. Pour résumer, cette thèse dans son ensemble permet de mieux comprendre comment la balance entre excitation et inhibition peut être maintenue dans des états de vigilance fondamentalement différents tout en permettant au circuit local du cortex somatosensoriel d'intégrer les informations cortico-corticales et les afférences sensorielles différemment en fonction de l'état.

Mots clefs interneurons GABAergiques, sommeil, balance excitation-inhibition, intégration sensorielle, oscillations corticales, cortex somatosensoriel primaire, vibrisses

Abstract

During the sleep-wake cycle, our brain must maintain a balance between excitation and inhibition in order to operate effectively. In the neocortex, inhibition is mainly subtended by parvalbumin (PV), somatostatin (SST) and intestinal vasoactive peptide (VIP) neurons. However, the involvement of these interneurons during sleep remains poorly understood. The first objective of my thesis was therefore to characterize interneurons activity throughout the sleep/wake cycle. Targeted *in vivo* recordings of genetically-identified GABAergic inhibitory cells in the barrel cortex of naturally-sleeping, head-restrained mice revealed an increase in activity of PV cells in NREM and REM sleep, a modification of pattern discharge of SST neurons in NREM sleep and an activation of VIP cells during REM sleep. In addition, interneuronal activity was also modulated by specific sleep oscillations such as spindles, delta and theta rhythms. In a second part, we hypothesized that the integration of sensory information at the level of the cortex during sleep could be modulated by the dynamic interneuronal activity that we had observed. In order to investigate this, we applied small passive whisker deflections during the different states of vigilance. Surprisingly, our results indicate that all of the actors of the excitation-inhibition balance respond with greater intensity to stimulation occurring during NREM sleep. In summary, this thesis provides a better understanding of how the balance between excitation and inhibition can be dynamically maintained in fundamentally different states of vigilance while allowing the local cortical somatosensory circuit to integrate and process incoming sensory and cortico-cortical information in a sleep stage-specific manner.

Key words GABAergic interneurons, sleep, excitation-inhibition balance, sensory integration, cortical oscillations, primary somatosensory cortex, whiskers

Sommaire

| | |
|--|-----------|
| Remerciements | 8 |
| Introduction | 13 |
| Revue de la littérature | 17 |
| I L'inhibition corticale, son rôle dans le maintien de la balance excitation/inhibition | 17 |
| I.1 La balance excitation/inhibition au sein du cortex | 17 |
| I.1.1 L'excitation | 17 |
| I.1.1.1 Les neurones pyramidaux | 18 |
| I.1.1.2 Les neurones étoilés à épines | 19 |
| I.1.2 L'inhibition | 19 |
| I.1.2.1 L'inhibition rapide via GABA _A | 20 |
| I.1.2.2 L'inhibition lente via GABA _B | 20 |
| I.1.2.3 Les circuits canoniques de l'inhibition | 21 |
| I.1.2.4 Les différents types de classification | 22 |
| I.2 Les principaux neurones inhibiteurs corticaux | 23 |
| I.2.1 Les neurones à parvalbumine | 23 |
| I.2.2 Les neurones à somatostatines | 25 |
| I.2.3 Les neurones au peptide vasoactif intestinal | 26 |
| I.3 Intégration de ces acteurs neuronaux dans le cortex | 29 |
| I.3.1 Organisation corticale | 29 |
| I.3.1.1 Selon les différentes couches | 29 |
| I.3.1.2 Selon les différentes régions corticales | 32 |
| I.3.1.3 Selon les différentes espèces | 32 |
| I.3.2 Le modèle du cortex somatosensoriel primaire des vibrisses de la souris | 33 |
| II L'activité des interneurons inhibiteurs au cours du cycle veille sommeil | 37 |
| II.1 Rappel sur les différents états de vigilances | 37 |
| II.1.1 L'éveil | 38 |
| II.1.1.1 Les oscillations de l'éveil | 38 |
| II.1.1.2 La régulation de l'éveil | 40 |
| II.1.2 Le sommeil | 40 |

| | | |
|--|--|-----------|
| II.1.2.1 | Le sommeil lent | 40 |
| II.1.2.1.1 | Les oscillations du sommeil lent | 41 |
| II.1.2.1.2 | La régulation du sommeil lent | 43 |
| II.1.2.1.3 | Le rôle du sommeil lent | 44 |
| II.1.2.2 | Le sommeil paradoxal | 45 |
| II.1.2.2.1 | Les oscillations du sommeil paradoxal | 45 |
| II.1.2.2.2 | La régulation du sommeil paradoxal | 46 |
| II.1.2.2.3 | Le rôle du sommeil paradoxal | 46 |
| II.1.3 | Les états de transitions | 47 |
| II.2 | Rôles des interneurons au cours du cycle veille-sommeil | 48 |
| II.2.1 | Les différentes méthodes d'enregistrements <i>in vivo</i> ciblés | 48 |
| II.2.2 | Les interneurons en éveil calme vs éveil actif | 49 |
| II.2.3 | Les interneurons en sommeil | 51 |
| II.2.3.1 | Études <i>in vitro</i> | 51 |
| II.2.3.2 | Études en anesthésie | 51 |
| II.2.3.3 | Études <i>in vivo</i> en sommeil naturel | 52 |
| III | Intégration sensorielle au cours des états de vigilance | 55 |
| III.1 | Voies anatomiques : du système sensoriel au cortex | 55 |
| III.1.1 | De la vibrisse au tronc cérébral | 55 |
| III.1.2 | Du tronc cérébral aux noyaux thalamiques | 56 |
| III.1.3 | Du thalamus au cortex | 57 |
| III.1.4 | Efférences cortico-thalamiques & cortico-corticales | 58 |
| III.2 | Intégration sensorielle en éveil | 58 |
| III.2.1 | Stimulations passives | 58 |
| III.2.1.1 | Stimulations en éveil calme | 59 |
| III.2.1.2 | Stimulations en éveil actif | 60 |
| III.2.2 | Contact actif | 61 |
| III.3 | Intégration sensorielle pendant le sommeil | 61 |
| III.3.1 | Sous anesthésie | 61 |
| III.3.2 | En sommeil lent | 62 |
| III.3.3 | Lors des fuseaux du sommeil | 63 |
| Etude I | | 69 |
| Vigilance and behavioral state-dependent modulation of cortical neuronal activity throughout the sleep/wake cycle | | 70 |

| | |
|---|------------|
| Supplementary Information | 109 |
| Etude II | 133 |
| Cell-type-specific neuronal responses to passive whisker deflections throughout the sleep-wake cycle | 135 |
| Introduction | 135 |
| Material & methods | 136 |
| Results & Discussion | 138 |
| Discussion | 159 |
| Bibliographie | 178 |

Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier l'ensemble des membres du jury d'avoir jugé ce travail de thèse. Merci particulièrement à Thierry Bal et Isabelle Férézou, de m'avoir autorisé à soutenir et pour l'ensemble de vos retours sur le projet. Merci à Anne Didier et à Michaël Zugaro, pour la discussion enrichissante que nous avons eu le jour de ma soutenance. Je remercie également Sylvain Crochet d'avoir suivi, toujours avec un très grand enthousiasme, l'évolution de mon travail de thèse.

Je remercie Luc Gentet de m'avoir encadré et guidé tout au long de cette thèse. Merci pour votre grande disponibilité, merci de m'avoir transmis votre expertise en électrophysiologie mais aussi de m'avoir accordé votre confiance. Je vous remercie également pour toutes les discussions que nous avons eu sur le projet, et de m'avoir laissé développer mes propres interprétations. Je pense sincèrement que je n'aurai pas pu espérer un meilleur encadrement pendant ces quatre années.

Merci à Mélodie Borel de m'avoir chaperonné dans les premières années et pour tout le temps que tu m'as accordé. Merci aussi pour tous les services que tu m'as rendu et aussi de m'avoir fait découvrir les joies du bricolage, du code et de Blender!

Merci également à Paul Salin qui, avec Sylvain, a suivi chaque année l'avancée de mes travaux de recherche. Ces conseils avisés sur les analyses, notamment en statistiques, mais également sa grande connaissance de la littérature m'ont permis d'avancer et d'enrichir ce travail de recherche.

Merci à Nadia Urbain pour son implication dans le projet, pour sa bienveillance et sa générosité. Merci également pour toutes ces délicieuses pâtisseries et d'avoir eu la bonne idée d'organiser ces meetings hebdomadaires lors du confinement.

Je remercie Laurent Seugnet de m'avoir accepté dans son équipe, merci pour tous les lab meeting organisés à Waking et pour toutes ces remarques pertinentes à la fin des présentations.

Une pensée aussi à toutes les personnes avec qui j'ai partagé mon bureau, François, Amy, Leslie, Amel, etc. Plus généralement, je tiens à remercier toutes les personnes avec qui j'ai pu collaborer ou qui ont fait partie de mon quotidien : Flore, Mathias, Laetitia, Anne, Clélia, Stéphane, Samy, Aboud, Lydie, Claude, Karine, Nadine, Elisabeth, etc.

Je remercie aussi toutes les petites souris qui ont participé à ce projet, j'espère qu'un jour on saura se passer de vous.

Merci à mes amis! Je remercie du fond du coeur Manon, tout d'abord parce que sans toi, ce manuscrit serait truffé de fautes d'orthographe! Mais surtout merci d'être à mes côtés depuis

maintenant près de 10 ans. On a vécu tellement de bon moment ensemble, je suis sûre qu'il nous en reste encore plein à vivre. Je me sens très chanceuse d'être ton amie.

Merci à Nadia, Maxime, Mathilda et Baptiste pour ces voyages improbables et toutes ces soirées mémorables. Merci à Estelle, je suis heureuse qu'on ait réussi à rester aussi proche malgré les années. Merci Rémi P. et Athina, pour ce 8 mai et les prochains!

Merci à toute ma famille d'être là pour moi depuis toujours, Mamie, Papi, Marraine, Alexandre, Alana, Christine, Laura, Fabien, Aymeric et Mia. Je remercie aussi la famille Pascalis/Janet qui m'ont chaleureusement intégré et soutenu tout au long de cette thèse.

Je remercie ma soeur, pour tout ce que tu m'apportes depuis toujours (littéralement ou non d'ailleurs!). C'est toi qui m'as fait aimer l'enseignement, et je suis sûre que je n'aurais jamais meilleur élève que toi!

Merci à ma maman, qui m'a tout appris. Avec Marine, nous te devons tout ce que nous sommes devenues, tu es un modèle de courage, de gentillesse et de tolérance. Je sais que tu es fière de nous, moi je suis fière de toi!

Enfin merci à Rémi, je suis heureuse d'avoir vécu tout ça avec toi. J'ai aimé débattre des heures de nos sujets de recherche et de nos résultats respectifs, tu connais presque aussi bien cette thèse que moi! J'ai hâte de vivre de nouvelles aventures à tes côtés.

Introduction

Notre cerveau doit constamment s'adapter à un environnement dynamique, tout en maintenant un équilibre entre excitation et inhibition pour opérer efficacement. En particulier, le cycle veille-sommeil repose sur des changements physiologiques importants qui engendrent des états cognitifs fondamentalement différents mais au cours desquels cet équilibre ne doit pas être rompu. Dans le néocortex, le maintien de cet équilibre fonctionnel est sous-tendu par une population éparsée de cellules communément appelées « interneurons GABAergiques ». L'inhibition corticale générée par ces cellules régule l'intégration synaptique et par conséquent la probabilité et le moment de génération des potentiels d'action dans les cellules locales d'un réseau neuronal. Plutôt qu'un simple suivi temporel de l'excitation, l'inhibition est un processus complexe et dynamique qui sculpte et améliore la puissance de calcul des circuits cérébraux. En accord avec cette vue, les neurones GABAergiques constituent une famille cellulaire très diverse en termes de propriétés physiologiques, morphologiques, de connectivité synaptique et de profil d'expression génétique (Markram et collab., 2004). Toutefois, il est établi qu'il existe trois principales catégories de neurones GABAergiques corticaux : les neurones à parvalbumine (PV) ou « fast-spiking », les neurones à somatostatine (SST) et les neurones au peptide vasoactif intestinal (VIP) (Rudy et collab., 2011), chacun jouant un rôle spécifique dans le maintien dynamique de l'équilibre au niveau du réseau cortical (Gentet, 2012). Les mécanismes mis en jeu dans les circuits corticaux et le rôle spécifique des différents interneurons n'ont cependant été que peu décrits pendant le sommeil.

Hypothèses Dans un premier temps, nous postulons qu'une activation différentielle de ces trois types de cellules GABAergiques serait à même de profondément moduler les processus d'intégration de l'information sensorielle au cours du cycle veille-sommeil. En effet, alors que tout oppose le sommeil paradoxal de l'éveil, l'activité corticale observée en sommeil paradoxal par électroencéphalogramme (EEG) est sensiblement la même que celle observée en éveil, c'est-à-dire un état de désynchronisation élevé avec des oscillations de faible amplitude et de fréquence élevée (Jouvet, 1967; Dement, 1958). Ainsi, l'activation différentielle d'un ou plusieurs sous-types d'interneurones pourrait expliquer que les capacités de traitement du cortex soient fondamentalement différentes entre le sommeil paradoxal et l'éveil, tout en gardant une signature électroencéphalographique similaire.

D'autre part, les oscillations corticales représentent une mesure complexe de l'activité sous-jacente des réseaux neuronaux (Buzsáki et collab., 2016). Or, les interneurons corticaux semblent jouer un rôle-clé dans la genèse et le maintien de certaines ondes physiologiques (Cardin et collab., 2008; Siegle et collab., 2014). Cependant, leurs implications dans la régulation ou la transmission des oscillations observées en sommeil restent peu étudiées. Nous émettons donc

comme deuxième hypothèse que les interneurons corticaux seraient différemment impliqués dans le maintien et la transmission des ondes observées pendant le sommeil.

Enfin, l'augmentation d'une inhibition spécifique à l'échelle corticale pourrait expliquer l'absence de réponse comportementale face à un stimulus pendant le sommeil lent ou le sommeil paradoxal. Nous émettons donc comme dernière hypothèse que les interneurons seraient à même d'intercepter l'information sensorielle et de moduler l'intégration sensorielle corticale pendant le sommeil.

Objectifs Le premier objectif de ma thèse a donc été de caractériser précisément l'activité de l'ensemble des acteurs de la balance excitation-inhibition pendant le sommeil et ses différentes oscillations. Pour se faire, nous avons utilisé la microscopie bi-photonique associée à différentes techniques électrophysiologiques (imagerie calcique, enregistrement unitaire en cellule attachée ou en cellule entière) sur des souris transgéniques habituées à dormir naturellement tête restreinte. Nous avons choisi de réaliser l'ensemble de nos enregistrements dans le cortex somatosensoriel primaire, cortex particulièrement bien décrit chez la souris tant d'un point de vue structurel que d'un point de vue fonctionnel. Par la suite, nous avons étudié l'activité de ces neurones en fonction de différentes oscillations observées pendant le sommeil grâce à des enregistrements de potentiel de champ locaux.

Dans une seconde partie, l'existence d'une régulation corticale de l'intégration de l'information sensorielle a été mise en évidence pendant les trois états de vigilance. Le système somatosensoriel de la souris confère dans cette étude deux avantages majeurs. Le premier est qu'il est possible d'étudier la réponse des neurones corticaux lorsque la souris bouge naturellement et activement ses vibrisses. Le second avantage est que les vibrisses de la souris peuvent être stimulées tout au long du cycle veille sommeil pour étudier la réponse du réseau. Des déflexions passives de la vibrisse ont donc été appliquées au cours du cycle veille sommeil et la réponse des acteurs de la balance excitation-inhibition a ainsi pu être évaluée.

Revue de la littérature

I L'inhibition corticale, son rôle dans le maintien de la balance excitation/inhibition

Santiago Ramón y Cajal (1852-1934) a été le premier à affirmer que notre cerveau est composé de milliards de cellules polarisées connectées entre elles. Cette théorie s'opposait à l'époque à celle soutenue par plusieurs autres scientifiques réputés comme Camillio Golgi, qui proposaient que notre cerveau était composé d'un réseau de fibres continues et diffuses. Après validation de sa théorie, Ramón y Cajal a détaillé durant toute sa carrière, la structure anatomique des neurones retrouvés dans le cerveau de différentes espèces, notamment grâce à des illustrations d'une grande précision. Le prix Nobel de physiologie ou médecine lui a été décerné en 1906. Il sera le premier à décrire différents sous-types neuronaux dont les interneurons, en grande majorité responsables de l'inhibition (pour revue Yuste (2005)).

I.1 La balance excitation/inhibition au sein du cortex

Notre cerveau doit constamment s'adapter à notre environnement, et doit réagir en fonction des nombreux stimuli sensoriels (tactiles, auditifs, visuels, etc.) présents dans le monde qui nous entoure. Toutefois, malgré la quantité incessante d'informations que nous devons traiter, l'activité des neurones doit être régulée pour éviter une surexcitation globale du réseau. Notre cerveau privilégie donc le traitement des informations importantes, en passant sous silence les stimuli qui ne semblent pas essentiels. Cet équilibre est possible dans notre cortex grâce à la balance excitation-inhibition. Elle est sous-tendue par deux grandes familles de neurones : les neurones excitateurs et les neurones inhibiteurs.

I.1.1 L'excitation

Chez les mammifères, les neurones excitateurs représentent plus de 75% des neurones du néocortex¹ (Hendry et collab., 1987; Lefort et collab., 2009). Lorsqu'ils émettent un potentiel d'action, les neurones excitateurs libèrent au niveau de la synapse du glutamate, principal neurotransmetteur excitateur du néocortex. Cette libération va pouvoir engendrer l'activation de deux grandes classes de récepteurs : les récepteurs métabotropiques du glutamate et les

1. Le néocortex correspond à la couche externe des deux hémisphères cérébraux, d'une épaisseur de 1 à 3 mm chez l'homme. Il compose le cortex, ensemble contenant également l'allocortex (correspondant à l'hippocampe, le système limbique et olfactif.)

récepteurs ionotropiques du glutamate (les récepteurs AMPA et NMDA principalement). Alors que les récepteurs métabotropiques du glutamate ne répondent qu'à des libérations prolongées de ce dernier, les récepteurs ionotropiques quant à eux, sont responsables de la transmission synaptique et de l'excitabilité du neurone post-synaptique. La fixation du glutamate sur ces récepteurs provoque l'ouverture de canaux ioniques et l'entrée de cations à l'intérieur du neurone. Cet influx induit sur le neurone post-synaptique une dépolarisation de sa membrane aussi appelé potentiel post-synaptique excitateur (PPSE).

Ces neurones excitateurs sont les neurones les plus couramment étudiés, d'une part parce qu'ils composent la majorité de la population neuronale, et d'autre part parce qu'ils propagent l'information dans l'ensemble du cortex. De plus, il n'existe que deux grands sous-types de neurones excitateurs corticaux facilement identifiables : les neurones pyramidaux et les neurones étoilés à épines.

I.1.1.1 Les neurones pyramidaux

Les neurones pyramidaux, comme leur nom l'indique, possèdent un soma singulier de forme triangulaire. Ils se répartissent dans l'ensemble des couches du néocortex - au nombre de six chez l'ensemble des mammifères - excepté dans la couche I. Au niveau de la base du soma et de l'apex, s'insèrent respectivement les dendrites basales et apicales. Ces dernières contiennent en très forte densité des épines dendritiques, points de contact de la majorité des synapses excitatrices émanant d'autres neurones. Chez la souris, en moyenne, un neurone pyramidal possède au total 4,5mm de dendrites contenant environ 7000 épines, et donc autant de connexions synaptiques excitatrices possibles (Iascone et collab., 2020). Enfin l'axone des neurones pyramidaux, transmettant l'information aux autres neurones, émet des projections aux cellules environnantes ainsi qu'aux régions les plus éloignées du cerveau. Il est possible de distinguer les neurones pyramidaux en fonction de leurs régions cibles : les neurones intra-téleencéphaliques, les neurones *pyramidal tract* de la couche V projetant dans les régions sous corticales et les neurones cortico-thalamique de la couche VI (Harris et collab., 2015).

D'un point de vue morphologique, les neurones pyramidaux corticaux partagent les mêmes caractéristiques et s'insèrent perpendiculairement à la surface corticale. Ce positionnement particulier permet notamment grâce aux dendrites apicales, la formation d'un dipôle électrique, mesurable à la surface corticale en EGG par exemple.

D'un point de vue électrophysiologique, les neurones pyramidaux sont majoritairement classifiés comme des neurones à décharge régulière ou *regular spiker* souvent caractérisés grâce à la demi-durée de leur potentiel d'action (*in vivo* autour de 2 ms (Fernandez et collab., 2018)). Leur

fréquence de décharge spontanée *in vivo* en éveil est faible (entre 0 et 2 Hz en moyenne), voire nulle pour la plupart des neurones (Crochet et collab., 2006; O'Connor et collab., 2010). Toutefois, il a été observé à plusieurs reprises que cette fréquence de décharge augmente avec la profondeur d'enregistrement dans le cortex (O'Connor et collab., 2010; Senzai et collab., 2019). *In vivo* leur résistance membranaire est de l'ordre de 30M Ω , alors que *in vitro* leur résistance membranaire est bien plus forte (160 à 300M Ω) (Lefort et collab., 2009). Cette différence flagrante de résistance membranaire qui influence directement l'impact des entrées synaptiques sur le neurone, peut s'expliquer par la faible activité spontanée de cellules neuronales sur tranche *in vitro*.

I.1.1.2 Les neurones étoilés à épines

Les neurones étoilés à épines sont localisés exclusivement dans la couche granulaire IV du néocortex. Chez la souris, dans le cortex somatosensoriel, ils composent 82% des cellules excitatrices de la couche IV contre 18% pour les neurones pyramidaux (Lefort et collab., 2009). Ils ont pour principal rôle de recevoir les informations sensorielles provenant des noyaux thalamiques et de transmettre cette information aux neurones à proximité. Contrairement aux neurones pyramidaux qui peuvent innervier des régions sous corticales, leurs axones ne s'étendent pas au-delà du néocortex. Leurs arborisations axonales se limitant à leur couche IV d'origine, les neurones étoilés à épines sont classifiés comme des interneurons excitateurs et constituent une classe à part entière des neurones excitateurs corticaux (Defelipe et collab., 2002). Toutefois, une étude récente propose de les intégrer à l'intérieur de la grande famille des neurones pyramidaux, comme l'un des 17 sous-types morphologiques recensés dans le cortex (Kanari et collab., 2019).

I.1.2 L'inhibition

A l'exception des neurones étoilés à épines, la grande majorité des neurones excitateurs peuvent donc recevoir, intégrer et répandre des informations à des aires cérébrales éloignées. En l'absence de régulation, une surcharge d'informations aurait lieu et notre cerveau ne serait plus capable de réagir efficacement à notre environnement. Le principal mécanisme capable de contrebalancer le comportement des neurones excitateurs est donc l'inhibition. Plutôt qu'un simple suivi temporel de l'excitation, l'inhibition est un processus complexe et dynamique capable de sculpter la réponse d'un réseau entier. Elle régule l'intégration synaptique et par conséquent la probabilité et le moment de génération des potentiels d'action dans les cellules locales. La balance excitation-inhibition est maintenue à l'échelle du réseau, de la cellule et même d'une seule dendrite (Iascone et collab., 2020). Cet équilibre est possible grâce à une population diverse et éparse de cellules : les interneurons inhibiteurs GABAergiques. Bien que cette population soit essentielle au bon

fonctionnement de notre cerveau, les interneurons inhibiteurs GABAergiques ne sont que faiblement représentés, composant de 25% des neurones corticaux (Hendry et collab., 1987; Lefort et collab., 2009). Ils possèdent des projections axonales et dendritiques bien moins importantes que celles des neurones pyramidaux et sont principalement restreints à exercer leur inhibition au niveau des neurones voisins. De plus, contrairement aux cellules excitatrices, les interneurons inhibiteurs peuvent former des synapses au niveau du tronc des dendrites (Karimi et collab., 2020) et au niveau de l'axone (Somogyi, 1977). Ils libèrent dans ces synapses, un neurotransmetteur spécifique : l'acide gamma-aminobutyrique (GABA). Le GABA est le principal neurotransmetteur inhibiteur du néocortex. Il est directement synthétisé à partir du glutamate grâce à la glutamate decarboxylase et peut se fixer sur deux types de récepteurs : les récepteurs ionotropiques GABA_A et les récepteurs métabotropiques GABA_B.

I.1.2.1 L'inhibition rapide via GABA_A

Lorsque les interneurons inhibiteurs émettent un potentiel d'action, ils relarguent dans la fente synaptique des vésicules contenant du GABA. Ce dernier va pouvoir se fixer sur le récepteur ionotrope GABA_A du neurone post-synaptique. Cette fixation provoque l'ouverture du canal ionotrope. Dans la majorité des cas, un flux d'ions chlorure (Cl⁻) entre dans le neurone et provoque une hyperpolarisation de la membrane du neurone post-synaptique appelée potentiel post-synaptique inhibiteur (PPSI). La différence entre le potentiel de membrane et le seuil d'excitabilité s'agrandit et la probabilité d'émettre un potentiel d'action est diminuée : c'est l'inhibition hyperpolarisante. Dans le cas où le potentiel de membrane du neurone post-synaptique est équivalent au potentiel d'équilibre du Cl⁻, le potentiel de membrane n'est pas modifié mais la conductance membranaire augmente. La résistance s'en retrouve diminuée et l'amplitude de la dépolarisation induite par les synapses excitatrices locales devient plus faible. C'est le phénomène de *shunting inhibition* (Borg-Graham et collab., 1998). L'inhibition hyperpolarisante et le *shunting inhibition* sont donc les deux moyens par lesquels les interneurons inhibiteurs peuvent exercer rapidement leur action de réduction de l'excitabilité d'un neurone.

I.1.2.2 L'inhibition lente via GABA_B

Les récepteurs métabotropiques GABA_B présents sur le neurone post-synaptique sont également activés par la libération de GABA dans la fente synaptique. Lorsque le GABA se lie au récepteur, la protéine G est activée et provoque l'ouverture de canaux potassiques. Une fois ouvert, un flux d'ions potassiques (K⁺) sort de la cellule et entraîne une hyperpolarisation lente et robuste de la membrane post-synaptique. Il existe également des récepteurs GABA_B au niveau pré-synaptique

qui agissent comme des auto-récepteurs. Ils peuvent être exprimés par des neurones inhibiteurs mais aussi par des neurones excitateurs. Leur activation réduit la libération de GABA et de glutamate en inhibant les canaux calciques pré-synaptiques dans les synapses inhibitrices et excitatrices (Sanchez-Vives et collab., 2020).

I.1.2.3 Les circuits canoniques de l'inhibition

Il existe une infinité de configurations possibles par lesquelles les neurones peuvent se connecter aux autres. Toutefois, quatre principaux motifs d'inhibition ont été décrits dans le cortex impliquant les interneurones inhibiteurs : l'inhibition disynaptique, l'inhibition anticipative ou *feed-forward inhibition*, l'inhibition par rétroaction ou *feedback inhibition* et la désinhibition (Feldmeyer et collab., 2018) (Figure I.1). L'inhibition disynaptique se produit lorsqu'un neurone exciteur active un interneurone qui lui-même cible un neurone exciteur. L'activation du premier neurone exciteur engendre donc indirectement (via deux synapses) l'inhibition d'un autre neurone exciteur. Lorsqu'un premier neurone exciteur active à la fois un deuxième neurone exciteur et un interneurone inhibiteur qui lui-même cible le second neurone inhibiteur, c'est l'inhibition anticipative. Ce motif d'inhibition contribue à diminuer la durée de la réponse du neurone exciteur cible. L'inhibition par rétroaction quant à elle, se produit lorsque le neurone exciteur est inhibé par l'interneurone qu'il a excité. Ce type d'inhibition est un mécanisme permettant de prévenir une trop forte activité des neurones excitateurs et de réduire dans le temps leur action. Enfin, on retrouve le motif de désinhibition qui se produit lorsqu'un interneurone inhibe un autre interneurone, qui lui-même cible un neurone exciteur. Ce mécanisme conduit à une levée d'inhibition sur le neurone exciteur. Ces quatre motifs d'inhibition peuvent être retrouvés dans l'ensemble du cortex et permettent une bonne régulation de l'activité corticale.

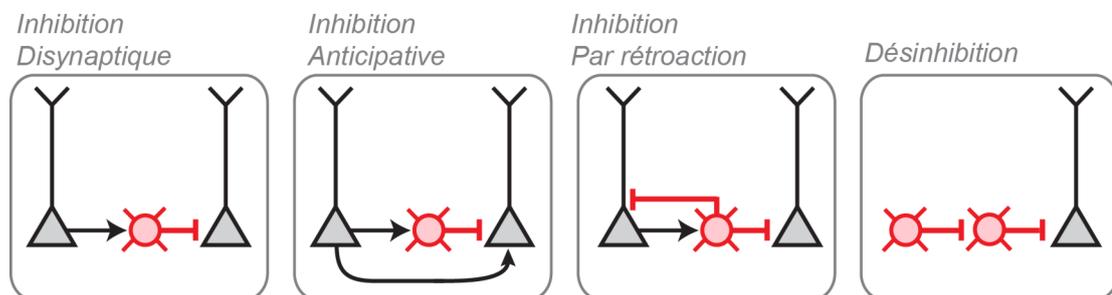


FIGURE I.1: Principaux motifs de l'inhibition. Schéma des circuits neuronaux impliqués dans l'inhibition disynaptique, l'inhibition anticipative, l'inhibition par rétroaction et la désinhibition. Les neurones excitateurs sont représentés en noir et les interneurones inhibiteurs en rouge. Modifié de Feldmeyer et collab. (2018).

I.1.2.4 Les différents types de classification

Outre le fait que les interneurones inhibiteurs ont des projections spatialement restreintes et ont la propriété de libérer du GABA, il est encore difficile à ce jour de caractériser plus précisément cette famille de neurones tant elle est hétérogène.

Dans un premier temps, les interneurones ont été classés selon leur anatomie et sept sous-types majeurs ont été répertoriés. Les *basket cells* ou cellules paniers sont les plus représentées de tous les interneurones. Elles exercent leur inhibition dans les régions proximales des cellules pyramidales en formant un *panier* autour du soma, d'où leur nom. Ont également été répertoriées : les cellules chandeliers ayant la particularité d'inhiber les axones ; les cellules Martinotti inhibant les extrémités des dendrites apicales ; les cellules bipolaires caractérisées par un soma ovoïde ; les cellules multipolaires avec une arborisation dendritique large ; les cellules neurogliaformes projetant localement de façon dense et les cellules projetantes, les seules ayant la capacité d'émettre des axones dans l'hémisphère opposé (Markram et collab., 2004; Gentet, 2012) (Figure I.3).

Puis dans un second temps, ce sont les propriétés moléculaires des interneurones qui ont permis de les caractériser. Trois catégories principales ressortent : les interneurones exprimant majoritairement des protéines liant le calcium, les interneurones exprimant principalement des neuropeptides, et ceux qui combinent l'expression des deux (Markram et collab., 2004). Parmi les interneurones exprimant des protéines liant le calcium on retrouve la parvalbumine (PV), la calbindine et la calretinine. Les neuropeptides retrouvés dans les interneurones sont la somatostatine (SST), le peptide vasoactif intestinal (VIP), la cholecystokinine et le neuropeptide Y (NPY). Bien que certaines molécules soient préférentiellement exprimées dans des cellules avec une ou plusieurs morphologies spécifiques, il est impossible de créer des classes distinctes de sous-type neuronaux qui ne se recoupent pas en n'utilisant que le critère moléculaire et le critère morphologique. Par exemple les cellules VIP peuvent prendre la forme d'une cellule à panier, d'une cellule projetante, ou d'une cellule bipolaire (Gentet, 2012). A l'inverse les cellules chandeliers sont capables de co-exprimer la calbindine et la PV (Markram et collab., 2004). Aussi on découvre que certains interneurones expriment des récepteurs membranaires spécifiques comme le récepteur ionotrope 3a de la sérotonine (5HT3aR), ou encore des enzymes particulières comme la choline acetyltransferase, ou l'oxyde nitrique synthase neuronale (nNOS).

Plusieurs études se sont alors penchées sur leurs comportements électrophysiologiques. Les interneurones ont tout d'abord été décrits comme des neurones *fast spiker*, c'est à dire avec un potentiel d'action étroit et une phase post hyperpolarisation réduite, ce qui leur confèrent la

capacité de décharger à des fréquences bien plus élevées que les cellules pyramidales (McCormick et collab., 1985). Plus tard, il s'est avéré que tous les interneurons ne possédaient pas cette caractéristique et qu'il existait beaucoup d'autres patterns de décharges : irréguliers, en bouffées, avec ou sans accommodation, possédant une résistance membranaire ou *input resistance* élevée ou faible.

Au fil des années, des critères de classifications se sont ajoutés prenant en compte notamment l'origine embryonnaire, la proportion de chaque sous-type neuronal dans les couches corticales, les propriétés synaptiques, les cellules cibles, etc. En 2008, une communauté de chercheurs s'est regroupée dans le village de naissance de Ramón y Cajal, pour définir une classification unique et universelle des interneurons : la nomenclature *Petilla*, faisant référence au nom du village espagnol (Ascoli et collab., 2008). Finalement, aucune classification n'a fait consensus, et seuls les différents critères permettant de caractériser les interneurons ont été clairement définis.

I.2 Les principaux neurones inhibiteurs corticaux

En 2011, Rudy et collab. définissent trois groupes comprenant environ 100% des neurones GABAergiques corticaux chez la souris : les neurones PV, les neurones 5HT3aR et les neurones SST. Les neurones 5HT3aR se révèlent être la classe la plus diversifiée pouvant elle-même se subdiviser en deux groupes : les neurones 5HT3aR exprimant ou non le neuropeptide VIP (Rudy et collab., 2011). L'inconvénient est que cette classification est chevauchante : quelques neurones 5HT3aR sont capables d'exprimer la SST. Cependant, aucun neurone 5HT3aR exprimant VIP n'a la capacité d'exprimer la SST et la PV (Xu et collab., 2011). Si l'on ne considère alors que le groupe VIP, on obtient alors 3 catégories d'interneurones totalement distinctes : les neurones PV, les neurones SST et les neurones VIP (Figure I.2).

I.2.1 Les neurones à parvalbumine

Les neurones PV restent les interneurons les plus connus car ils ont été les premiers à être découverts sous le nom de *fast spiker* (McCormick et collab., 1985). À l'aide de techniques électrophysiologiques classiques, les neurones PV sont facilement reconnaissables grâce à la forme de leur potentiel d'action. Ils sont définis par un potentiel d'action fin (Casale et collab., 2015) et d'une phase d'hyperpolarisation rapide (Povysheva et collab., 2013). Ainsi le rapport entre le sommet et le creux du potentiel d'action est bien plus petit que celui des cellules pyramidales. Leur fréquence de décharge est en moyenne toujours supérieure à celle des autres sous-types neuronaux et sans accommodations (Gentet et collab., 2012). Les neurones PV sont aussi gran-

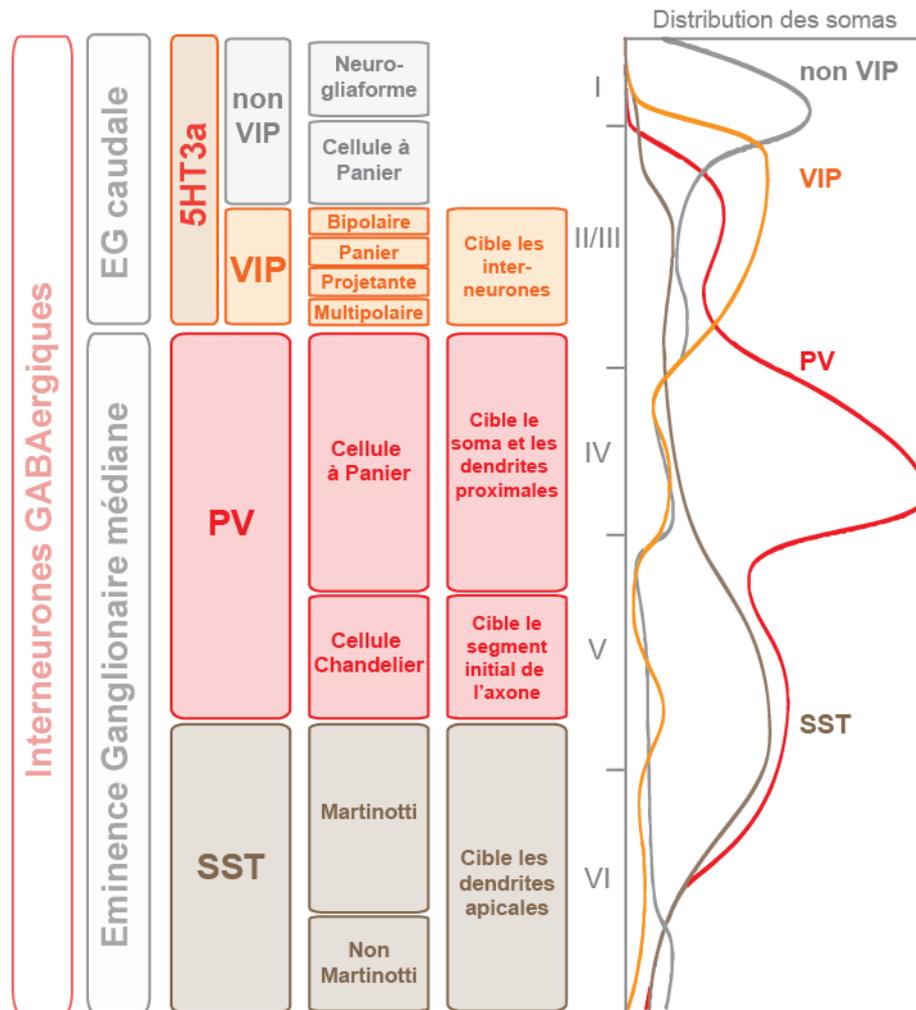


FIGURE I.2: Classification des principaux interneurons GABAergiques corticaux. Les différentes propriétés des trois sous-types majeurs d'interneurones sont illustrées sous la forme d'un organigramme (de gauche à droite : l'origine embryonnaire, les marqueurs moléculaires, la morphologie et les neurones cibles). La distribution des somas des interneurons en fonction des couches corticales et du sous-type neuronal est également représentée. EG : *éminence ganglionnaire*. Modifié de Tremblay et collab. (2016).

dement interconnectés et ce notamment via des synapses électriques ou jonctions *gap*. Cette propriété les prédispose à décharger de façon synchronisée et donc d'avoir un plus grand impact tant sur la réponse du microcircuit que sur les oscillations corticales (Galarreta et Hestrin, 2002; Cardin et collab., 2008).

Les neurones PV dérivent de l'éminence ganglionnaire médiane et sont le plus présents dans les couches granulaires (Gelman et Marín, 2010). Ils deviennent en majorité des cellules à panier. Les neurones PV à panier, comme décrit précédemment, contactent principalement le soma des neurones pyramidaux où ils exercent leur inhibition. Leur position fait d'eux des neurones de choix pour ajuster la réponse synaptique des cellules excitatrices. Il a par ailleurs été reporté que

les neurones PV à panier pouvaient avoir des propriétés désinhibitrices en ciblant des cellules de leur propre groupe (Gentet, 2012).

Il existe aussi dans une moindre mesure des neurones PV chandelier. Ils doivent leur nom à la forme très particulière de leurs axones. Ces cellules sont également les seules à avoir la capacité de cibler le segment initial des axones pyramidaux, lieu de génération des potentiels d'action (Somogyi, 1977). Cette propriété leur permet de directement influencer ou non la génération d'un potentiel d'action et font d'elles des cellules clefs pour contrôler l'activité du circuit. Elles sont aussi qualifiées de cellules *axo-axoniques* (Inan et Anderson, 2014). Récemment, leurs propriétés inhibitrices ont été remises en question. En effet, les interneurons GABAergiques ne peuvent provoquer une hyperpolarisation que si le potentiel de membrane de la cellule post-synaptique est supérieur à celui du potentiel d'équilibre de Cl⁻. Dans le cas où le neurone post-synaptique aurait été inhibé en amont par des cellules GABAergiques, au point où le potentiel de membrane devient inférieur à celui du potentiel d'équilibre de Cl⁻, l'activation des cellules chandeliers engendrerait une dépolarisation (Inan et Anderson, 2014). De plus, il a été récemment découvert chez l'homme et chez le rat, que la concentration en Cl⁻ pouvait être différente dans le segment initial des neurones dû à l'absence du co-transporteur KCl (Szabadics et collab., 2006). Les cellules chandeliers seraient donc les plus à même d'exercer une dépolarisation du neurone. Ce mécanisme pourrait permettre de contrebalancer une inhibition trop puissante sur les neurones excitateurs.

Enfin, si les neurones PV sont aussi connus, c'est aussi parce que leur dérégulation peut engendrer de nombreuses pathologies. Parmi elles, l'épilepsie (Jiang et collab., 2016), l'autisme (Wöhr et collab., 2015) et la schizophrénie (Nakazawa et collab., 2012) sont les plus courantes. La création de souris génétiquement modifiées a notamment permis de démontrer le caractère essentiel de ces cellules dans le maintien de la balance excitation-inhibition et donc dans le bon fonctionnement de notre cerveau.

I.2.2 Les neurones à somatostatines

Comme les neurones PV, les neurones SST proviennent de l'éminence ganglionnaire médiane (Gelman et Marín, 2010). Répartis dans toutes les couches corticales, les neurones SST sont plus nombreux dans les couches infra-granulaires. La grande majorité d'entre eux sont des cellules de Martinotti et projettent leur axone au niveau de l'arborisation dendritique des cellules pyramidales, en particulier au niveau de la couche I (Muñoz et collab., 2017). Il a été démontré à plusieurs reprises par des études effectuant des doubles enregistrements en cellule entière sur tranche et *in vivo* que les neurones SST et les cellules pyramidales possèdent une forte probabilité

de connectivité (Fino et Yuste, 2011; Pala et Petersen, 2015). En effet, les cellules pyramidales peuvent générer une potentialisation à court terme dans les neurones SST via des synapses facilitatrices (Silberberg et Markram, 2007; Pala et Petersen, 2015). Enfin les neurones SST sont responsables d'inhibitions disynaptiques : l'excitation d'une cellule pyramidale peut provoquer l'inhibition d'une autre cellule excitatrice via un neurone SST connecté entre ces 2 neurones (Silberberg et Markram, 2007).

Concernant leur mode de décharge, il peut être régulier ou bien en bouffée dit *burst*. Les neurones SST possèdent une forte résistance membranaire et un potentiel de membrane plus élevé que la moyenne surtout dans les couches II/III du cortex. De plus leur potentiel de membrane est en moyenne anticorrélé avec celui des cellules excitatrices. L'inhibition optogénétique des cellules SST engendre une augmentation de la fréquence de décharge ainsi qu'une variation de la proportion de décharge en bouffée des cellules excitatrices (Gentet et collab., 2012).

Il existe toutefois des neurones SST qui ne sont pas décrits morphologiquement comme des cellules de Martinotti, appelés neurones non-Martinotti. Dans le néocortex, les cellules non Martinotti projettent principalement leurs axones dans la couche IV contrairement aux cellules Martinotti qui innervent la couche I (Muñoz et collab., 2017). Leur profil électrophysiologique diffère également et se rapproche plus des neurones PV avec un potentiel d'action fin, une fréquence de décharge élevée et une résistance membranaire plus faible (Nigro et collab., 2018). Ce profil de *fast spiker* a été mis en évidence par la création de plusieurs lignées de souris transgéniques qui ont la caractéristique d'exprimer la GFP dans différents type de neurones SST dont la lignée X94, la X98 et la GIN (Ma et collab., 2006).

Enfin, la molécule de somatostatine est parfois libérée en même temps que les molécules de GABA dans la synapse lorsque les neurones SST s'activent à haute fréquence. La molécule de SST aurait également un effet inhibiteur sur les neurones excitateurs (Grilli et collab., 2004). Les neurones SST sont également impliqués dans des processus de désinhibition dont les neurones VIP sont les principaux acteurs.

I.2.3 Les neurones au peptide vasoactif intestinal

Les neurones VIP ont une origine embryonnaire différente des neurones SST et PV, et proviennent de l'éminence ganglionnaire caudale (Gelman et Marín, 2010). Contrairement aux neurones SST qui dominent les couches infra-granulaires, les cellules VIP sont abondantes dans les couches supra-granulaires et en particulier dans la couche II/III (Prönneke et collab., 2015). Dans cette couche, les formes bipolaires, projetantes ou à panier sont dominantes alors que la forme multipolaire est la plus courante dans la couche I (Gentet, 2012; Prönneke et collab., 2015).

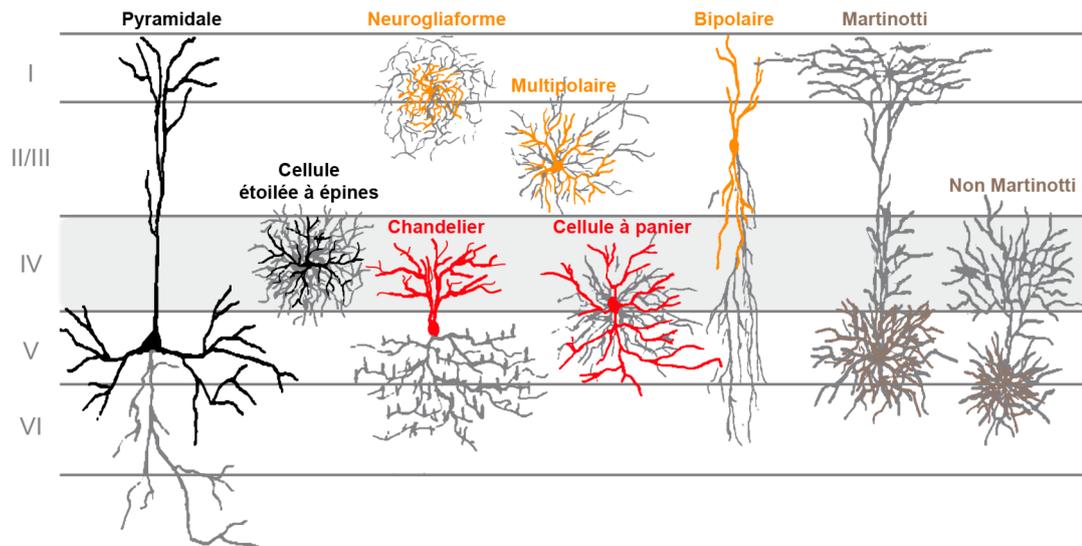


FIGURE I.3: Illustration des différentes morphologies retrouvées dans le cortex. Alors que les neurones excitateurs comprennent les neurones pyramidaux et les cellules étoilée à épines (en noir), les interneurons peuvent se présenter sous de multiples formes. Les neurones PV sont principalement des cellules chandelier ou des cellule à panier (en rouge) alors que les neurones SST peuvent être de Martinotti ou non Martinotti (en marron). Les neurones VIP peuvent être quant à eux multipolaires ou bipolaires par exemple et les neurones 5HT3aR non VIP sont principalement neurogliaformes (en orange). Les somas et les dendrites sont représentés en couleur, et les axones en gris.

Aussi, l'arborisation dendritique des cellules VIP localisées dans les couches IV à VI est plus grande que celle des neurones VIP des couches II/III. En opposition, l'axone des cellules VIP de la couche II/III est plus étendu verticalement que celui des neurones VIP des couches IV à VI. Cette dichotomie est à même de préférer aux cellules VIP supragranulaires la fonction de régulation inhibitrice translaminaire Prönneke et collab. (2015).

Les neurones VIP peuvent présenter un pattern de décharge assez hétérogène mais sont le plus souvent décrits comme des cellules déchargeant de façon irrégulière avec un profil d'adaptation rapide. Le potentiel membranaire des cellules VIP varie également selon leur localisation corticale. Dans les couches IV à VI, le potentiel de membrane est plus bas que celui des couches II/III (Prönneke et collab., 2015). Une étude récente supporte le fait qu'il pourrait exister plusieurs sous-types de neurones VIP, dont un présentant un mode de décharge en bouffés (Prönneke et collab., 2019).

Comme précédemment décrit, ces cellules appartiennent à la famille des interneurons exprimant le seul récepteur ionotropique à la sérotonine 5HT3aR et en composent près de 40% (Lee et collab., 2010). Étrangement, d'autres études démontrent que tout les neurones VIP n'exprimeraient par ce récepteur. Seuls les neurones co-exprimant VIP et CCK exprimeraient le récepteur 5HT3aR Férézou et collab. (2002). L'action de la sérotonine sur les neurones VIP se ferait par des récepteurs métabotropiques 5HT2R, et pour seulement la moitié d'entre eux via le récepteur ionotropique

5HT_{3aR} (Prönneke et collab., 2019). L'activation de ces récepteurs via les fibres sérotoninergiques induit une modification du pattern de décharge ainsi qu'une augmentation rapide de l'activité des neurones VIP (Férézou et collab., 2002; Prönneke et collab., 2019). Cette augmentation de l'activité conduit dans certains cas à la libération de l'oxyde nitrique, aux propriétés vasodilatantes (Perrenoud et collab., 2012). Il a en parallèle été démontré que les neurones VIP sont localisés préférentiellement à proximité des vaisseaux sanguins (Perrenoud et collab., 2012). L'activité de ces neurones jouerait donc un rôle dans la régulation du flux sanguin, ce qui place ces cellules au centre d'un processus capable de moduler l'activité cérébrale dans son ensemble et sur une longue durée.

Les afférences cholinergiques et noradrénergiques ont également un impact direct sur l'activité des neurones VIP et vice versa. Alitto et Dan (2013) ont démontré que la désynchronisation corticale induite par une stimulation du télencéphale basal augmente l'activité des neurones VIP. Prönneke et collab. (2019) ont également décrit que l'acétylcholine permet un changement du pattern d'activité (d'un mode en bouffées à un mode tonique) des neurones VIP, via les récepteurs nicotiniques. Les fibres noradrénergiques elles, agissent en synergie avec les neurones VIP créant ainsi une potentialisation des effets de la noradrénaline à des endroits ciblés du cortex ou *hot spot* (Magistretti et Morrison, 1985).

De façon générale, les neurones VIP de par leur sensibilité aux neurotransmetteurs et leurs localisations (principalement dans les couches superficielles), semblent être grandement influencés par les fibres de longues distances. En étudiant la connectivité entre le cortex somatosensoriel primaire et le cortex moteur primaire (M1), Lee et collab. (2013) ont démontré que les neurones VIP de S1 étaient la cible principale des neurones M1. De cette découverte en découle la mise en évidence du système de désinhibition des SST par les VIP.

Lee et collab. (2013) ont cherché à comprendre quelles étaient les cibles principales des neurones VIP. En activant optogénétiquement² ces dernières, ils observent dans les neurones SST, des PPSI d'une grande amplitude. Par la suite, d'autres études *in vivo* et *in vitro* ont confirmé le fait que les neurones VIP contrairement aux autres interneurones, n'inhibent pas des cellules excitatrices mais les interneurones eux même, avec une forte préférence pour les cellules SST (Pi et collab., 2013; Letzkus et collab., 2015).

2. L'optogénétique est une méthode permettant de stimuler un sous-type neuronal rendu sensible à la lumière. Ce phénomène est rendu possible grâce à l'injection dans le cerveau de plasmides viraux contenant le gène d'un canal ionique photosensible, comme la *Chanelrhodopsin*.

I.3 Intégration de ces acteurs neuronaux dans le cortex

Les interneurons et les neurones excitateurs s'intègrent donc dans un circuit cortical hautement complexe. Cette circuiterie peut varier selon plusieurs critères comme les couches corticales, les régions étudiées, ou bien même selon les espèces. Dans cette section est détaillée l'intégration des acteurs de la balance excitation-inhibition en fonction du modèle étudié.

I.3.1 Organisation corticale

Le cortex comprend, avec le néocortex, l'allocortex qui contient trois à six couches corticales. Bien que les interneurons et les neurones pyramidaux composent également l'allocortex, cette thèse se concentre uniquement sur l'intégration néocorticale en six couches. Chacune de ses couches corticales reçoit des informations provenant de régions différentes. La couche I du cortex (de la dure-mère à -128 μm chez la souris), reçoit principalement des projections d'autres aires corticales. Ainsi, l'ensemble des aires sont connectées entre elles et peuvent communiquer afin de s'accorder sur une réponse corticale globale. La couche IV (de -418 à -588 μm chez la souris) reçoit quant à elle des informations provenant du thalamus, porte d'entrée des afférences sensorielles. Les couches II et III (de 128 à -418 μm chez la souris), difficilement distinguables l'une de l'autre chez les rongeurs, sont le siège de l'intégration corticale : les afférences cortico-corticales et du thalamus provenant de la couche I et IV respectivement, y convergent. Une fois les processus d'intégration achevés, l'information descend dans les couches sous granulaires où une transmission du signal est alors effectuée aux autres régions corticales et sous corticales via les neurones de la couche V (de -588 à -890 μm chez la souris), et aux noyaux thalamiques via la couche VI (de -890 à -1154 μm chez la souris) (Lefort et collab., 2009).

I.3.1.1 Selon les différentes couches

Ce qui fait la singularité des couches corticales est que, comme vu dans la section précédente, les différents acteurs neuronaux, en particulier les neurones inhibiteurs, se répartissent de façon hétérogène dans le néocortex. Plusieurs études *in vitro*, ont alors cherché à identifier le rôle de chacun de ces sous-type neuronaux dans cette connectivité intralaminaire (Figure I.4).

Du thalamus à la couche IV Les neurones thalamo-corticaux, transmettant les signaux sensoriels, contactent en majorité les neurones de la couche IV. Afin de comprendre quelle est la nature des neurones ciblés, une équipe de chercheur a enregistré, après stimulation de ces fibres ascendantes, la réponse des différents sous-types de neurones de la couche IV. L'étude révèle que

plus de la moitié des neurones inhibiteurs répondent à la stimulation de façon supraliminaire, contre respectivement 0 et 5% pour les cellules étoilées à épines et les neurones pyramidaux. Les interneurons répondants ont été identifiés comme des neurones *fast spiker* PV (Porter et collab., 2001). En parallèle, il a été démontré que les neurones *fast spiker* de la couche IV possèdent des connexions très fortes avec les cellules étoilées à épines tout le long de l'arborisation dendritique (Koelbl et collab., 2015) et sont capables aussi de s'auto-inhiber (Porter et collab., 2001). Ces travaux démontrent que les interneurons sont préférentiellement excités par les fibres thalamiques et inhibent en grande partie la réponse des neurones excitateurs. Une régulation de la transmission du signal thalamique s'opère donc avant que celui-ci ne soit transmis aux couches supérieures via un motif d'inhibition anticipative ou *feedforward*. Gabernet et collab. (2005) proposent que la particularité de ce motif d'inhibition est qu'il permet de réduire la fenêtre d'intégration sensorielle grâce à 3 facteurs : une transmission synaptique puissante et rapide entre le thalamus et les neurones PV, une forte probabilité de connexions entre les neurones PV et les neurones excitateurs, et enfin une forte conductance inhibitrice dans les neurones excitateurs. Bruno et Sakmann (2006) révèlent qu'en réalité la puissance de la transmission synaptique entre les neurones thalamo-cortico et les neurones PV est faible, mais que les entrées synaptiques sont nombreuses et synchrones.

De la couche IV aux couches II/III En 2002, Feldmeyer et collab. ont étudié le lien entre les cellules étoilées à épines de la couche IV avec les neurones pyramidaux de la couche II/III dans le cortex S1. Dans 95% des cas, l'émission d'un potentiel d'action dans une cellule étoilée à épines induit un PPSE dans les neurones pyramidaux de la couche II/III (Feldmeyer et collab., 2002). Ils estiment qu'une seule cellule de la couche IV émet en moyenne 4.5 contacts synaptiques avec un neurone pyramidal de la couche II/III et que la majorité de ces contacts se font au niveau des dendrites basales. En outre, il a été observé que ces mêmes cellules étoilées de la couche IV possèdent des connexions 1,8 fois plus fortes avec les interneurons de la couche II/III qu'avec les neurones pyramidaux (Helmstaedter et collab., 2008). De même, les synapses - en moyenne au nombre de 6 - entre les interneurons et les neurones pyramidaux de la couche II/III, se font là où les contacts avec la couche IV s'effectuent (Hoffmann et collab., 2015).

De la couche I aux couches II/III La couche I contient uniquement des corps cellulaires de neurones GABAergiques et sont majoritairement des neurones VIP (Xu et collab., 2011). Cette couche est avant tout un carrefour où les axones de longues et moyennes projections rejoignent l'arborisation dendritique des interneurons et celle des cellules pyramidales des couches inférieures. L'inactivation optogénétique des interneurons de la couche I a permis de démontrer

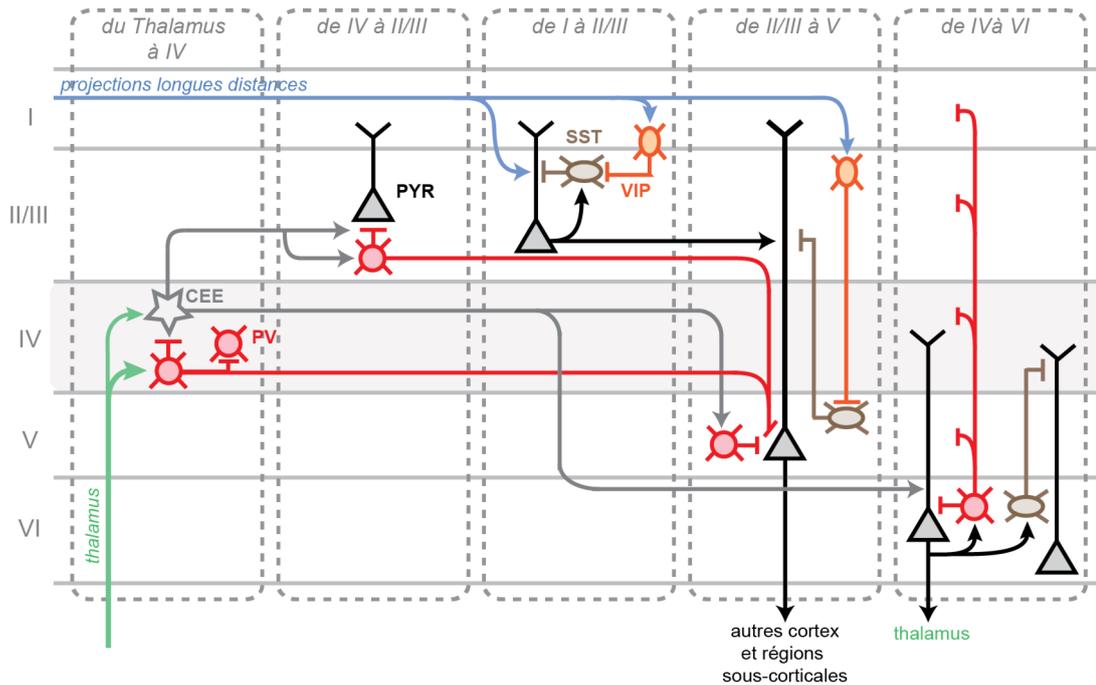


FIGURE I.4: Schéma simplifié du circuit cortical intralaminaire et translaminaire. Les informations sensorielles provenant du thalamus atteignent la couche IV qui transmet le signal aux couches II/III via les cellules étoilées à épines. La couche II/III intègre également les informations provenant des projections longues distances de la couche I en partie grâce aux neurones VIP. Le signal est ensuite transmis aux couches profondes V et VI qui envoient l'information aux régions sous-corticales et thalamiques respectivement. PV : neurone à parvalbumine; VIP : neurone au peptide vaso-actif intestinal; SST : neurone à somatostatine; PYR : neurone pyramidal; CEE : cellule étoilée à épines. Modifié de Yavorska et Wehr (2016).

qu'un de leur rôle est de diminuer la variabilité de la réponse des neurones pyramidaux à une stimulation sensorielle (Shlosberg et collab., 2006; Egger et collab., 2015).

Des couches III/III à la couche V Les neurones pyramidaux de la couche V sont réputés pour leurs grosses dendrites apicales capables d'atteindre les couches les plus superficielles du cortex. Les neurones de la couche II/III forment alors des connexions avec les neurones possédant les dendrites les plus épaisses. Le signal redescend dans la couche V puis est envoyé dans les structures sous corticales. Comme dans les autres couches corticales, l'activité est régulée au niveau péri-somatique par les neurones PV et au niveau dendritique par les neurones SST. Toutefois, il existe en supplément, une régulation translaminaire du signal. Les interneurons de la couche V peuvent être activés par les cellules excitatrices des couches II/III et IV. Les neurones pyramidaux peuvent également être inhibés par les interneurons provenant des autres couches corticales (Naka et Adesnik, 2016).

Des couches IV à la couche VI Les neurones de la couche VI reçoivent quant à eux de fortes afférences des neurones de la couches IV (Cotel et collab., 2018). Les neurones pyramidaux sont ensuite fortement connectés au neurones PV de la couche VI, qui envoient des projections axonales dans toutes les couches supérieures du cortex (Frاندolig et collab., 2019).

Chaque couche corticale présente des caractéristiques propres mais le même schéma se dessine globalement partout : la désinhibition par les neurones VIP, l'inhibition péri-somatique des PV et dendritique des SST.

I.3.1.2 Selon les différentes régions corticales

Le néocortex se divise en régions fonctionnelles : les aires motrices, sensorielles et les aires associatives de haut niveau. Bien qu'elles aient toutes un rôle très spécifique dans le bon fonctionnement du cerveau, le circuit intra et translaminaire reste le même. On peut noter toutefois que la morphologie et le pattern de décharge de certains sous-types neuronaux (Neske et collab., 2015; Scala et collab., 2019), l'épaisseur de certaines couches (Gilman et collab., 2016) et la densité des neurones (Defelipe et collab., 2002) peuvent varier en fonction de l'aire étudiée. L'hypothèse principale est que ce sont les afférences thalamiques, sous corticales et corticales qui régissent au cours du développement, l'épaisseur et la densité de neurone de la région (Defelipe et collab., 2002). Concernant la composition neuronale du cortex, une étude chez la souris, suggère que contrairement aux neurones glutamatergiques, les interneurones GABAergiques ont un profil génétique stable entre les différentes aires corticales (Tasic et collab., 2018).

I.3.1.3 Selon les différentes espèces

Il en est de même lorsque l'on compare l'organisation corticale entre les différentes espèces. Bien sûr, l'épaisseur du cortex de l'homme est plus importante que celle des rongeurs (2,6mm d'épaisseur au total chez l'homme, contre 1.8 mm chez le rat et 1.2 mm chez la souris), par contre le nombre de neurones au mm³ est plus important chez les rongeurs que chez l'homme (Defelipe et collab., 2002). Il a par exemple aussi été constaté que les couches II/III du cortex, siège de l'intégration corticale, sont plus larges chez les primates que chez les rongeurs (Hutsler et collab., 2005).

L'hypothèse selon laquelle l'efficacité des synapses corticales détermine les capacités cognitives d'une espèce émerge depuis quelques années (Lourenço et Bacci, 2017). Chez l'homme, les connexions entre les neurones pyramidaux et les neurones PV sont plus fortes, suffisamment pour qu'un potentiel d'action d'une cellule excitatrice induise une réponse supraliminaire du neurone PV post-synaptique (Szegedi et collab., 2016). Aussi les propriétés membranaires

des neurones et les règles pour induire une potentialisation ou une dépression des synapses pourraient être différentes entre l'homme et les rongeurs (Verhoog et collab., 2013; Eyal et collab., 2016).

La proportion d'interneurones peut également varier entre 15 et 25% selon que l'on considère le cortex d'un rat ou d'un primate, mais elle reste toujours très inférieure à celle des neurones excitateurs (Defelipe et collab., 2002). La répartition des interneurones à travers les différentes couches semble également stable entre les rongeurs et l'homme, tout comme la proportion d'interneurones provenant de l'éminence ganglionnaire caudale et médiane (Hodge et collab., 2019). Un nouveau sous-type d'interneurone découvert chez l'homme uniquement a également été récemment décrit. Les cellules *rosehip* de leurs noms, retrouvées dans la couche I, auraient des propriétés différentes des cellules neurogliaformes et seraient capables d'inhiber les dendrites apicales des neurones pyramidaux (Boldog et collab., 2017). Certaines propriétés électrophysiologiques des neurones peuvent également varier entre deux espèces. Par exemple dans le cortex préfrontal, la fréquence de décharge et le seuil de déclenchement de potentiel d'action des neurones PV sont différents chez le singe et le rat. A l'inverse d'autres propriétés peuvent être totalement semblables comme l'amplitude et la durée des potentiels d'action (Povysheva et collab., 2013).

I.3.2 Le modèle du cortex somatosensoriel primaire des vibrisses de la souris

Le cortex s'organise horizontalement avec les couches corticales, mais aussi verticalement grâce aux colonnes corticales. Décrites dans les années 50 par Mountcastle, elles s'étendent de la surface corticale jusqu'à la substance blanche en traversant perpendiculairement les couches du cortex. Les neurones composant une colonne corticale sont interconnectés et l'information reçue à l'intérieur de la colonne circule verticalement avant d'être envoyée à d'autres colonnes. Chaque colonne est séparée par des *septa*. Elles forment donc une unité fonctionnelle et anatomique. Si le concept de colonne fait débat dans certains cortex, la majorité des scientifiques s'accordent sur le fait qu'il existe des microcircuits canoniques qui s'articulent verticalement (da Costa et Martin, 2010). Il reste cependant une région où l'existence de colonnes corticales est difficilement discutable : le cortex à tonneaux.

Découvert dans les années 1970 par Woolsey et Van der Loos, le cortex à tonneaux ou *barrel cortex* correspond au cortex somatosensoriel primaire des vibrisses (S1v) chez le rongeur. Au niveau de la couche IV, les corps cellulaires des neurones se concentrent pour former un cylindre de 100 à 400µm de diamètre appelés "tonneaux". Le nombre de tonneaux corticaux est équivalent

aux nombres de vibrisses, et chaque colonne est principalement associée à l'activité d'une seule vibrisse. De plus, l'emplacement des tonneaux est régi par la position des vibrisses sur le museau de l'animal (Petersen, 2019) (Figure I.5).

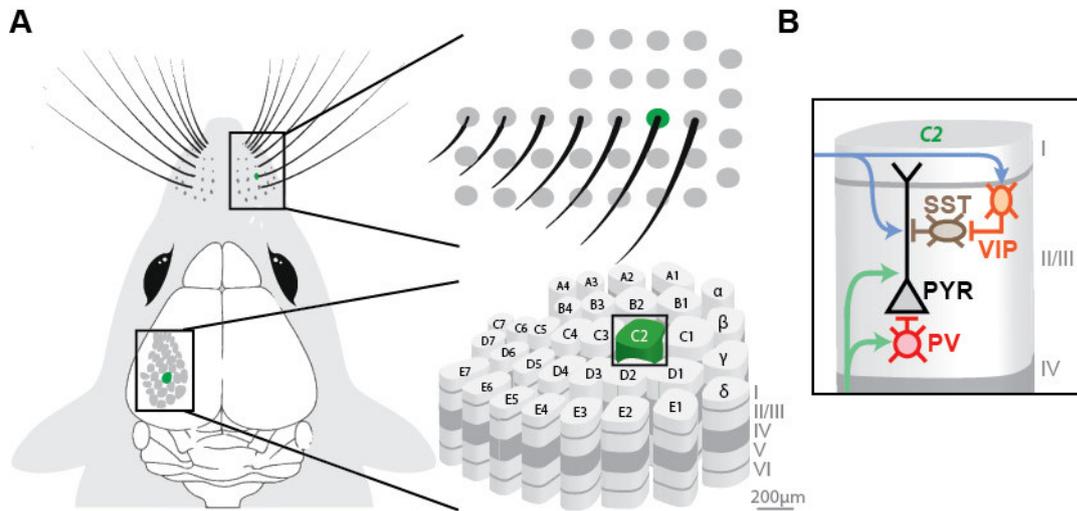


FIGURE I.5: Modèle du cortex somatosensoriel primaire des vibrisses chez la souris. **A.** Chaque vibrisse de la souris (en haut) est associée à une colonne corticale dans le cortex somatosensoriel primaire des vibrisses (en bas). La stimulation d'une vibrisse engendre l'activation des neurones de la colonne corticale associée à cette vibrisse dans l'hémisphère controlatéral. Modifié de Petersen (2019). **B.** Schéma simplifié du réseau neuronal des couches II/III d'une colonne corticale (ici associée à la vibrisse C2) dans le cortex somatosensoriel primaire des vibrisses. *PV* : neurone à parvalbumine; *VIP* : neurone au peptide vaso-actif intestinal; *SST* : neurone à somatostatine; *PYR* : neurone pyramidal.

Les vibrisses sont un organe sensoriel essentiel pour les rongeurs, extrêmement sollicité lors des comportements exploratoires. Elles leur permettent d'évaluer les distances, de se repérer dans l'espace, de toucher, discriminer différentes formes et textures d'objets. Pendant l'exploration, la souris bouge activement ces vibrisses pour scanner son environnement. Chaque vibrisse peut bouger indépendamment ou en synchronie avec les autres vibrisses. Le mouvement se fait principalement dans une dimension, d'avant en arrière, on parle de protraction et de rétraction. Il est alors possible de mesurer l'angle que fait la vibrisse avec le museau. Ces mouvements sont gouvernés par des muscles intrinsèques (pour la protraction) et extrinsèques (pour la rétraction) présents au niveau du follicule de la vibrisse (Petersen, 2014). Ces muscles sont innervés par les motoneurones logés dans le noyau facial latéral du tronc cérébral.

Historiquement, le cortex moteur primaire a toujours été décrit comme le cortex ayant un rôle prépondérant dans le contrôle du mouvement des vibrisses. Par ailleurs, il a été identifié dans le cortex moteur primaire de la souris une région dédiée aux mouvements des vibrisses appelée cortex moteur primaire des vibrisses (M1v). Le cortex M1v via la couche V émet des projections sur le noyau non réticulaire thalamique (nRt) qui projette lui-même sur le noyau facial du tronc

cérébral. L'activation de cette voie engendre l'excitation des motoneurones du noyau facial et entraîne la contraction des muscles des vibrisses. La stimulation optogénétique de M1v induit une protraction cyclique des vibrisses (Matyas et collab., 2010). Toutefois le rôle clef du cortex moteur dans le contrôle du mouvement a été remis en question (Petersen, 2014). Notamment, Welker (1964) ont démontré que la lésion du cortex moteur primaire n'empêchait pas le mouvement spontanée des vibrisses. De plus, de façon surprenante, la stimulation optogénétique de S1v induit une rétractation des vibrisses controlatérales. Les neurones cortico-thalamiques de S1v se projettent sur le noyau SpVi thalamique, qui lui-même innerve les motoneurones du noyau facial, induisant une rétraction des vibrisses (Matyas et collab., 2010). Le cortex somatosensoriel semblerait donc avoir un rôle majeur avec le cortex moteur dans le contrôle du mouvement des vibrisses en plus de sa fonction essentielle dans la réception et l'intégration des informations sensorielles.

Malgré l'absence de ce cortex chez l'homme, le cortex à tonneaux des rongeurs est un très bon modèle pour comprendre au mieux la connectivité neuronale et l'intégration sensorielle. Il est d'ailleurs l'un des cortex les plus étudiés en hodologie depuis de nombreuses années. Dans cette thèse, l'activité des neurones pyramidaux et des trois sous-types principaux d'interneurones sera étudiée dans le cortex somatosensoriel primaire des vibrisses chez la souris. Un intérêt tout particulier sera accordé aux couches II/III du cortex, qui sont les principales couches responsables de l'intégration des informations en provenance du thalamus et des autres régions corticales et sous corticales (Figure I.5).

II L'activité des interneurons inhibiteurs au cours du cycle veille sommeil

Le cycle veille-sommeil repose sur des changements physiologiques et comportementaux importants. Malgré cela, l'équilibre de la balance excitation-inhibition ne doit jamais être rompu. Dans ce chapitre, nous allons passer en revue les premières données de la littérature nous permettant de comprendre comment les différents acteurs de la balance, en particulier ceux de l'inhibition, agissent pendant l'éveil et le sommeil. Mais avant, un rappel sur les caractéristiques des composantes du cycle veille-sommeil est effectué.

II.1 Rappel sur les différents états de vigilances

Le sommeil est un état physiologique qui a longtemps été défini en opposition à l'éveil : une perte de conscience, une diminution de la réactivité sensorielle et du tonus musculaire. La naissance de l'électroencéphalogramme (EEG)¹ par Hans-berger en 1924 a permis de mieux définir le cycle veille sommeil et de caractériser les états en fonction de l'activité cérébrale.

Dans les sections qui suivent, les trois principaux états de vigilances seront décrits tout en mettant en perspective les différences et ressemblances observées chez l'homme et les rongeurs. En effet des différences notoires peuvent déjà s'observer en étudiant l'architecture du sommeil. Par exemple, les rongeurs ont un sommeil polyphasique, c'est à dire qu'ils effectuent au cours des 24h plus de 2 cycles veille-sommeil, contrairement à l'homme qui possède un sommeil monophasique ou diphasique - dans le cas de la pratique de la sieste. Ce critère n'est pas le seul qui différencie le cycle veille-sommeil observé chez l'homme de celui des rongeurs. Outre le fait que les rongeurs sont des animaux nocturnes (Van Twyver, 1969; Soltani et collab., 2019), ils présentent un sommeil plus fragmenté que l'homme. Les épisodes de sommeil chez la souris durent en moyenne entre 2 à 6 minutes et peuvent être entrecoupés de longs épisodes d'éveil, alors que chez l'homme on observe en moyenne 6 à 8 heures de sommeil continu (Toth et Bhargava, 2013). Malgré cela, les rongeurs restent un bon modèle pour mieux comprendre le cycle veille-sommeil et les pathologies qui lui sont associées (Toth et Bhargava, 2013; Soltani et collab., 2019).

1. L'EEG reflète le voltage généré par les potentiels post synaptiques des dendrites apicales des neurones pyramidaux du néocortex.

II.1.1 L'éveil

L'éveil est caractérisé par un spectre large de comportements pendant lequel le sujet est capable d'exécuter des mouvements volontaires et de répondre à des stimuli en pleine conscience. L'activité observée en EEG lors de l'éveil chez l'homme a été dans un premier temps décrite comme désynchronisée, c'est à dire de haute fréquence et de bas voltage (Dement, 1958). Toutefois, l'état d'éveil n'est pas homogène et plusieurs types d'oscillations, plus ou moins synchronisées, peuvent apparaître sur l'EEG. On préfère alors parler d'état d'activation corticale plutôt que de désynchronisation (Poulet et Crochet, 2019).

II.1.1.1 Les oscillations de l'éveil

Les oscillations corticales sont une mesure complexe de l'activité sous-jacente des réseaux neuronaux. Mais les rythmes corticaux ont également un rôle bien spécifique dans le transfert d'informations. Selon que deux aires corticales sont synchronisées ou non, elles seront plus ou moins en mesure de se transmettre efficacement un signal (Fries, 2015). Il est donc capital de percevoir les rythmes cérébraux non pas uniquement comme des marqueurs spécifiques d'un état de vigilance, mais comme des moyens de communications entre différentes régions cérébrales. Dans cette section seule une liste non exhaustive des oscillations observées chez l'homme et le rongeur est présentée pendant l'éveil.

Gamma Lorsqu'un individu ou un animal exécute une tâche lui demandant un haut niveau d'attention ou bien lorsqu'il perçoit un stimulus, il apparaît sur l'EEG principalement des ondes gamma, supérieures à 30Hz. Ces ondes rapides et transitoires seraient favorables à une meilleure communication entre les aires corticales et amélioreraient le transfert d'informations. L'origine du gamma est principalement corticale, et plus particulièrement dû aux interneurons PV. En effet, la stimulation optogénétique à 40Hz des neurones PV *in vivo* augmente la puissance des ondes gamma, contrairement à la stimulation des neurones pyramidaux (Cardin et collab., 2008).

Bêta Les ondes bêta présentes dans la bande de fréquence 15-30Hz sont le plus souvent associées aux ondes gamma lors de processus cognitifs. Chez le rat, les ondes bêta pourraient même avoir un rôle plus important que les ondes gamma dans la synchronisation des aires cérébrales. En effet, la cohérence entre différentes aires corticales se retrouve plus forte dans la bande bêta que dans la bande gamma lors de la réalisation d'une tâche comportementale chez la souris (Vinck et collab., 2016).

Thêta Lors de l'éveil, le thêta (5–8 Hz chez l'animal, 4–7 Hz chez l'homme) se produit lorsque des processus attentionnels ou mnésiques sont mis en jeu. Le rythme thêta permet de synchroniser les potentiels d'action des neurones excitateurs et facilite la plasticité synaptique. Cette plasticité est essentielle pour encoder la navigation spatiale et la mémoire épisodique (Liebe et collab., 2012). Le septum médian de l'hippocampe est la principale source de thêta. Proportionnellement au cerveau du rongeur, l'hippocampe est une structure plus petite et plus profonde chez l'homme, il est par conséquent plus difficile d'enregistrer le thêta en EEG chez l'homme que chez le rongeur. Des enregistrements effectués chez des patients épileptiques révèlent toutefois que le thêta de l'homme lié à la locomotion pourrait avoir une bande de fréquence bien plus basse que celle des rongeurs (de 1 à 4Hz) (Jacobs, 2014). Il est également important de souligner que chez le rongeur, deux types de thêta hippocampiques ont été découverts : le thêta de type I qui se produit lors de la locomotion, comme décrit ci-dessus, et le thêta de type II qui intervient lors de *freezing*² ou pendant une anesthésie induite à l'uréthane (Kramis et collab., 1975). Ces thêta se différencient l'un de l'autre par leur sensibilité à l'atropine : le thêta de type II disparaît après une injection d'atropine contrairement au thêta de type I. Le thêta de type I reste le plus étudié car il est le seul lié à la mémorisation et à la navigation spatiale (Kramis et collab., 1975). Enfin il existe de plus en plus de preuves démontrant que l'hippocampe ne serait pas le seul générateur de thêta et que le néocortex serait aussi capable de produire son propre rythme thêta (Cantero et collab., 2003).

Les ondes lentes Quand un individu éveillé se relaxe, ou bien lorsqu'il est maintenu éveillé (Aeschbach et collab., 1997), des ondes lentes et synchrones peuvent apparaître. Chez le rongeur, ces oscillations dans la bande delta (1-4Hz) ont été principalement décrites dans le cortex somatosensoriel primaire lorsque l'animal ne bouge pas ses vibrisses. Ces oscillations se retrouvent aussi dans d'autres aires corticales comme le cortex moteur, le cortex visuel et le cortex auditif lorsque le tonus musculaire est réduit (Poulet et Crochet, 2019). Les oscillations de faible fréquence (< 10 Hz) retrouvées en éveil sont de plus faibles amplitudes que celles retrouvées en sommeil lent (Fernandez et collab., 2017). Par contre ces oscillations sont aussi plus synchronisées avec les aires corticales éloignées, ce qui pourrait permettre d'améliorer les processus attentionnels (Fernandez et collab., 2017).

On distingue alors en éveil, deux états fondamentalement différents : l'éveil calme - avec une absence d'activité musculaire et une présence d'ondes lentes - et l'éveil actif - avec une activité musculaire plus soutenue et des oscillations rapides. L'activité des neurones néocorticaux dans ces deux états de vigilance est détaillée dans la section 2.1.1.

2. Le *freezing* se caractérise par une immobilité soudaine de l'individu induite par un stimulus pouvant être lié à la présence d'un danger. Seuls les muscles permettant la respiration restent en action. Le *freezing* peut durer quelques secondes à quelques minutes.

II.1.1.2 La régulation de l'éveil

Plusieurs systèmes promeuvent l'éveil et l'activation corticale. Les neurones monoaminergiques provenant du tronc cérébral et de l'hypothalamus abondent le cortex, le thalamus et l'hypothalamus de leurs neurotransmetteurs durant l'éveil. Parmi eux, on compte la noradrénaline, la sérotonine, la dopamine et l'histamine. L'acétylcholine provenant du télencéphale basal et du tronc cérébral est également massivement libérée durant l'éveil. Plus récemment, l'orexine a été identifiée comme un neuropeptide capable de potentialiser l'éveil notamment en stimulant les neurones monoaminergiques (Scammell et collab., 2017).

II.1.2 Le sommeil

Le sommeil est commun à toutes les espèces étudiées jusqu'à présent, de la mouche à l'homme en passant par les mollusques (Anafi et collab., 2019). Décrit depuis toujours, le sommeil a pendant longtemps été perçu comme un état homogène caractérisé par une perte de conscience de l'individu, une diminution du tonus musculaire et de la perception sensorielle. En 1937, Loomis et collab. ont défini pour la première fois plusieurs stades à l'intérieur du sommeil en lien avec les différentes oscillations identifiées sur l'EEG des sujets (Loomis et collab., 1937). En 1957, Dement et Kleitman introduisent la notion de cycle de sommeil (Dement et Kleitman, 1957). Enfin suite à la découverte du sommeil paradoxal (Dement, 1958; Jouvet, 1967), le sommeil est divisé en deux, le sommeil paradoxal ou *rapid-eyes mouvement sleep* (REM) d'un côté, et le sommeil lent ou *non rapid-eye movement sleep* (NREM) de l'autre.

II.1.2.1 Le sommeil lent

Chez les sujets sains, le sommeil lent est précédé d'une période d'éveil et est suivi d'un épisode de sommeil paradoxal ou bien d'un éveil. Il compose près de 80 % du sommeil total chez l'homme et 90 % chez la souris (Van Twyver, 1969; Ohayon et collab., 2004). En 1968, Rechtschaffen et Kales ont établi une première classification décomposant le sommeil lent de l'homme en 4 sous états, du stade I au stade IV, du sommeil le plus léger au plus profond. Le stade I correspondait à la phase d'endormissement alors que les stades II à IV se différenciaient par la proportion d'ondes delta observées sur l'EEG (20 % pour le stade II, 20 à 50 % pour le stade III et plus de 50 % dans le stade IV). En 2007, la AASM (American Academy of Sleep Medicine) a modifié la classification précédemment établie pour définir seulement 3 stades de sommeil lent de N1 à N3, fusionnant les précédents stades III et IV (Iber et collab., 2007). Le stade N3 est communément appelé Slow Wave Sleep (SWS) parce qu'il comporte la plus grande proportion d'ondes lentes.

Chez le rongeur, il est difficile de distinguer plusieurs stades au sein du sommeil lent. Un seul et même état de sommeil lent est alors considéré comparable aux stades N2 et N3 chez l'homme. Dans la littérature, le sommeil lent des rongeurs est indifféremment nommé NREM ou SWS, créant parfois une certaine confusion avec les études menées chez l'homme. Toutefois, une récente étude démontre qu'un meilleur scoring des états de vigilance chez la souris pourrait permettre de retrouver les trois stades de sommeil lent observés chez l'homme (Lacroix et collab., 2018).

II.1.2.1.1 *Les oscillations du sommeil lent*

Comme son nom l'indique, les oscillations corticales retrouvées en sommeil lent sont principalement lentes, c'est à dire de faible fréquence. Elles sont le plus souvent observées au niveau de l'EEG et, dans une moindre mesure, au niveau des potentiels de champ locaux ou *local field potential* (LFP)³ corticaux, surtout lorsque celui-ci est profond (Urbain et collab., 2019). Selon les études, la bande de fréquence considérée peut varier de 0.1 à 4.5 Hz.

Les ondes lentes Les ondes lentes du sommeil sont représentatives des stades les plus profonds du sommeil lent (stade N3 chez l'homme). Elles sont générées par la boucle thalamo-cortico-thalamique. Lorsque les afférences cholinergiques et monoaminergiques ne sont plus suffisantes, les neurones thalamo-corticaux s'hyperpolarisent et se mettent à décharger en bouffées par l'activation, l'inactivation et la dé-inactivation cycliques de courants intrinsèques (courants I_h et I_t). Ce pattern de décharge influence alors les cibles thalamo-corticales, les entraînant à leur tour à décharger environ à la même fréquence. Les populations de neurones thalamiques et corticaux se synchronisent alors pour décharger toutes les 0.25 à 1 secondes : apparaît alors sur l'EEG une onde lente comprise entre 1 et 4 Hz (Steriade et collab., 1993a).

Les delta event Des ondes spécifiques au sommeil lent nommées *delta event* ou *delta wave* (Urbain et collab., 2019; Todorova et Zugaro, 2019) sont caractérisées par une phase prolongée (>100 ms) de silence des neurones. Un seul cycle compose cette onde, et seule la phase positive est liée à l'inactivité des neurones corticaux. Cette période de silence se répercute sur plusieurs aires corticales, elle est dite globale. C'est le claustrum, région sous corticale située entre le putamen et l'insula, qui serait à l'origine de cette onde corticale. L'augmentation progressive de l'activité du claustrum, fortement connecté aux interneurons inhibiteurs du néocortex, provoquerait une modification de la balance excitation-inhibition et engendrerait une inhibition de l'ensemble des

3. Le LFP est un signal généré par la somme de toutes les excitations ou inhibitions synaptiques localisées dans la région où se situe l'électrode.

acteurs neuronaux (Timofeev et Chauvette, 2020; Narikiyo et collab., 2020). Toutefois, tous les neurones corticaux ne seraient pas silencieux pendant cette oscillation. Une étude récente a révélé que les neurones émettant des potentiels d'action pendant les *delta events* seraient impliqués dans des processus de consolidation mnésique (Todorova et Zugaro, 2019).

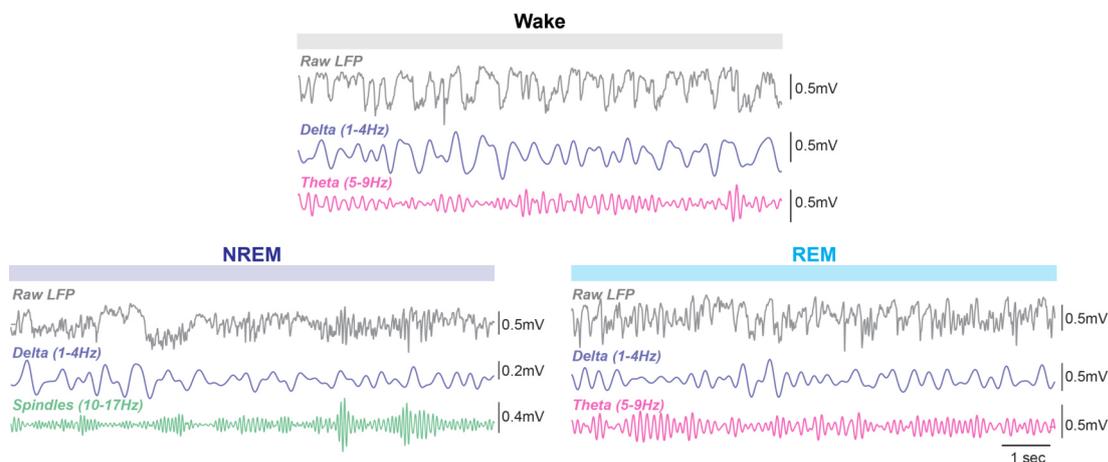


FIGURE II.1: Oscillations corticales locales retrouvées au cours du cycle veille-sommeil. Exemples d'enregistrements LFP bruts (en gris) et filtrés (en couleur) au sein de la couche II/III du cortex somatosensoriel primaire de la souris en éveil, sommeil lent et sommeil paradoxal.

En plus de ces oscillations, des ondes phasiques de plus grande fréquence générées par la boucle thalamo-cortico-thalamique peuvent être également retrouvées dans cet état de vigilance, ce sont les fuseaux du sommeil.

Les fuseaux du sommeil Les fuseaux du sommeil sont des ondes transitoires comprises entre 10 et 17 Hz, composées d'une phase montante et d'une phase descendante ou *waxing and waning*, d'une durée comprise entre 0.5 à 3 secondes (Fernandez et Lüthi, 2019). Ils apparaissent exclusivement lors du sommeil lent, dès le stade N2 chez l'homme. La décharge en bouffées des neurones GABAergiques du noyau réticulé thalamique, provoquée par la diminution de la concentration de monoamines lors du sommeil lent, est responsable de la genèse de ces ondes (Brown et collab., 2012). Ces neurones ciblent et inhibent spécifiquement les cellules relais thalamo-corticales qui se mettent à décharger également en bouffées. Le thalamus et le cortex se synchronisent alors grâce aux cellules relais thalamo-corticales et aux neurones pyramidaux cortico-thalamiques (Steriade et collab., 1993b; Fernandez et Lüthi, 2019). Il a par ailleurs été démontré que l'activation optogénétique des neurones du noyau réticulé thalamique *in vivo*, était capable d'induire des fuseaux du sommeil au niveau cortical (Halassa et collab., 2017). Les fuseaux du sommeil peuvent être nichés dans les oscillations lentes ou dans le delta. Selon Kim et collab., les fuseaux du sommeil n'auraient pas le même impact sur la consolidation de la

mémoire en fonction de l'onde par laquelle ils sont portés (Kim et collab., 2019). Des travaux de Niethard et collab. démontrent que l'activité des neurones pyramidaux pendant les fuseaux du sommeil est trois fois plus importante lorsque ceux-ci sont précédés d'une oscillation lente (Niethard et collab., 2018).

D'autres oscillations, non détaillées dans cette thèse, sont également présentes lors du sommeil lent, comme les *Sharp-Wave Ripples* hippocampiques (150–200 Hz), les complexes K chez l'homme, ou encore l'*infralow activity* (0.02 Hz) nouvellement décrite (Lecci et collab., 2017).

II.1.2.1.2 La régulation du sommeil lent

Le sommeil lent est régulé de façon homéostatique. En effet, lorsqu'une privation de sommeil est levée, de longues périodes de sommeil lent profond sont observées pour régler cette dette, c'est le phénomène de rebond. Ce mécanisme est dû à la pression du sommeil et correspond au besoin de dormir. Au réveil, la pression de sommeil est faible et augmente tout au long de la journée. Une fois endormis le soir, la pression de sommeil chute progressivement jusqu'à atteindre son minimum au réveil, ainsi de suite. Cette régulation homéostatique est sous tendue par des somnogènes, incluant l'adénosine, la prostaglandine D2, l'interleukine 1, etc. Ces molécules augmentent en concentration au cours de l'éveil et servent d'intermédiaire pour promouvoir le sommeil lent (Scammell et collab., 2017).

Il existe également une régulation homéostatique de certaines oscillations. Par exemple, après une privation de sommeil, la quantité d'ondes lentes sera plus importante (Vyazovskiy et collab., 2004). Aussi, il a été observé une plus grande proportion d'ondes lentes lors des premiers épisodes de sommeil lent alors que la proportion de fuseaux du sommeil est réduite (Vyazovskiy et collab., 2004). A l'inverse, lorsque la pression de sommeil est faible, la quantité de fuseaux du sommeil est plus grande alors que la proportion d'onde lente est diminuée (Vyazovskiy et collab., 2004; Nir et collab., 2011).

Le rythme circadien est aussi capable de moduler l'apparition du sommeil lent. Contrairement à la régulation homéostatique, notre horloge biologique est un système autonome dirigée par le noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus. Les neurones de ce noyau sont synchronisés par les projections de la rétine, informant sur le cycle lumière/obscurité. Le noyau suprachiasmatique influencerait ensuite indirectement la décharge des neurones de l'aire pré-optique, du locus coeruleus et des neurones à orexine (Scammell et collab., 2017).

Le sommeil lent s'initie en partie grâce à l'inhibition des noyaux contenant les neurones monoaminergiques et cholinergiques, par les neurones GABAergiques de l'aire pré-optique. La concentration d'acétylcholine dans le cortex pendant le sommeil lent est alors au plus bas, à

l'instar de la noradrénaline, la dopamine, la sérotonine et de l'histamine. Le télencéphale basal et la zone parafaciale contiennent également des neurones qui promeuvent le sommeil lent. Dans le cortex, les interneurons inhibiteurs exprimant NOs, appartenant pour la plupart aux neurones 5HT3aR non VIP, sont également considérés comme neurones actifs pendant le sommeil lent (Scammell et collab., 2017).

II.1.2.1.3 *Le rôle du sommeil lent*

De nombreuses études ont mis en évidence le caractère essentiel du sommeil lent notamment dans les processus mnésiques (Born et collab., 2006; Girardeau et collab., 2009; Vaz et collab., 2020). Pourtant les mécanismes cellulaires et synaptiques mis en jeu lors du sommeil lent restent peu connus. Plusieurs théories ont émergé ces dernières années sur les potentiels effets du sommeil lent sur la connectivité neuronale. La première théorie a été décrite par le groupe de Tononi, et stipule que le sommeil lent sert à réduire la force des connexions synaptiques, c'est la *synaptic homeostasis hypothesis* ou *SHY hypothesis* (Tononi et Cirelli, 2009). Ainsi, pendant la journée nous apprenons et nous renforçons dans notre cerveau les connexions synaptiques en relation avec cet apprentissage. La nuit, la force de l'ensemble des connexions synaptiques diminueraient de façon uniforme. Les connexions synaptiques mises en jeu pendant la journée seraient toujours plus fortes que celles non sollicitées pendant la journée, mais la différence serait moindre. Grâce à ce mécanisme, nous serions toujours en mesure d'apprendre à nouveau la journée suivante. Ce mécanisme empêcherait une saturation des connexions synaptiques et tout en diminuant le coût énergétique lié aux fortes connexions synaptiques (Tononi et Cirelli, 2009). De plus, les oscillations lentes pourraient avoir un rôle dans ce phénomène en favorisant des rythmes de décharges pouvant induire des dépressions synaptiques à long terme (Bienenstock et collab., 1982).

La deuxième théorie supporte le fait que le sommeil lent sert à transférer les traces mnésiques de l'hippocampe au cortex préfrontal. Ce transfert aurait lieu lors des *Sharp-Wave Ripples* de l'hippocampe et permettrait une consolidation mnésique et la formation d'une mémoire à long terme (Eschenko et collab., 2008). La communication entre l'hippocampe et le néocortex serait rendu possible notamment par la diminution du taux d'acétylcholine pendant le sommeil lent (Hasselmo M. E., 1999). Genzel et collab., en 2014 propose alors que les deux théories peuvent coexister si l'une s'applique pendant le sommeil lent léger (N1) -la consolidation mnésique- et l'autre pendant le sommeil lent profond (N2-N3) - la *SHY hypothesis* (Genzel et collab., 2014).

II.1.2.2 Le sommeil paradoxal

Le sommeil paradoxal, décrit dans les années 60 est défini par une perte de conscience, une atonie musculaire et des mouvements oculaires rapides ou REM (Dement, 1958; Jouvet, 1967). Chez les sujets sains, il est précédé d'un épisode de sommeil lent et est suivi d'une phase de réveil (Iber et collab., 2007). Mais la caractéristique la plus surprenante est observable en EEG : lors du sommeil paradoxal, l'activité cérébrale est similaire à celle observée en éveil, c'est à dire une activation corticale caractérisée par des ondes désynchronisées de basse amplitude.

II.1.2.2.1 Les oscillations du sommeil paradoxal

La nature des oscillations observées en sommeil paradoxal diffère assez selon que l'on étudie l'homme ou le rongeur et la zone cérébrale où ces oscillations sont enregistrées. Néanmoins, trois types d'oscillations sont retrouvées chez ces deux espèces : le rythme thêta, les ondes PGO et les ondes delta.

Thêta Le rythme thêta (5-9 Hz) est prédominant et continue au niveau de l'EEG lors du sommeil paradoxal des rongeurs. Chez l'homme ou le primate non humain, le thêta du sommeil paradoxal apparaît de façon phasique (quelques secondes) et dans une bande de fréquence plus basse que celle des rongeurs (4-7 Hz) sur l'EEG. Ces différences pourraient être liées à l'architecture anatomique de l'hippocampe propre à ces deux espèces. Par ailleurs, il semblerait que le thêta de l'éveil chez les rongeurs soit différent du thêta observé lors du sommeil paradoxal (Montgomery et collab., 2008).

Ondes PGO Les ondes Ponto-Geniculo-Occipital (PGO) sont des ondes d'un seul cycle de grande amplitude se produisant lors des mouvements rapides oculaires du sommeil paradoxal chez l'homme et chez le rongeur. Cette onde naît au niveau du pont du tronc cérébral et se propage jusqu'au cortex occipital. Les ondes PGO seraient impliquées dans la consolidation de la mémoire émotionnelle (Hutchison et Rathore, 2015).

Ondes lentes De récentes études ont démontré que des ondes lentes locales appartenant à la bande de fréquence delta (1-4 Hz) pouvaient également se produire lors du sommeil paradoxal. Chez la souris, ce phénomène a été mis en évidence notamment dans les couches superficielles du cortex somatosensoriel primaire (Funk et collab., 2016). Chez l'homme, deux clusters de delta ont été identifiés, la région frontale centrale, qui produit des oscillations similaires aux ondes

PGO, ainsi que la région occipitale médiane dont le rythme est semblable à celui des ondes observées pendant le sommeil lent (Bernardi et collab., 2019).

II.1.2.2.2 La régulation du sommeil paradoxal

A l'instar du sommeil lent, le sommeil paradoxal est régulé par la pression homéostatique et le cycle circadien. Au total, le sommeil paradoxal représente 25% du temps passé en sommeil chez l'homme contre 10% chez la souris (Van Twyver, 1969). La proportion de sommeil paradoxal est plus importante en fin de nuit chez l'homme, contrairement à la proportion de sommeil lent. Une privation spécifique de sommeil paradoxal, provoque chez les rongeurs, un rebond de sommeil paradoxal après la levée de privation, avec une augmentation des ondes delta et une diminution des ondes thêta (Shea et collab., 2008).

Le pont du tronc cérébral est au coeur de la génération du sommeil paradoxal. C'est l'interaction entre les neurones glutamatergiques de la formation réticulée pontine/mésencéphalique et les neurones cholinergiques du noyau tegmental qui serait à l'origine du sommeil paradoxal et des phénomènes qui l'accompagne (Scammell et collab., 2017). Par exemple, l'atonie musculaire du sommeil paradoxal est provoquée par l'activation des neurones glutamatergiques du noyau sublaterodorsal sur les neurones inhibiteurs de la moelle allongée et de la moelle épinière. Ces derniers hyperpolarisent alors les neurones moteurs et induisent une paralysie transitoire (Luppi et collab., 2006). D'autre part, l'activation des neurones cholinergiques et des neurones glutamatergiques REM-On du noyau sublaterodorsal seraient à l'origine de l'activation corticale observée en EEG (Luppi et collab., 2006; Scammell et collab., 2017).

II.1.2.2.3 Le rôle du sommeil paradoxal

Le rôle fonctionnel du sommeil paradoxal est toujours très peu connu de nos jours. Pendant longtemps, le sommeil paradoxal était associé aux rêves chez l'homme. Toutefois il est maintenant reconnu que les rêves peuvent également apparaître lors du sommeil lent, et que les zones activées pendant le rêve sont les mêmes que celles qui apparaissent lors du sommeil lent ou du sommeil paradoxal (Siclari et collab., 2017).

Il est d'autant plus compliqué de connaître le rôle propre du sommeil paradoxal grâce à la privation spécifique de sommeil paradoxal car le plus souvent des changements dans la structure du sommeil lent sont induit. Toutefois, plusieurs études outrepassant ce problème, ont démontré l'importance du sommeil paradoxal dans la consolidation mnésique (Boyce et collab., 2016) et la régulation synaptique (Li et collab., 2017). Il a également été mis en évidence qu'une grande fragmentation du sommeil paradoxal pouvait être liée à l'émergence de syndrome post-

traumatique chez l'homme et à du *freezing* chez l'animal (Mellman et collab., 2002; Vanderheyden et collab., 2015).

Une autre piste émerge du fait que la proportion de sommeil paradoxal est plus grande chez les nouveau-nés que chez l'adulte, le sommeil paradoxal serait donc essentiel pour la maturation et le développement du cerveau (Marks et collab., 1995). Par exemple, les spasmes musculaires *twitches* observés pendant le sommeil paradoxal pourraient avoir un rôle dans le développement du système sensorimoteur. Chez les rats nouveau-nés, des mouvements spontanés des vibrisses ont également été observés pendant le sommeil paradoxal (Tiriac et collab., 2012). Ces mouvements qui surviennent alors qu'une atonie musculaire globale est mise en place pendant le sommeil paradoxal, pourrait contribuer à améliorer et/ou à affiner l'encodage du signal dans les réseaux neuronaux concernées.

II.1.3 Les états de transitions

En sus des états de vigilance que nous avons défini, il faut prendre en considération les périodes transitoires entre celles-ci. En effet, bien que les transitions entre les états de vigilance peuvent être rapides, comme lors des réveils, les transitions éveil - sommeil lent et sommeil lent - sommeil paradoxal sont quant à elles plus complexes à définir.

Bien que le sommeil lent soit fondamentalement différent de l'éveil, il est souvent difficile de définir une frontière claire entre l'éveil calme, l'endormissement et le sommeil lent. Chez l'homme, le début du sommeil lent n'est pas synchrone entre le thalamus et le cortex. Le thalamus se désactive souvent plusieurs minutes avant le cortex (de quelques secondes à 15 minutes selon les sujets) (Magnin et collab., 2010). Lors du réveil au contraire, qu'il ait lieu au stade N2 ou N3 du sommeil lent, l'activation corticale et l'activation thalamique sont synchronisées (Magnin et collab., 2010). Toutefois Takahashi et collab. (2010) a démontré que la transition entre l'éveil et le sommeil léger (ou endormissent, N1 chez l'homme) peut se produire en quelques secondes avec une diminution rapide du taux de décharge des neurones du télencéphale basal, du locus coeruleus et du noyau tubéromamillaire d'un côté, et de l'autre une augmentation rapide du taux de décharge des neurones de l'aire pré-optique.

La transition entre le sommeil lent et le sommeil paradoxal peut également être dans certains cas floue. Une période plus ou moins longue composée d'un mélange d'oscillations semblables aux fuseaux du sommeil et d'onde thêta peut être observée chez l'animal. Cette phase de transition a été nommée stade intermédiaire ou *intermediate stage*. Son apparition n'est pas systématique et peut être locale (Durán et collab., 2018).

Le concept de sommeil local est apparu au début des années 2010. L'enregistrement simultané de plusieurs aires cérébrales chez le rat pendant l'éveil a permis de démontrer que certaines régions sont capables d'émettre des ondes lentes locales, similaires à celles observées pendant le sommeil lent (Vyazovskiy et collab., 2011). Ces résultats ont également été retrouvés chez l'homme (Nir et collab., 2011). Le sommeil local pourrait être un moyen de compenser la privation de sommeil à moyen terme.

II.2 Rôles des interneurones au cours du cycle veille-sommeil

Le cycle veille-sommeil repose sur une multitude de changements physiologiques. L'activité cérébrale globale et locale s'en retrouve totalement remaniée. Mais comment la balance excitation-inhibition au sein du cortex est-elle maintenue pendant ces différents états de vigilance? Comment l'ensemble des sous-types d'interneurones inhibiteurs se comportent-ils? Cette section rassemble la plupart des travaux permettant de répondre au mieux à ces questions, avec un intérêt plus prononcé pour les interneurones. Néanmoins, étant donné que les cellules GABAergiques corticales sont présentes de façon éparse à travers les différentes couches corticales, il faut d'abord aborder les méthodes d'enregistrement actuelles permettant au mieux d'appréhender leur activité *in vivo*.

II.2.1 Les différentes méthodes d'enregistrements *in vivo* ciblés

La méthode d'enregistrement la plus classique pour enregistrer l'activité électrique d'un ou plusieurs neurones *in vivo*, consiste à insérer dans le cerveau une ou plusieurs électrodes (tétrodes, électrodes en tungstène, sondes-silicone). Ces techniques d'enregistrement ne permettent pas d'identifier de façon certaine la nature du neurone enregistré. Toutefois, la forme atypique des potentiels d'action des cellules PV *fast spiker* se distingue des autres neurones enregistrés et en particulier des cellules excitatrices, le plus souvent classées comme *regular spiker* (Barthó et collab., 2004). Différents calculs comme celui du ratio entre le pic et la durée du potentiel d'action ou encore celui de la demi-durée *half-width* du potentiel d'action, permettent de dissocier aisément ces deux familles de neurones. En revanche, contrairement aux cellules PV, la forme des potentiels d'action des neurones VIP et SST est plus proche de celle des cellules pyramidales. Ils peuvent par contre être identifiés *post moterm* grâce à un marquage par de la biocytine par exemple, effectué pendant des enregistrements en juxtacellulaire ou en cellule entière. Dans ce cas précis et après perfusion du cerveau de l'animal, la nature des neurones peut être révélée (Katz et collab., 2006). Néanmoins, sachant que les interneurones sont une famille hétérogène et peu répandue dans le néocortex, la probabilité de les enregistrer avec ce genre de technique reste

toutefois faible. La naissance de la microscopie bi-photonique a permis d'outrepasser ce problème (Tao et collab., 2015). Cette technique permet de visualiser dans les couches supra-granulaires du cortex les neurones corticaux marqués d'un fluorophore. L'utilisation de souris transgéniques tête-fixée -ou non, dans le cas de microscope bi-photonique portable- permet alors d'identifier une population spécifique de neurones dans le cortex. Associée à des techniques d'enregistrements classiques comme le *patch clamp* ou l'imagerie calcique, la microscopie bi-photonique permet d'enregistrer les interneurons de façon ciblée *in vivo* (Tao et collab., 2015).

En revanche, la microscopie bi-photonique de surface permet difficilement la visualisation de somas de neurones situés dans les couches corticales les plus profondes. Ce problème peut être toutefois outrepassé si seul quelques neurones des couches profondes expriment le fluorophore (Lavzin et collab., 2012). Aussi, si elle est associée à un endoscope ou un microprisme, la microscopie bi-photonique peut permettre l'observation de l'activité de neurones appartenant à des couches corticales profondes (Murayama et Larkum, 2009; Palmer et collab., 2012). La combinaison de l'optogénétique et du *patch clamp* est également une alternative. La channel-rhodopsine est exprimée dans les neurones d'intérêt et ces derniers deviennent sensibles aux stimulations LED. L'expérimentateur peut alors *patcher* les cellules qui augmentent de façon systématique leur taux de décharge lorsque la lumière LED est allumée. Cette technique est nommée *channelrhodopsin-assisted patching* (Muñoz et Rudy, 2014).

II.2.2 Les interneurons en éveil calme vs éveil actif

Comme vu dans la section II.1.1.1, l'éveil peut se subdiviser en deux sous états. Chez le rongeur, le mouvement des vibrisses est un bon indice pour distinguer l'éveil actif de l'éveil calme. Lorsque la souris ne bouge pas ces vibrisses, l'EEG ainsi que le LFP enregistrent des ondes lentes et synchrones dans le cerveau. Lors de l'éveil actif, lorsque la souris bouge activement ses vibrisses, une désynchronisation (ou activation) de l'activité cérébrale est observée (Crochet et Petersen, 2006; Poulet et Petersen, 2008). Plusieurs études réalisées dans les couches II/III du cortex somatosensoriel primaire des vibrisses ont révélé que l'activité sous-liminaire des neurones pyramidaux diffère également entre éveil calme et éveil actif. Par exemple, les potentiels de membrane des cellules pyramidales se corrèlent entre eux en éveil calme. Par contre lorsque la souris bouge ses vibrisses, les potentiels de membrane se désynchronisent et se dépolarisent légèrement ce qui conduit à une diminution de cette corrélation (Crochet et Petersen, 2006; Poulet et Petersen, 2008). En revanche, le mouvement des vibrisses n'induit pas de changements dans la fréquence de décharge des neurones pyramidaux (Poulet et Petersen, 2008). Par ailleurs dans la couche I, les mouvements des vibrisses sont associés à une augmentation de la fluorescence calcique locale observées dans certaines dendrites distales des neurones pyramidaux de la

couche II/III, suggérant une activité temporellement plus précise et dépendante de l'activation synchrone de neurones pré-synaptiques situés, par exemple, dans le cortex moteur (Gentet et collab., 2012).

A l'inverse des neurones pyramidaux, les neurones inhibiteurs modifient leurs taux de décharges en fonction de l'état d'éveil. Les neurones inhibiteurs *fast spikers* voient leur taux diminuer en éveil actif comparé à l'éveil calme alors que les neurones inhibiteurs *non fast spikers* augmentent leur activité neuronale. De plus, il existe une synchronie dans l'émission des potentiels d'action entre neurones inhibiteurs, mais également entre les neurones inhibiteurs et les neurones excitateurs. *A contrario*, aucune synchronisation des potentiels d'action n'est visible entre les neurones pyramidaux (Gentet et collab., 2010).

Bien que la plupart des neurones *fast spikers* et *non fast spikers* soient principalement des neurones PV et VIP respectivement, des investigations supplémentaires ont été effectuées pour confirmer la nature des interneurones. Différents travaux rapportent en effet une augmentation de l'activité des neurones VIP (Lee et collab., 2013; Yu et collab., 2019) et une diminution de l'activité des neurones PV (Pala et Petersen, 2018) en éveil actif en comparaison à l'éveil calme dans les couches II/III du cortex somatosensoriel.

Enfin le rôle singulier des neurones SST en éveil a été mis en évidence dans les couches II/III. D'une part, en éveil calme, le potentiel de membrane des cellules SST présente moins de fluctuations lentes que les autres neurones, et est anti-corrélé à celui des neurones pyramidaux (Gentet et collab., 2012). D'autre part, les neurones SST s'hyperpolarisent et leur fréquence de décharge diminue lors des mouvements de vibrisses observés en éveil actif (Gentet et collab., 2012; Lee et collab., 2013; Muñoz et collab., 2017; Pala et Petersen, 2018).

Dans les couches plus profondes du cortex, le comportement des neurones PV et SST peut toutefois changer. Dans les couches granulaires et infragranulaires, les neurones PV en moyenne augmentent leur taux de décharge en éveil actif, alors que leur activité diminue dans les couches supra-granulaires (Yu et collab., 2019). Les neurones SST quant à eux, ont un comportement variable dans les couches V et VI, et sont activés par le mouvement des vibrisses dans la couche IV (Muñoz et collab., 2017).

L'ensemble de ces études révèlent que selon la classe d'interneurones concerné et la couche corticale étudiée, les interneurones se comportent différemment. De plus, ces résultats *in vivo* mettent en évidence la modulation de l'activité des interneurones en fonction du niveau d'éveil et leur capacité à contrôler l'activité des neurones excitateurs.

II.2.3 Les interneurons en sommeil

L'apparition d'ondes lentes en éveil calme modifie donc l'activité des interneurons. Qu'en est-il des oscillations apparaissant pendant le sommeil? Pendant longtemps, les techniques électrophysiologiques ne permettaient pas de répondre à cette question, la plupart des études électrophysiologiques ayant été réalisées sur des tranches de cortex qui émettaient spontanément des oscillations lentes. Ces oscillations, quoique similaires à celles observées en sommeil lent, présentent des alternances de période d'activité neuronale, dites *Up states*, et des périodes d'inactivité, dites *Down states*. L'implication des interneurons dans la génération, la maintenance et la terminaison de ses oscillations a alors été étudiée *in vitro* dans un premier temps.

II.2.3.1 Études *in vitro*

Pour connaître un peu mieux le rôle de l'inhibition dans la génération de ces oscillations spontanées, un antagoniste d'un des récepteurs du neurotransmetteur GABA, la bicuculline, a été appliqué sur des tranches de cortex de chat. La durée des périodes d'activité neuronale est apparue alors trois fois plus courte en présence de bicuculline (Chen et collab., 2012). Dans les couches II/III du cortex somatosensoriel primaire des vibrisses de souris, il a été démontré que les interneurons PV présentent un taux de décharge élevé tout au long des *Up states*, contrairement aux neurones pyramidaux qui déchargent plutôt uniquement au début des *Up states* (Neske et collab., 2015). A l'instar des cellules excitatrices, les interneurons VIP, SST et NPY augmentent leur taux de décharge spécifiquement au début des *Up states*. La mesure des conductances a révélé que les neurones pyramidaux possèdent une majorité de conductance inhibitrice, principalement au début des *Up states*, contrairement aux neurones PV qui reçoivent une plus grande proportion de conductances excitatrices tout au long des *Up states*. La répartition des conductances excitatrices et inhibitrices est globalement la même dans la couche V du cortex somatosensoriel (Neske et collab., 2015) ainsi que dans le cortex entorhinal (Tahvildari et collab., 2012; Neske et collab., 2015).

Ces résultats suggèrent que l'inhibition jouent un rôle prépondérant dans la genèse et/ou le maintien de l'état actif et que l'ensemble des interneurons participent différemment à la régulation des *Up states*.

II.2.3.2 Études en anesthésie

Comme le sommeil lent, l'anesthésie induit chez un individu une perte de conscience, une diminution du tonus musculaire et une déactivation corticale. En ce sens, l'enregistrement de

l'activité neuronale chez un animal sous anesthésie est apparu pendant de nombreuses années comme un bon modèle pour estimer l'activité en sommeil lent.

Dans le cortex somatosensoriel primaire de rat, Taub et collab. (2013) ont rapporté que plus la profondeur de l'anesthésie est grande, plus les oscillations deviennent synchrones et plus l'amplitude et la largeur des PPSI augmentent. Aussi, ils ont révélé que la profondeur de l'anesthésie était liée à la diminution de la fréquence de décharge des cellules inhibitrices et excitatrices (Taub et collab., 2013). Chez le rat anesthésié, Sakata et Harris (2012) ont également observé une diminution du taux de décharge des neurones pyramidaux et des neurones *fast spiker* de la couche II/III lors d'une transition d'un état désynchronisé à un état synchronisé. Une augmentation du pattern de décharge en bouffée a également été observée pour ces deux familles de neurones, indépendamment de la profondeur d'enregistrement, lors de l'état désynchronisé en comparaison avec l'état synchronisé. Enfin Haider et collab. (2006), dans une étude chez des furets anesthésiés, ont démontré que les conductances excitatrices et inhibitrices sont équilibrées lors des *Up states* à l'échelle des neurones mais également à l'échelle du réseau. Ainsi les études conduites sous anesthésie tendent à décrire une activité similaire des neurones excitateurs et inhibiteurs, et que le taux de décharge de ces deux populations diminuerait avec l'apparition d'ondes lentes.

D'autre part, Zucca et collab. (2017) ont décrit que sous anesthésie, l'activité des neurones PV et SST corticaux contribuerait à la génération des *Up states* et des *Down states*. En 2019, la même équipe a démontré que c'est le thalamus qui serait responsable de l'activation des neurones PV corticaux lors des *Down states* (Zucca et collab., 2019). Enfin l'utilisation de souris génétiquement modifiées pour ne plus exprimer la glutamate décarboxylase 67, enzyme essentielle à la transmission GABAergique, dans les neurones SST ou PV, confirme *in vivo* que les neurones PV seraient impliqués grandement dans la persistance des oscillations lentes (Kuki et collab., 2015).

II.2.3.3 Études *in vivo* en sommeil naturel

Toutefois étudier le sommeil chez des individus anesthésiés présente des limites. Par exemple Steriade et collab. (2001) ont rapporté que la proportion d'interneurones *fast spiker* estimée dans les préparations *in vitro* et chez les animaux anesthésiés est bien plus faible que celle observée chez un animal vigile. Au contraire, la quantité de neurones ayant un pattern de décharge irrégulier et en bouffées avait été surestimée par les précédentes études. De la même façon, le taux de décharge des neurones excitateurs chez des rats anesthésiés est plus faible que celui des rats vigiles (majorité <1Hz sous anesthésie contre une majorité >1Hz éveillé) (Vijayan et collab., 2010). De plus, les études sous anesthésie ne permettent pas conclure sur l'activité en sommeil

paradoxal. Il apparaît donc essentiel d'étudier le sommeil, non pas sous anesthésie, mais lors d'épisodes de sommeil naturel.

Un certain nombre d'études se sont penchées sur l'activité neuronale corticale, à la fois des neurones excitateurs et des cellules GABAergiques inhibitrices. Steriade et collab. (2001) ont montré que, chez le chat naturellement endormi, le potentiel de membrane des neurones excitateurs putatifs était biphasique en sommeil lent et oscillait entre -80 et -55mV, alors qu'en sommeil paradoxal, il se trouvait en moyenne autour de -60mV avec peu de variations. Ces variations observées au niveau du potentiel de membrane en enregistrement intracellulaire étaient notamment très rapides lors des transitions de sommeil lent à sommeil paradoxal et de sommeil lent à éveil. Les auteurs de cette étude ont également observé, qu'en moyenne le taux de décharge des neurones excitateurs *regular spiker* augmentaient légèrement en sommeil lent et en sommeil paradoxal comparé à l'éveil. L'activité des interneurons *fast spiker* elle, diminuait en sommeil lent et croissait en sommeil paradoxal en comparaison à l'éveil (Steriade et collab., 2001). Ces travaux ont complété les résultats obtenus en 1973 dans le cortex moteur primaire de macaques qui démontraient que les neurones *fast spiker* diminuaient brutalement leur taux de décharge lors d'un réveil (Steriade et Deschênes, 1973).

En revanche, plusieurs études contemporaines à celles de Steriade ont montré à l'inverse, une diminution de l'activité des neurones excitateurs et inhibiteurs pendant le sommeil, et en particulier pendant le sommeil lent chez le rongeur (Vyazovskiy et collab., 2009; Vijayan et collab., 2010). Chez le chat également, dans le cortex pariétal, Rudolph et collab. (2007) ont retrouvé une activité des neurones *fast spiker* plus faible en sommeil lent qu'en éveil. Dans une étude en imagerie calcique chez la souris, la fluorescence globale, reflet de l'activité supraliminaire des neurones, apparaît diminuée en sommeil et plus particulièrement en sommeil paradoxal dans les couches superficielles et profondes du cortex moteur (Niethard et collab., 2016). De même, les neurones PV et les neurones SST identifiés par le marqueur td-Tomato apparaissent moins actifs en sommeil lent, à l'instar des neurones pyramidaux putatifs. Selon cette même étude, en sommeil paradoxal, les neurones SST et pyramidaux putatifs décroîsseraient d'avantage leurs activités alors que les neurones PV, retrouveraient une activité similaire à celle de l'éveil (Niethard et collab., 2016).

Dans les couches profondes du cortex préfrontal des rats, Watson et collab. (2016) ont divisé les neurones pyramidaux putatifs selon leurs fréquences de décharge enregistrées avec une sonde multi-sites en silicone et ont étudié leurs évolutions au cours des états de vigilances. Les neurones avec un fort taux de décharge en éveil diminuent leurs fréquences de décharge en sommeil lent. L'inverse se produit pour les cellules avec une fréquence de décharge faible en éveil. En revanche, lors du sommeil paradoxal, l'ensemble des neurones diminue leur fréquence de décharge, peu

importe leur niveau d'activité en éveil (Watson et collab., 2016). Rudolph et collab. (2007) en revanche ont constaté un tout autre phénomène dans chez le chat : le neurones *regular spiker*, actifs ou silencieux en éveil, ont tous un taux de décharge plus élevé en sommeil lent.

Enfin Dehghani et collab. (2016) ont démontré dans le néocortex de singes et d'hommes que l'activité des neurones *regular spiker* était le miroir de l'activité des neurones *fast spiker* peu importe l'état de vigilance. Une augmentation de l'activité des neurones excitateurs conduirait instantanément à l'augmentation du taux de décharge des neurones inhibiteurs. La balance excitation-inhibition serait donc dynamiquement maintenue tout au long du cycle veille sommeil.

L'ensemble de ces études ne permet pas d'aboutir à une conclusion générale sur l'activité des interneurones ni même des neurones pyramidaux pendant le cycle veille sommeil (Jones, 2016). Le modèle animal et la région corticale sélectionnée, ainsi que la technique d'enregistrement utilisée, sont d'autant de facteurs qui peuvent induire une telle diversité dans les résultats rapportés par différents groupes. Notamment, l'activité des cellules VIP, qui inclue une proportion importante des cellules GABAergiques corticales, n'a, à notre connaissance, encore jamais été étudiée pendant le sommeil. Une étude plus poussée et incluant plusieurs techniques d'enregistrement pourrait permettre de clarifier ces contradictions.

III Intégration sensorielle au cours des états de vigilance

Au cours du cycle veille sommeil, il est clair que le seuil de perception sensoriel évolue. En sommeil lent et sommeil paradoxal, un stimulus doit être délivré avec une plus forte intensité qu'en éveil pour induire une réponse de l'individu (Rechtschaffen et collab., 1966). Quels sont les mécanismes qui sous-tendent cette augmentation du seuil de perception? Comment un stimulus sensoriel est-il intégré au cours du cycle veille-sommeil et quel est le rôle des interneurones dans cette intégration? Le but de ce chapitre est de décrire les principales voies du système sensoriel et de mieux comprendre comment les acteurs de la balance excitation-inhibition du cortex modifient l'intégration sensorielle au cours du cycle veille-sommeil.

III.1 Voies anatomiques : du système sensoriel au cortex

L'ensemble des systèmes sensoriel, visuel, tactile, auditif, olfactif, gustatif possèdent leurs propres voies de transduction du signal. Cependant ils partagent tous la même organisation générale : le stimulus est capté par des récepteurs sensoriels qui transmettent, via un réseau de nerf, l'information au thalamus (à l'exception du système olfactif) puis à la région corticale concernée : cortex visuel primaire, cortex somatosensoriel primaire, etc. Après une première intégration du signal dans les aires sensorielles primaires, le signal est relayée aux régions sensorielles secondaires et autres régions corticales, comme les aires associatives par exemple. Il faut cependant noter que l'information sensorielle peut également être relayé directement à des aires associatives où l'information multisensorielle est intégrée. Cependant, nous nous pencherons ici exclusivement sur l'information sensorielle émanant d'une seule modalité : les vibrisses de la souris. Comme vu précédemment, le cortex somatosensoriel primaire des vibrisses est en effet un modèle de choix pour étudier les réseaux et les différents acteurs de la balance excitation-inhibition.

III.1.1 De la vibrisse au tronc cérébral

Lorsqu'une vibrisse fait contact avec un objet, les mécano-récepteurs compris dans le follicule de la vibrisse sont comprimés. Un signal électrique est alors induit dans les cellules du ganglion du nerf trijumeau qui innervent le complexe trigéminal du tronc cérébral. Le complexe trigéminal

se divise en deux noyaux principaux : le noyau rostral principal (PrV) et le noyau spinal caudal (SpV), qui lui-même contient le noyau oralis (SpVo), l'interpolaire (SpVi), et le caudalis (SpVc).

Les deux noyaux PrV et SpVi caudal présentent, comme le cortex somatosensoriel primaire des vibrisses, une somatotopie spécifique à la position des vibrisses, appelée *barelettes*, dérivée du nom *barrel* attribué au cortex. Les neurones du PrV et du SpVi déchargent lorsque la souris bouge ses vibrisses, et sont capables d'encoder une phase particulière de l'angle de la vibrisse (Moore et collab., 2015). Seul les neurones du PrV et du SpVi se projettent par la suite sur les noyaux thalamiques.

III.1.2 Du tronc cérébral aux noyaux thalamiques

Les neurones du PrV du tronc cérébral innervent le noyau thalamique ventro-postérieur médian (VPM) alors que les neurones du SpVi rostral innervent le noyau thalamique postéro-médial (POm) et la zona incerta. Ces deux voies principales (PrV->VPM et SpVi->POm) composent alors le début des voies lemniscales et paralemniscales (Figure III.1). Il existe aussi une troisième voie moins étudiée, la voie extralemniscale qui part du SpVi caudal et rejoint le VPM.

Contrairement au noyau POm, le noyaux VPM est arrangé en unités fonctionnelles liées à l'activité d'une seule vibrisse appelées *barreloïdes*, à l'instar du PrV. La stimulation d'une vibrisse spécifique entraîne une augmentation du taux de décharge dans le *barreloïde* associé à cette vibrisse. Les neurones de la voie lemniscale déchargent de façon robuste et rapidement (4-6ms) lors de la stimulation d'une ou plusieurs vibrisses (Diamond et collab., 1992). De la même façon, lorsque la souris bouge naturellement ses vibrisses, le potentiel de membrane des neurones VPM augmente et est modulé par la phase de l'angle de la vibrisse (Urbain et collab., 2015).

A l'inverse, les neurones de la voie paralemniscale répondent de façon non spécifique à la stimulation d'une vibrisse et avec une latence plus élevée (12-22ms) (Diamond et collab., 1992). En éveil actif, les neurones POm augmentent leur potentiel de membrane mais de façon moins marquée que les neurones VPM et ne sont pas modulés par la phase (Urbain et collab., 2015). Cette différence de réponse observée entre le VPM et le POm pourrait être due à l'inhibition exercée par la zona incerta sur le POm. En effet, la zona incerta est principalement composée de neurones GABAergiques et cible préférentiellement le POm. L'inactivation de la zona incerta induit une plus forte réponse du POm lorsqu'une vibrisse est stimulée (Lavallée et collab., 2005).

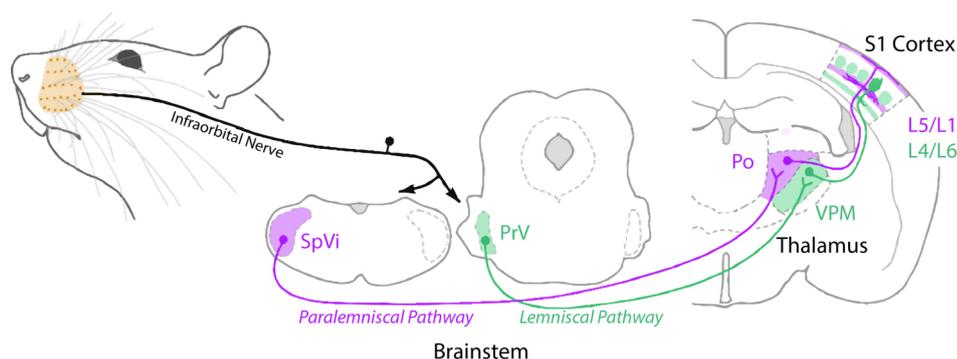


FIGURE III.1: Représentation de la voie paralemniscale et lemniscale chez la souris. *SpVi* : noyau intermédiaire; *PrV* : noyau rostral principal; *VPM* : noyau thalamique ventro-postérieur médian; *Po* : noyau thalamique postéro-médial; *S1* : cortex somatosensoriel primaire. Modifié de Frangeul et collab. (2014).

III.1.3 Du thalamus au cortex

La voie lemniscale rejoint ensuite essentiellement la couche IV du cortex somatosensoriel primaire des vibrisses ou *barrel cortex* via les projections thalamo-corticales des neurones du VPM. La majeure partie des projections du VPM affèrent dans la colonne corticale associée à la vibrisse stimulée. Il existe aussi dans une moindre mesure des fibres du VPM innervant la couche VI de la colonne corticale ou bien la couche IV des colonnes avoisinantes celle de la vibrisse stimulée. La stimulation optogénétique de VPM induit une forte réponse des neurones excitateurs et des neurones PV de la couche IV (Gabernet et collab., 2005), une absence de réponse des cellules SST et une faible réponse des neurones VIP de toutes les couches corticales (S. Sermet et collab., 2019).

Les neurones efférents du POM, voie paralemniscale, projettent entre les colonnes corticales du cortex somatosensoriel primaire, dans les *septa* au niveau des couches I et V de *S1v* (Mease et collab., 2016). Si une stimulation optogénétique du POM est effectuée *in vitro*, les principaux neurones répondant sont soit excitateurs soit des neurones PV et se situent dans la couche V. Comme lors d'une stimulation du VPM, les neurones SST ne répondent pas de manière supraliminaire, et les neurones VIP répondent de façon modérée (S. Sermet et collab., 2019). *In vivo* chez la souris anesthésiée, l'activation optogénétique des neurones du POM potentialise la réponse supraliminaire et infraliminaire des neurones de *S1v* lors de la stimulation d'un vibrisse (Mease et collab., 2016).

III.1.4 Efférences cortico-thalamiques & cortico-corticales

Après que l'information sensorielle ait rejoint la couche IV du cortex, l'information est intégrée principalement dans les couches II/III puis relayée aux couches V et VI (Figure I.4). Grâce, entre autres, aux neurones de la couche V qui projettent fortement dans d'autres régions corticales, le cortex somatosensoriel primaire des vibrisses est intimement lié au cortex moteur primaire des vibrisses (M1v) avec lequel il forme des connexions fortes et réciproques. L'activation de M1v induit une forte réponse des neurones VIP de la couche I et II/III de S1v, et une faible réponse des autres classes de neurones (Lee et collab., 2013). En parallèle, les neurones cortico-thalamiques de la couche VI innervent le thalamus en retour. Cette boucle thalamo-cortico-thalamique permet de synchroniser l'activité de toutes les structures et de moduler l'information circulante en leur sein.

III.2 Intégration sensorielle en éveil

En éveil, le seuil de perception des stimuli est relativement faible afin d'augmenter notre capacité à capter l'information environnante. Ce seuil peut cependant être modulé par l'attention. L'intégration de cette information au niveau du cortex somatosensoriel peut s'étudier sous deux angles différents : soit en étudiant la réponse au niveau de ce cortex lorsqu'une tierce personne induit une stimulation sur le sujet, soit lorsque le sujet touche volontairement et activement un objet. Les vibrisses de la souris présentent l'avantage de pouvoir être défléchies passivement par un stimulus externe ou activement, lorsque l'animal bouge volontairement ses vibrisses lors d'une phase exploratoire de son environnement et que celles-ci touchent un objet.

III.2.1 Stimulations passives

Les vibrisses de la souris, de par leur faible taille et leur flexibilité, peuvent être aisément défléchies par un stimulus externe. La déflexion est alors dite passive. Selon la méthode de stimulation externe choisie, il est possible de stimuler l'ensemble des vibrisses encore présentes sur le tapis mystacial, à l'aide d'un puff d'air par exemple (Urbain et collab., 2015), voire même de stimuler chaque vibrisse de manière temporellement contrôlée afin de simuler le contact de celle-ci avec une surface (Estebanez et collab., 2018). Cependant, la plupart des études se contentent de stimuler une seule vibrisse et d'observer la réponse corticale au niveau de sa colonne corticale associée. Les autres vibrisses sont alors coupées, afin de pouvoir mieux contrôler la déflexion de la vibrisse d'intérêt, à l'aide par exemple d'un élément piezo-actif et de pouvoir mieux reconstituer son mouvement filmé à l'aide d'une caméra à haute fréquence

d'acquisition (Gentet et collab., 2012). Une troisième solution est l'utilisation d'un morceau de métal très léger ou de peinture métallique apposé(e) à la (aux) vibrisses, doublée de l'activation d'un aimant qui induit alors une faible déflexion de cette (ces) vibrisse(s) (Férezou et collab., 2007). Nous nous pencherons dans cette section essentiellement sur les études publiées portant sur la déflexion d'une seule vibrisse. Dans la plupart des cas, la vibrisse choisie est la vibrisse C2, qui est positionnée au centre du tapis mystacial et qui est alors appelée « vibrisse principale », par opposition aux vibrisses adjacentes.

Comme vu précédemment, l'éveil ne constitue pas un état de vigilance homogène et l'on peut distinguer l'éveil actif, avec une activation corticale, de l'éveil calme. Chez la souris, ces deux états peuvent être définis plus simplement sur la base de la présence ou de l'absence de mouvements de vibrisses. Bien qu'un troisième état d'éveil actif non accompagné de mouvements de vibrisses ait été décrit et soit de plus en plus accepté dans la littérature (Urbain et collab., 2015), nous nous sommes restreints dans cette thèse aux deux états plus généraux définis sur le critère de la présence de mouvements de vibrisses.

III.2.1.1 Stimulations en éveil calme

Une étude en imagerie calcique chez le rat, a pu démontrer que les neurones pyramidaux des couches II/III ont une probabilité plus élevée de répondre à une stimulation passive de la vibrisse avec un piézoélectrique lorsque ces neurones se situent au centre de la colonne corticale. En comparaison, les neurones se situant entre les colonnes, dans les *septa*, répondent moins en moyenne (Kerr et collab., 2007).

Dans la couche II/III, la grande majorité des neurones pyramidaux répondent préférentiellement à la déflexion passive d'une vibrisse controlatérale dans leur colonne corticale (>50%). Environ 30% des neurones ne répondent pas à cette déflexion, 20% répondent à une stimulation de la vibrisse controlatérale et ipsilatérale, et 10% uniquement à stimulation de la vibrisse ipsilatérale (Cohen et collab., 2013). De plus il a été démontré que la réponse d'une cellule pyramidale des couches II/III à une stimulation ne changeait pas au cours du temps. Si un neurone décharge préférentiellement à une déflexion d'une vibrisse controlatérale, ce même neurone gardera ce profil de réponse 15 jours pas au cours du temps sur une longue échelle. En effet, si la vibrisse controlatérale est coupée et qu'un neurone qui ne répondait à aucune stimulation, est enregistré 15 jours après, le profil de réponse change pour devenir plus sensible à la déflexion de la vibrisse ipsilatérale (Cohen et collab., 2013).

Dans le cas d'une stimulation répétitive (18 Hz) de la vibrisse principale, un processus d'adaptation se met en place, et la réponse diminue progressivement au cours du temps. Par contre,

cette adaptation synaptique est propre à la vibrisse stimulée : si une vibrisse adjacente est ensuite stimulée, le neurone qui présentait une adaptation pour la vibrisse principale, répondra normalement à la stimulation de la vibrisse adjacente. Sachant qu'aucune adaptation n'est visible dans les neurones du noyau VPM, cette adaptation serait un phénomène propre à la synapse cortico-thalamique (Katz et collab., 2006). Ce processus d'adaptation nécessite une fréquence de stimulation relativement élevée et est absente lorsque la fréquence de stimulation n'est que de 1 Hz (Gentet et collab., 2012).

Chez le rat anesthésié, les interneurons putatifs présentent une meilleure redondance dans leur réponse à une déflexion passive de la vibrisse que les neurones excitateurs, pour des stimulations de hautes ou de basses fréquences. De plus, les interneurons répondent moins facilement à la stimulation d'une vibrisse adjacente que les neurones excitateurs (Reyes-Puerta et collab., 2015). Dans une seconde étude, les interneurons ont été divisés selon différentes classes : les neurones *fast spiker*, *non fast spiker*, ou bien neurones SST. La déflexion passive d'une vibrisse induit alors chez les neurones SST une hyperpolarisation, alors que les autres classes d'interneurones et les neurones excitateurs voient leur potentiel de membrane se dépolariser. L'injection de courant négatif dans les neurones SST, peut toutefois modifier leur réponse. Si le potentiel de membrane est inférieur à -68mV en moyenne, le potentiel de membrane sera dépolarisé par la déflexion de la vibrisse (Gentet et collab., 2012). Enfin, la stimulation optogénétique des neurones *fast spiker* lors d'une déflexion de la vibrisse diminue de façon drastique la réponse des cellules excitatrices putatives voisines (Cardin et collab., 2008).

III.2.1.2 Stimulations en éveil actif

Une déflexion passive de vibrisse peut également être provoquée lorsque le rongeur bouge activement ses vibrisses. Une telle stimulation peut d'ailleurs être considérée comme étant plus physiologique, dans le sens où l'animal libre de ses mouvements bouge activement ses vibrisses lorsqu'il explore son environnement. Une première étude chez la souris tête-fixe, en cellule entière, a démontré que la réponse évoquée des cellules excitatrices des couches II/III et IV était de plus faible amplitude et plus variable lorsque le stimulus était délivré en éveil actif (Crochet et collab., 2006). Une seconde étude chez la souris libre de ses mouvements, confirme avec la technique du *voltage sensitive dye*, que les neurones répondent plus à une stimulation en éveil calme qu'en éveil actif. En revanche, lorsque la souris bouge ses vibrisses pour contacter volontairement un objet, la réponse évoquée est sensiblement la même que celle observée lors d'une stimulation passive en éveil calme (Férezou et collab., 2006, 2007). Ces résultats suggèrent qu'il existe une régulation descendante ou *top-down* de l'intégration sensorielle qui amplifie la réponse évoquée quand la souris touche volontairement un objet.

III.2.2 Contact actif

Lorsque le mouvement volontaire des vibrisses d'une souris engendre un contact entre celles-ci et un objet placé dans le champ de leurs protractions/rétractions, il s'agit d'un contact dit actif. Lors de ces contacts actifs, les neurones excitateurs répondent par une dépolarisation de leur potentiel de membrane (Crochet et collab., 2011). Cette dépolarisation est possible si le neurone est hyperpolarisé au moment du contact, et cette hyperpolarisation pourrait être induite par les interneurones GABAergiques. En effet, ces derniers répondent de façon plus rapide et plus forte au contact que les neurones excitateurs (Crochet et collab., 2011). En 2019, Yu et collab. ont différencié la réponse des différents sous-types d'interneurones lors de contacts dans une tâche de Go/No Go¹ dans l'ensemble des couches du cortex. Les résultats démontrent que la réponse supraliminaire des neurones PV est plus forte que celle des cellules excitatrices, et que la latence est également plus faible en moyenne. Toutefois, la dépolarisation induite dans le potentiel de membrane de PV est équivalente à celui des neurones excitateurs lors du contact. Les neurones VIP quant à eux ne répondent pas au contact de la vibrisse sur la barre. Enfin, en moyenne, les neurones SST répondent de façon supraliminaire avec la même intensité et la même latence que les neurones excitateurs lors du contact. Par ailleurs, les enregistrements en cellule entière révèlent que les neurones SST ne répondraient pas tous de la même façon et peuvent s'hyperpolariser ou se dépolariser dans les couches IV et V/VI (Yu et collab., 2019). Ces résultats diffèrent de ceux d'une autre étude démontrent que les neurones SST des couches II/III s'hyperpolarisent en moyenne lors d'un contact actif (Gentet et collab., 2012).

III.3 Intégration sensorielle pendant le sommeil

L'intégration sensorielle peut être alors différente en éveil selon la façon dont le stimulus est délivré mais aussi selon l'état cortical. Il semblerait donc que l'état de vigilance pourrait influencer la réponse corticale à une stimulation. Qu'en est-il de la réponse lorsque la stimulation sensorielle a lieu pendant le sommeil ?

III.3.1 Sous anesthésie

Dans le cortex à tonneaux des souris, la réponse évoquée en éveil diffère de celle évoquée sous anesthésie. En *voltage sensitive dye* dans les couches supra-granulaires, la réponse évoquée sous isoflurane ou uréthane par une déflexion passive de la vibrisse, est plus courte et moins intense

1. Tâche comportementale contenant deux types de stimuli, l'un doit être associé à une réponse motrice (Go) et l'autre à l'inhibition de cette réponse motrice (No Go).

que celle induite lors de l'éveil (Férézou et collab., 2006, 2007). Une autre étude s'intéresse alors à la réponse du cortex lors d'une déflexion de vibrisse qui a lieu dans le *Up state* ou dans le *Down state* des oscillations lentes observées en LFP sous kétamine/xylazine. Lorsque la stimulation est appliquée en milieu ou en fin du *Down states*, la durée du *Down state* est réduite et un état *Up* est déclenché. En enregistrement multi-unitaire et en *voltage sensitive dye*, lorsque la déflexion de la vibrisse dans le *Down state* déclenche un état de *Up*, la réponse évoquée est plus grande et plus longue que si la déflexion a lieu pendant un *Up state*. Enfin le nombre de colonne corticale impliqué dans la réponse évoquée est également plus important si la déflexion se produit lors de l'état *Down* (Civillico et Contreras, 2012). Ces études démontrent donc que selon l'état global du réseau, l'intégration sensorielle est différente. Toutefois selon Férézou et collab. la réponse évoquée en éveil est plus forte que sous anesthésie alors que pour Civillico et Contreras la réponse lors de l'état *Up*, analogue à l'état d'éveil selon lui, est plus faible que celle évoquée dans l'état *Down*. Il semble donc nécessaire d'étudier la réponse corticale en sommeil naturel pour mieux comprendre les réseaux qui sous-tendent cette différence d'intégration.

III.3.2 En sommeil lent

Des études sur l'intégration sensorielle en sommeil naturel ont notamment été réalisées dans le cortex auditif chez l'animal. Une première étude en 1959 démontre que chez le chat, la réponse évoquée par un son dans le cortex auditif et la formation réticulée est similaire ou plus forte en sommeil lent qu'en éveil et en sommeil paradoxal (Hutrenlocher, 1959). Le potentiel évoqué est également de plus grande amplitude en sommeil lent dans le cortex auditif qu'en éveil et en sommeil paradoxal chez le rat (Van Luijtelaaar et collab., 1998; Rector et collab., 2009; Nir et collab., 2015). En revanche, en enregistrement multi-unitaire, Nir et collab. démontrent que l'augmentation du taux de décharge des neurones du cortex auditif liée à la stimulation est indépendante de l'état de vigilance (Nir et collab., 2015). Cette différence de réponse en LFP et en enregistrement multi-unitaire pourrait s'expliquer dans un premier temps par le fait que le potentiel évoqué en LFP est le reflet des entrées synaptiques contrairement aux enregistrements multi-unitaires qui informent sur le nombre de potentiels d'actions émis par une population de neurones. Enfin lors des enregistrements multi-unitaires, les neurones les plus actifs, avec un taux de décharge important, sont plus facilement enregistrés que les neurones plus silencieux aux fréquences de décharge faibles. Chez l'homme plusieurs études ont également démontré qu'en EEG, l'activité évoquée est en moyenne plus ample en sommeil lent qu'en sommeil paradoxal et qu'en éveil (Bastuji et García-Larrea, 1999).

III.3.3 Lors des fuseaux du sommeil

En parallèle, plusieurs études ont étudié la réponse évoquée par une stimulation sensorielle lorsque celle-ci est évoquée en présence ou non de fuseaux du sommeil pendant le sommeil lent. Dans le cortex auditif humain, la réponse évoquée est alors plus faible voire absente (Schabus et collab., 2012). De même, les individus qui présentent dans leur nuit, plus de fuseaux du sommeil, sont plus difficilement réveillés par du bruit (Dang-Vu et collab., 2010). Enfin des souris génétiquement modifiées présentant un nombre plus important de fuseaux du sommeil pendant leur sommeil lent présentent un sommeil plus profond et un seuil de réveil à un stimulus plus haut que les souris contrôles (Wimmer et collab., 2012). Le thalamus serait à l'origine de l'altération de la transmission de l'influx sensoriel au cortex lors des fuseaux du sommeil. En effet, comme vu dans le chapitre III (voire page 42), les neurones thalamiques adoptent un pattern de décharge en bouffées qui empêcherait une transmission efficace du signal aux neurones corticaux (McCormick et Bal, 1994). Toutefois de récentes études tendent à démontrer que les fuseaux du sommeil en eux-mêmes n'auraient pas d'influences sur la réponse sensorielle (Sela et collab., 2016; Claude et collab., 2015).

Etude I

Etude I

Objectifs et présentation de l'étude

Le premier objectif de ma thèse a été de caractériser précisément l'activité de l'ensemble des acteurs de la balance excitation-inhibition pendant le sommeil. Pour se faire, nous avons utilisé la microscopie bi-photonique associée à différentes techniques électrophysiologiques (imagerie calcique, enregistrement unitaire en cellule attachée ou en cellule entière) sur des souris transgéniques habituées à dormir naturellement tête restreinte. Nous avons choisi de réaliser l'ensemble de nos enregistrements dans le cortex somatosensoriel primaire, cortex particulièrement bien décrit chez la souris tant d'un point de vu structurel que d'un point de vue fonctionnel. Alors que les résultats suggèrent qu'en moyenne les cellules excitatrices ne modifient pas leurs taux de décharge pendant le cycle veille-sommeil, nous avons démontré une activation différentielle des trois sous-types d'interneurons au cours des différents stades de vigilances. En particulier, une augmentation de l'activité des neurones PV en sommeil lent et en sommeil paradoxal comparé à l'éveil a pu être mis en évidence. Les SST quant à elles, présentent une plus forte activité de type phasique en sommeil lent alors que les neurones VIP augmentent leurs taux de décharge spécifiquement en sommeil paradoxal. En outre, nous avons confirmé les résultats présents dans la littérature : lorsque la souris bouge ses vibrisses pendant l'exploration en éveil, nous observons une augmentation du taux de décharge des cellules VIP et une diminution de l'activité des neurones SST. De façon intéressante, nous avons mis en évidence qu'une activité spontanée des vibrisses pouvait apparaître également pendant le sommeil paradoxal. Cette activité, comparable au *rapid-eye-movement* identifié chez l'homme, induit également dans le cortex une augmentation du taux de décharge des neurones VIP.

Dans un second temps, nous avons étudié l'activité de ces neurones en fonction de différentes oscillations observées pendant le sommeil grâce à des enregistrements de potentiel de champ locaux. Les fuseaux du sommeil (10-17Hz) sont notamment impliqués dans la consolidation de la mémoire et l'intégration sensorielle. Il a notamment été démontré que pendant ces fuseaux du sommeil, le seuil de réveil est plus élevé. Pourtant l'implication des interneurons corticaux dans ces processus reste peu étudiée. Les résultats démontrent que les neurones PV, comme les neurones excitateurs, augmentent spécifiquement leurs taux de décharge lors des fuseaux du sommeil, alors que l'activité des neurones SST diminue. Les neurones VIP quant à eux ne modifient pas leurs fréquences de décharge moyenne lors des fuseaux du sommeil. Toutefois,

nous avons démontré que lorsque les fuseaux du sommeil sont précédés d'une oscillation lente de type delta, l'activité des neurones VIP devient plus élevée pendant les fuseaux du sommeil. De même, les neurones excitateurs ainsi que les PV accroissent d'avantages leur taux de décharge. Cette oscillation lente précédant les fuseaux du sommeil pourrait donc potentialiser les processus mnésiques et sensoriels mis en jeu.

En résumé, les résultats suggèrent qu'en sommeil lent, la communication corticocorticale serait diminuée par l'augmentation de la décharge des neurones SST excepté lors de l'apparition des fuseaux du sommeil. A l'inverse, en sommeil paradoxal, l'activation des neurones VIP permettrait une communication inter-cortex accrue, potentiellement propice à la génération de rêves. L'intégration des afférences sensorielles quant à elle, pourrait être diminuée dû à l'inhibition des neurones PV.

Contribution personnelle

L'ensemble des expérimentations lié à cette étude ont été réalisées entre janvier 2016 et février 2020, par mes soins. Les premiers résultats en imagerie calcique ont été acquis dans le cadre de mon stage de Master 2 Recherche en Neurosciences à l'Université Claude Bernard Lyon 1. Les données ont ensuite été complété en début de thèse. Les enregistrements en *patch clamp* et LFP sous microscopie biphotonique, ont été réalisés dès la fin de la première année de thèse. Mélodie Borel et Luc Gentet m'ont formé aux deux techniques d'enregistrements ainsi qu'aux chirurgies. Mélodie Borel a également participé à l'écriture des scripts d'analyses d'imagerie calcique. Enfin, j'ai réalisé l'intégralité du scoring du sommeil ainsi que la majorité des scripts d'analyses liés à l'analyse des données de *patch clamp* et de LFP.

Vigilance and behavioral state-dependent modulation of cortical neuronal activity throughout the sleep/wake cycle

Aurélie Brécier, Mélodie Borel, Luc J. Gentet

Integrated Physiology of Brain Arousal Systems, Lyon Neuroscience Research Center,
INSERM U1028-CNRS UMR5292, Université Claude-Bernard Lyon 1, 69372 Lyon, France.

Running title: Interneuronal activity during the sleep-wake cycle

Author contribution: L.G. designed research; A.B performed research; A.B analyzed data; M.B. and L.G helped in data analysis; A.B. and L.G. wrote the manuscript.

Acknowledgements: We would like to thank J.C. Comte for technical assistance. This work was funded by a doctoral studentship from the French Ministry of Education (A.B.), ANR PARADOX (ANR-17-CE16-0024) (A.B. and L.G.), and FLAG-ERA JTC 2015 project CANON (co-financed by ANR) (M.B. and L.G.).

Correspondence should be addressed to:

Luc Gentet, Lyon Neuroscience Research Center, Neurocampus

Ch Le Vinatier Batiment 462

95, Boulevard Pinel

69675 BRON

France

E-mail: luc.gentet@inserm.fr

ABSTRACT

GABAergic inhibitory neurons, through their molecular, anatomic and physiological diversity, provide a substrate for the modulation of ongoing cortical circuit activity throughout the sleep-wake cycle. Here, we investigated neuronal activity dynamics of parvalbumin (PV), vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and somatostatin (SST) neurons in naturally-sleeping head-restrained mice at the level of layer 2/3 of the primary somatosensory barrel cortex of mice. Through calcium-imaging and targeted single-unit loose-patch or whole-cell recordings, we found that PV neurons were activated during both NREM (non rapid-eye movement) and REM sleep stages, that VIP AP firing activity was largest during REM sleep and that the overall activity of SST neurons remained stable throughout the sleep/wake cycle. Analysis of neuronal activity dynamics uncovered rapid decreases in PV cell firing at wake onset followed by a progressive recovery during wake. Simultaneous local field potential (LFP) recordings further revealed that, except for SST neurons, a large proportion of neurons were modulated by ongoing delta and theta waves. During NREM sleep spindles, PV and SST activity increased and decreased, respectively. Finally, we uncovered the presence of whisking behavior in mice during REM sleep and show that the activity of VIP and SST is differentially modulated during awake and sleeping whisking bouts, which may provide a neuronal substrate for internal brain representations occurring during sleep.

INTRODUCTION

The sleep-wake cycle is characterized by specific patterns of cortical activity: high amplitude, low frequency EEG activity in non rapid-eye movement (NREM) sleep and high frequency and low amplitude activity during both wake and rapid-eye movement (REM) sleep. Several hypotheses have emerged as to the function of sleep, with recent evidence pointing to its role in memory consolidation (Born et al., 2006; Girardeau et al., 2009; Vaz et al., 2020) or synaptic homeostasis, a process by which overall neuronal excitability is reduced during sleep (Tononi and Cirelli, 2009; Cirelli, 2017). Delta (1-4 Hz) and spindles (10-17 Hz) oscillations are well known hallmarks of NREM sleep supporting memory formation and consolidation (Steriade and Timofeev, 2003; Maingret et al., 2016; Ulrich, 2016; Latchoumane et al., 2017), whereas theta activity (5-9 Hz) is a marker of exploratory behavior and of REM sleep in rodents (Buzsaki, 2002; Montgomery et al., 2008; Girardeau et al., 2009). It is clear that the internal brain state, and the way sensory cortex processes information are dramatically altered during these vastly different vigilance states, but the underlying circuit mechanisms remain poorly understood.

Cortical networks are composed of both excitatory projection neurons and local inhibitory interneurons, which represent a sparse yet diverse family of GABAergic neurons with different morphologies and electrophysiological properties (Markram et al., 2004; Tremblay et al., 2016), and associated with distinct functional roles in local cortical circuits (Atallah et al., 2012; Gentet et al., 2012; Lee et al., 2013). Despite this diversity, three main subtypes of interneurons have been identified in the past decade: parvalbumin (PV)-containing neurons, vasoactive intestinal peptide (VIP)- and somatostatin (SST)-expressing cells. While there is accumulating evidence that pyramidal cells firing rate evolves over the time course of the sleep/wake cycle (Hobson and McCarley, 1971; Steriade et al., 2001; Watson et al., 2016; Miyawaki et al., 2019), changes in the activity of these three subtypes of interneurons is still poorly understood.

Recent studies have nevertheless revealed brain state-dependent modulation of neocortical interneuron firing activity in different brain regions, notably in the primary somatosensory barrel cortex (S1) during active whisking (Gentet et al., 2010, 2012; Lee et al., 2013; Muñoz et al., 2017). In the motor cortex, additional evidence points toward a vigilance state-dependent of modulation of PV neurons throughout the sleep/wake cycle (Niethard et al., 2016), while SST neurons in the frontal cortex have been shown to be strongly phase-locked to local slow waves sleep oscillations (Funk et al., 2017). In addition, multi-unit recordings, revealed changes in the firing rates of fast-spiking, putative PV cells during NREM and REM sleep in rodents

(Vyazovskiy et al., 2009; Vijayan et al., 2010; Watson et al., 2016; Miyawaki et al., 2019) and humans (Peyrache et al., 2011). Finally, a recent study highlighted that acetylcholine and serotonin could both directly modify firing patterns of S1 VIP neurons (Prönneke et al., 2020).

Here, we characterized the activity of the three main subtypes of GABAergic neurons involved in regulating the local excitatory-inhibitory balance in layer 2/3 of S1 in naturally-sleeping, head-restrained mice, using transgenic mouse lines where a red fluorophore could be expressed in genetically-identified subpopulations of GABAergic neurons (Taniguchi et al., 2011). This allowed us to record local cortical neuronal activity across the sleep/wake cycle, either by using calcium imaging, or by targeting PV, VIP and SST neurons under two-photon microscopy visual guidance (Margrie et al., 2003). Both techniques uncovered cell type- and vigilance state-specific differences in neuronal activity, and their results were in remarkable agreement, showing in both cases increased PV cell activity during NREM and REM sleep, increased VIP cell activity specifically during REM sleep, but an overall stable activity of SST neurons throughout the sleep/wake cycle. Further state-, whisking- and oscillation-dependent shifts in firing patterns and AP firing frequencies revealed the important regulatory role played by GABAergic cells throughout the various stages of the sleep/wake cycle.

MATERIALS AND METHODS

Transgenic Mice

Heterozygous male offsprings of GAD2-ires-Cre driver mice (010802, Jackson) crossed with Ai32 (RCLChR2 (H134R)/EYFP) reporter mice (012569, Jackson) were chosen for our experiments.

All animal experiments were conducted after approval by the local ethical committee of the University of Lyon and the Ministry of Science (Protocol number: Apafis #4613) in accordance with the European directive 86/609/EEC on the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. All animals used in this study were maintained on a C57Bl6 genetic background and group-housed in the vivarium under normal light cycle conditions.

We used heterozygous 6 – 12 weeks old male and female offsprings of either, PV-ires-Cre mice (008069, Jackson), VIP-ires-Cre (010908, Jackson) or SST-ires-Cre (013044, Jackson) driver mice crossed with Ai9 loxP-tdTomato reporter mice (007909, Jackson). 15 and 60 mice were used in total for the calcium-imaging and patch-clamp studies, respectively. Experiments were performed during the light period of the 12hr : 12hr light-dark cycle. All surgical procedures were performed under isoflurane anesthesia (4 % induction, 1.5-2 % maintenance). A s.c. injection of carprofen (20 mg / kg) and dexamethasone (0.08 mg) was administered prior to surgery to reduce pain and swelling.

First, animals were implanted with a light-weight head-bar allowing head-restraint under two-photon microscopy. The recording chamber was positioned above S1 barrel cortex (-2 mm posterior to bregma and -3.5 mm lateral to midline). Stainless-steel screws and wires were inserted respectively over the contralateral skull (Frontal electrode: +2 mm anterior to bregma, +2 mm lateral; parietal electrode: at -2 mm posterior to bregma, +2 mm lateral) and into the neck muscles for monitoring of EEG and EMG. The skull positions for the EEG screws were chosen to facilitate NREM sleep detection (Fang et al.,2009). After recovery from surgery, mice were habituated to the head-restraint for 3 weeks (daily sessions of increasing durations) until regular bouts of NREM and REM sleeps were detected.

Three days after implantation for the calcium imaging study and on the first day of recordings for the patch clamp study, mice were anesthetized with ~1.5 % isoflurane and the C2 barrel column of the primary somatosensory cortex (S1) was located on the skull using intrinsic optical imaging (Q-Imaging). In short, all whiskers contralateral to the metal head holder chamber were removed except C2. The skull thickness under the chamber was softly reduced with a dental

drill and a drop of ASCF was placed inside the chamber. The C2 whisker was deflected at 8 Hz, with an amplitude of 5° for 5 seconds. Successive trials of stimulation were succeeding by trials with no stimulation. Images were processed and analyzed using V++ Software (DigitalOptics, Auckland, New Zealand). The evoked hemodynamic signal was imaged under red LED (610 nm) by subtracting non-stimulation trials to stimulation trials. Finally, the combination of the picture taken under white light and the one taken under red LED, allowed the targeting of C2 column position inside the chamber (Bouchard et al., 2009).

Virus Injection

For the calcium imaging study, animals were injected with a GCaMP6m (AAV1.Syn.GCaMP6m.WPRE.SV40 – Penn Vector Core) (Chen et al., 2013), under isoflurane anesthesia at 1.5-2%, following the intrinsic optical imaging session. A small craniotomy (diameter 100µm) was drilled -1mm lateral to the identified C2 column, and the pia was removed. A glass pipette filled with the virus was used for injection at 200-300µm depth (0.2µL / min, 2µL delivered in total).

At the end of the habituation period, a small craniotomy (centered on C2 column (~1 x 2 mm)) was performed above the C2 barrel column. Dura mater was removed, and 1.5% agarose was applied onto the cortical surface to stabilize it. For the calcium imaging study, a cover slip of the precise dimension of the craniotomy was glued on the skull (Goldey et al., 2014). For patch-clamp experiments, an opening was left on one side of the craniotomy for pipette insertions. The exposed brain was continually immersed in ASCF. Animals were allowed to recover for at least 2-3h before recording, and recording sessions lasted up to 4h. Animals were placed on the stage of a LaVision 2-photon microscope combined with a pulsed Ti-Sapphire laser ($\lambda= 920$ nm; Chameleon; Coherent). Image and data acquisition was obtained using Inspector Pro (LaVision, Germany). Simultaneous LFP and whole-cell/cell-attached recordings were performed using glass micropipettes filled respectively with ACSF (in mM: 135 NaCl, 5 KCl, 5 HEPES, 1 MgCl₂, 1.8 CaCl₂, 0.01 Alexa-488 (adjusted to pH 7.3 with NaOH) and internal solution (in mM: 135 potassium gluconate, 4 KCl, 10 HEPES, 10 phosphocreatine, 4 MgATP, 0.3 Na₃GTP, 0.01 Alexa-488 (adjusted to pH 7.3 with KOH; osmolarity adjusted to 300 mOsmol)).

Calcium Imaging

Images (256 x 91 pixels, 1 pixel = 1.76 μm^2) were acquired at a frequency of 10.12 Hz. Every recording lasted 2, 3 or 4 minutes. The recording onset was determined by the experimenter to maximize the chances of obtaining bouts of NREM, REM sleep and Wakefulness. One animal could be recorded up to 15 consecutive days. A custom-made Matlab routine (Jorrit Montijn, Universiteit van Amsterdam and Mélodie Borel, Université Claude Bernard de Lyon) was used to quantify the GCaMP6-related fluorescence variations of neurons. In short, small x-y drifts were corrected with an image registration algorithm. If a substantial z-drift was detected during a session, that session was rejected and removed from further analysis. Regions of interest (neuronal somata, and neuropil) were determined semi-automatically using our custom-made Matlab software and $\Delta F/F_0$ values for all neurons were then calculated as follows: each neuron's fluorescence (F) was normalized by the baseline fluorescence of that neuron (F_0), taken as the mean of the lowest 50% fluorescence for that session ($\Delta F = (F - F_0)/F_0$) (adapted from Goltstein et al., 2013). Neurons that were also expressing TdTomato were subsequently categorized as PV, VIP or SST cells, while all other neurons were considered to be putative excitatory pyramidal cells.

Patch-Clamp/LFP Recordings

Glass pipettes (open tip resistances: 3-4 MOhms for LFP pipettes, 4-6 MOhms for loose-patch or whole-cell patch-clamp pipettes) were lowered into the C2 column of S1 barrel cortex under positive pressure, using two micro-manipulators (Scientifica PatchStar, United Kingdom). Once a neuron of interest was identified in the field of view, the LFP pipette was positioned nearby ($\sim 100 - 200 \mu\text{m}$ away). Loose-patch recordings were obtained by approaching the neuron under low pressure until the open tip resistance increased to ~ 100 MOhms. Whole-cell recordings were obtained by perforating the membrane through rapid suction after obtaining a gigaohm seal. Z-stack images were performed to confirm the position of the pipette tip relative to the neuron of interest. Signals were acquired at 20 kHz and low-pass Bessel filtered at 8 kHz with a Multiclamp 700 B amplifier (Molecular Devices, Axon Instruments). Spikes were automatically detected using a manually-set threshold on the derivative of the signal.

Oscillatory bouts (Delta waves: 1 – 4 Hz; theta oscillations: 5 - 9 Hz; Spindles: 10 – 17 Hz) were detected using scripts adapted from the Freely Moving Animal (FMA) Matlab Toolbox (developed by M. Zugaro, Collège de France). After band-pass filtering the LFP signal in the appropriate frequency range, a low-pass filtered squared envelope of the z-scored signal was

computed. Only bouts that crossed the threshold of $z = 2$, contained a peak of at least $z = 5$ and lasted at least 250 ms and 110 ms for delta and theta oscillations respectively, were considered. Bouts were further merged if separated by less than 500ms. Finally, only episodes lasting over 1 s for delta and 350 ms for theta, corresponding to a minimum of 3 oscillations per bout, were kept. Spindles were detected by filtering LFP signal between 10 and 17 Hz and the same low-pass filtered than previously described have been computed. All event has to cross a threshold of 2.5 with a minimum peak of 4. Too close events (less than 200ms) were merged. Finally, only events lasting over 500 ms and less than 3.5 s were kept. On each detected oscillation, a Hilbert transform was applied and the phase of each spike relative to the oscillation was computed. All circular statistics were performed using the Circular Statistics Toolbox developed on Matlab (Berens et al., 2009). Delta events preceding spindles, were manually detected after filtering the LFP signal between 0.5 to 4 Hz (minimum and maximum durations of 100 ms and 800 ms respectively). Finally, for the analysis of neuronal activity during delta-spindles bouts, the peak of the delta event was used to align all delta-spindles bouts.

Sleep scoring and whisker tracking

EEG and EMG signals were recorded at 20 kHz, amplified (AM system Inc, Model 3000 AC/DC, and band-pass filtered (EEG: 0.1-100 Hz, EMG: 300-3000 Hz) for online display during recording sessions. Sleep scoring was performed manually offline with at a temporal precision of 100 ms. Parameters used to help in the identification of the three main vigilance states (Wake, NREM and REM) were EEG and EMG variance, theta/delta ratio and an ongoing FFT. Wake episodes were defined by a low EEG variance and a high EMG variance. NREM sleep bouts were determined based on a lower EMG and higher EEG variance, together with the presence of spindles on the EEG and/or the LFP. REM sleep was scored when a high theta/delta ratio was observed on the EEG, accompanied by a very low EMG variance. Episodes with undefined vigilance states, such as transitional and intermediate states or episodes lasting less than 20 s were removed from the analysis. Whisker movement was tracked with a high speed (320x240 pixels; 100 Hz) camera (MotionProRedlake, USA) under infrared illumination (λ : 850 nm; OPT machine Vision). The angle of whisker deflection was calculated using a custom-made software written in Matlab (courtesy of P-A. Libourel). An episode of free whisking was considered as such if the C2 whisker deflection exceeded 20 degrees and contained at least three protraction-retractions exceeding 10 degrees, lasting at least 200 ms. Twitches were also detected (> 20 degrees but less than three protraction-retractions exceeding 10 degrees detected) and were removed from the analysis of quiet wakefulness. Under these

conditions, free whisking episodes were detected in both Wake and REM sleep, but not during NREM sleep.

Statistics

All classical statistical analysis was performed using routine functions in Matlab. Normality distribution and homoscedasticity was checked on samples using the Kolmogorov-Smirnov and Levene test respectively. For comparison of parametric data, a Student test (for 2 groups comparison) or a one-way Anova (for multiple groups comparison) were used. However, in most of the case samples were nonparametric, and a Wilcoxon-sign ranked test and Friedman test were applied for 2-paired groups and multiple group comparison respectively (unless otherwise stated). If compared samples were considered to be independent, a Mann-Whitney test, for two group comparison, or a Kruskal Wallis test, for multiple groups comparison, were carried out. Finally, for multiple groups comparison, a Tuckey Hsd post hoc test (unless otherwise stated) or a Scheffe post hoc test was performed depending on whether homoscedasticity was observed or not. For patch-clamp experimental data, some neurons were only recorded in a subset of the three main vigilance states (for example, wakefulness and NREM sleep, but not REM sleep). Therefore, samples were analyzed with a linear mixed-effects model on R studio using Satterthwaite approximation (Bates et al., 2015). The estimate means and standard deviation was computed by Kenward-Roger approximation (*K-R app.*). For a better fit to data, repeated measurements were included. Because pyramidal cell population were split according to their average neuronal activity in REM sleep, the use of linear mixed-effects model was no longer justified, therefore classical statistical tests were performed in this group of cells. Medians \pm median absolute deviations are stated in the section Results.

RESULTS

Cell-specific and vigilance state-dependent calcium activity throughout the sleep-wake cycle

We first investigated how the activity of excitatory and inhibitory neurons might evolve throughout the sleep-wake cycle using *in vivo* two-photon calcium imaging. Transgenic mice expressing Cre tdTomato in either PV, VIP or SST cells, were injected with a calcium indicator (AAVsyn-GCaMP6m), allowing us to specifically identify and measure fluorescence changes in both interneurons and putative pyramidal cells in layers 2/3 of S1 barrel cortex (Fig. 1A, B). In total, 1206 putative pyramidal (ie: neurons unlabeled with TdTomato), 164 PV, 78 VIP, 134 SST cells were recorded in all three main vigilance states of the sleep-wake cycle (Wake, NREM sleep and REM sleep, n = 15 mice). Overall, we observed subtype-specific changes in activity throughout the different vigilance states (Fig. 1C). Notably, PV activity increased during sleep stages compared to Wake ($\Delta F/F_0$: Wake: 11.9 ± 8.0 %; NREM: 18.1 ± 9.1 %; REM: 20.2 ± 10.6 %, n = 164; p < 0.001 for Wake vs NREM and Wake vs REM) and the activity of VIP cells was significantly larger in REM sleep compared to both NREM and Wake ($\Delta F/F_0$, Wake: 37.4 ± 22.9 %; NREM: 25.6 ± 14.3 %; REM: 57.1 ± 34.9 %, n = 78; p = 0.03 for Wake vs REM, p < 0.001 for NREM vs REM). The average activity of both putative PYR and GABAergic SST neurons remained however unchanged throughout the sleep-wake cycle (Fig. 1C, D). Subdividing the population of PYR neurons into sextiles based on their average activity during Wake revealed a larger activity variance during REM compared to Wake and NREM sleep (σ : Wake = 70.1, NREM = 70.6, REM = 79.7, *Levene's test* p < 0.001, Fig. 1D). This observation prompted us to separate PYR neurons into two groups based on their average activity during REM sleep. High REM activity PYR displayed significantly lower activity in Wake and NREM sleep ($\Delta F/F_0$, Wake: 52.2 ± 28.3 %; NREM: 47.3 ± 25.1 %; REM: 71.2 ± 27.0 %, n = 603; p < 0.001 for both Wake vs REM and NREM vs REM) whereas low REM activity PYR cells showed increased Wake and NREM activity ($\Delta F/F_0$, Wake: 25.3 ± 11.6 %; NREM: 25.3 ± 11.1 %; REM: 18.3 ± 7.5 %, n = 603; p < 0.001 for both Wake vs REM and NREM vs REM) (Fig. 1E). Furthermore, the average Wake and NREM activity of high REM activity PYR cells was larger than their low REM activity counterparts (*Mann-Whitney U-test*, p < 0.001) (Fig. 1E).

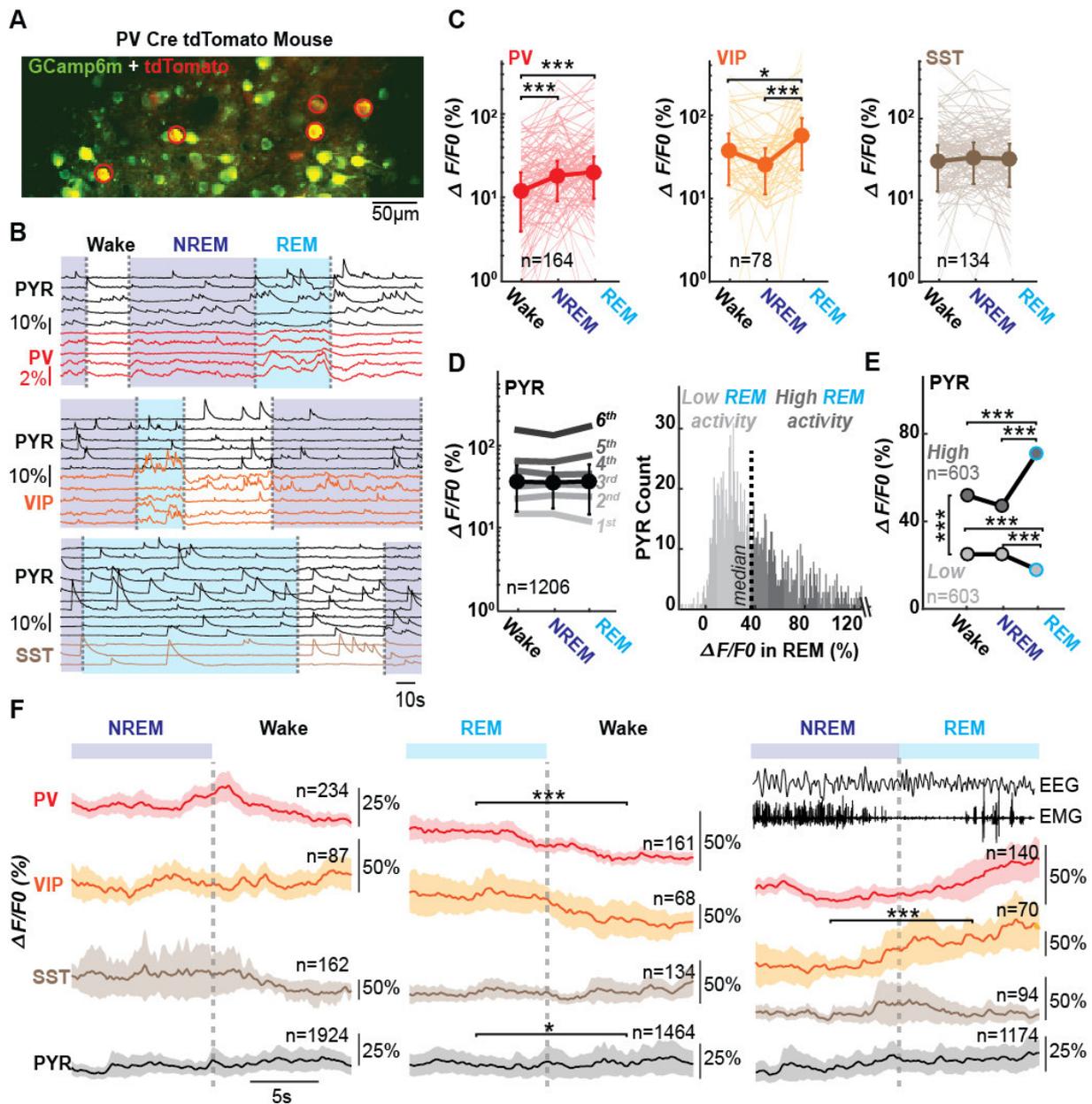


Figure 1: Calcium Fluorescence activity changes across the sleep-wake cycle for pyramidal cells and interneurons. **A.** Example of a recording field in the layers 2/3 of barrel cortex in a PV Cre-tdTomato mouse. Neurons in green express GCaMP6m (interneurons and putative pyramidal cells), while interneurons (here, PV neurons) express in addition tdTomato in red. PV cells expressing both red and green fluorescences are marked by a red circle. **B.** Changes in GCaMP6m fluorescence across time and vigilance states for each detected neurons in one recording field. Example calcium traces in a PV Cre-tdTomato (top, same as in A), a VIP Cre-tdTomato (middle) and in a SST Cre-tdTomato mouse (bottom). **C.** Mean changes in fluorescence of interneurons across vigilance states for each interneuronal subtype. **D.** Mean changes in fluorescence of putative PYR across vigilance states (bold line). Additionally, PYR cell population was divided into sextiles according to their activity during Wake (left). Histogram distribution of pyramidal cells according to their activity in REM sleep, divided. PYR were separated into two halves (right). **E.** Changes in fluorescence for high REM and low REM activity PYR across vigilance states. **F.** Dynamics of calcium activity at Wake onset from NREM (left), REM (middle) sleep, and at REM onset from NREM sleep (right, from -10 s to

+10 s around transitions marked by a dotted grey line). Above right, Example raw EEG and EMG traces for a NREM to REM transition. *PV: parvalbumin cells; VIP: vaso-actif intestinal peptide cells; SST: somatostatin cells; PYR: pyramidal cells. Median and median absolute deviations are represented in C, D and E. Means and confidence intervals are represented in F. Statistical significances are represented by asterisks. * for $p < 0.05$, ** for $p < 0.01$, *** for $p < 0.001$.*

Next, we decided to examine the dynamics of calcium activity around vigilance state transitions. Clear-cut transitions between vigilance states were manually detected and aligned at $t = 0$ s (Fig. 1F). Awakenings from both NREM and REM sleep stages provide a good temporal resolution through abrupt increases in EMG activity. While the transition between NREM and REM sleep is often considered progressive, we were able, in some instances, to time-stamp such transitions when clear theta waves began to appear on the EEG, concomitant with a rapid reduction in EMG activity and the appearance of heartbeats (Fig. 1F). The mean calcium activity between -10 to 0 s from the transition was compared to the activity between 0 to $+10$ s. We found that calcium activity of PV and VIP cells increased significantly at REM to Wake and NREM to REM onsets respectively (PV REM to Wake transitions: $9.5 \pm 14.8\%$ vs $-1.0 \pm 11.6\%$, $n = 161$ cells, $p < 0.001$; VIP NREM to REM transitions: $12.0 \pm 18.3\%$ vs $23.5 \pm 29.0\%$, $n = 70$ cells, $p < 0.001$; Fig. 1F). There was no change in calcium fluorescence in SST neurons around any considered state transition while putative PYR cell activity increased only at the onset of Wake from REM (PYR REM to Wake transitions: $9.1 \pm 11.7\%$ vs $10.9 \pm 13.4\%$, $n = 1465$ cells, $p = 0.04$). Taken together, our results suggest that changes in vigilance states occurring throughout the sleep-wake can rapidly alter circuit dynamics of layer 2/3 S1 barrel in naturally-sleeping head-fixed mice.

Vigilance state-dependent modulation of GABAergic neurons firing activity

While the dynamics of calcium fluorescence across the sleep-wake cycle are a good indicator of overall activity changes, their temporal resolution remains limited. In order to better understand the circuit activity changes induced by different brain vigilance states, we next performed targeted loose- and whole-cell patch-clamp recordings of genetically-identified PV, VIP and SST neurons, as well as putative excitatory pyramidal cells under two-photon microscopy (PV loose-patch $n = 32$, whole-cell $n = 3$; VIP loose-patch, $n = 31$, whole-cell $n = 3$; SST loose-patch $n = 32$, whole-cell $n = 5$ including one silent; PYR loose-patch $n = 18$, whole-cell $n = 4$ including one silent; Fig. 2A, B), while simultaneously recording the local field potential (LFP) with a second glass pipette positioned in layer 2/3 of the C2 barrel column.

AP firing activity of PV cells increased in NREM compared to Wake ($p < 0.001$) and further increased in REM sleep compared to Wake ($p < 0.001$) and NREM ($p = 0.003$) (Wake: 15.0 ± 3.0 Hz; NREM: 25.0 ± 3.0 Hz; REM: 29.0 ± 3.2 Hz, $n = 35$, *K-R app.*), mirroring our results found under calcium-imaging. Firing rates of VIP cells significantly increased during REM sleep compared to NREM ($p = 0.002$) (Wake: 11.9 Hz ± 1.4 , NREM: 10.9 Hz ± 1.4 , REM: 13.3 Hz ± 1.5 , $n = 34$, *K-R app.*). Finally, the AP firing activity of both SST cells and putative PYR neurons remained unchanged overall across vigilance states (SST, Wake: 5.0 ± 0.8 Hz; NREM: 5.2 ± 0.8 Hz; REM: 5.5 ± 0.9 Hz, $n = 37$, *K-R app.*; PYR, Wake: 1.4 ± 1.5 Hz, NREM: 1.3 ± 2.4 Hz, REM: 1.4 ± 3.5 Hz, $n = 22$) (Fig. 2C). We split our PYR populations into two groups as previously described, after removing a subset of cells that were not recorded during REM sleep ($n = 18$ remaining cells). On average, high REM activity PYR were less active in Wake compared to REM (Wake: 2.5 ± 1.4 Hz; NREM: 4.5 ± 2.3 Hz; REM: 7.6 ± 3.1 Hz, $n = 9$, $p = 0.02$ for Wake vs REM) while low REM activity PYR cells did not display any significant changes in overall AP firing activity across vigilance states. (Wake: 0.2 ± 0.5 Hz; NREM: 0.2 ± 0.7 Hz; REM: 0.3 ± 0.4 Hz; $n = 9$) (Fig. 2D). The activity of these two subgroups of PYR neurons was also consistently significantly different across all vigilance states (*Mann-Whitney U-test* $p < 0.001$ for WAKE, NREM and REM) (Fig. 2D). Taken together, these findings are consistent with our calcium activity results (Fig. 1), and confirm that PV cells activity increases during NREM sleep compared to Wake and further during REM, that VIP activity specifically increases during REM sleep, and that SST neuronal activity is overall not affected by the different stages of the sleep-wake cycle.

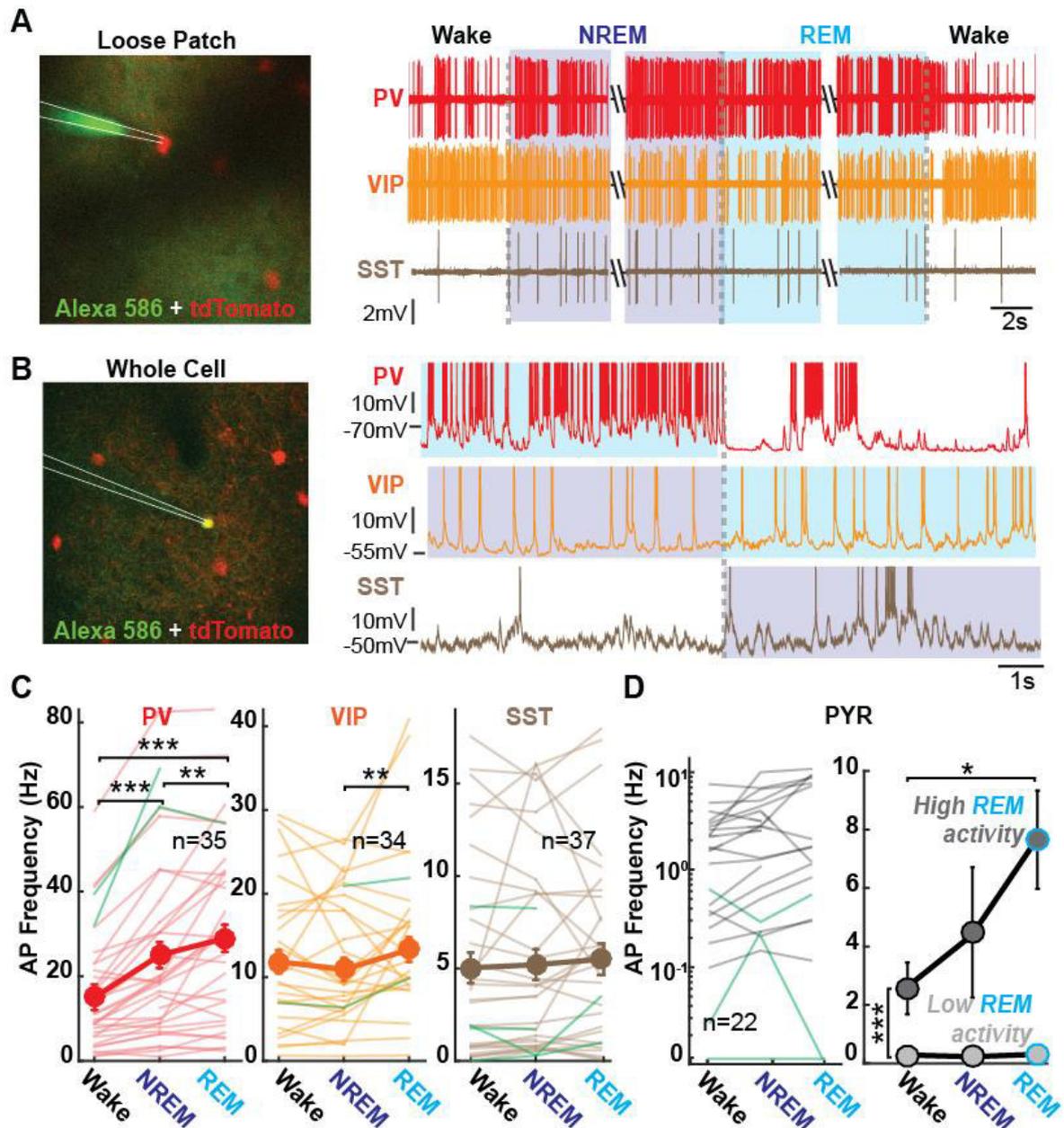


Figure 2: Sleep-wake cycle influences cortical firing rates. **A.** Loose-patch recordings. Left, z-stack image illustrating the position of a glass pipette (white lines) in loose-patch configuration. Right: example raw traces for a PV, VIP and SST neuron across different vigilance states. **B.** Whole-cell patch-clamp recordings. Left, z-stack image illustrating the position of a glass pipette (white lines) in whole-cell-patch-clamp configuration. Right, example membrane potential traces for a PV, VIP and SST neuron across different vigilance states. APs have been truncated. **C.** Average firing activity for each interneuronal subtype across vigilance states (bold). Individual loose-patched cells are represented in light and whole-cell patched neurons in green. **D.** Left: Firing rates for putative PYR cells across vigilance states in loose-patch (in grey) or whole-cell (green) configurations. Right: Mean AP frequencies for high- and Low-REM activity PYR cells. AP: action potential. Estimated means and standard error are represented in bold in C. Medians and median absolute deviations are represented in D.

While cortical neurons are often classified as bursty or non-bursty on the basis of a clear bimodality in their firing ISIs (Peyrache et al., 2011), we observed that most of our recorded interneurons could fire at both high and low frequency regimes throughout the sleep-wake cycle (Fig.3A), as previously observed for other neuronal types, for example in the thalamus (Urbain et al., 2019). In particular, high frequency bursts can strongly modulate synaptic integration and could therefore increase information content (Lisman, 1997). Therefore, we chose to investigate whether GABAergic and putative excitatory neurons firing patterns changed throughout the sleep-wake cycle by focusing on tonic vs high-frequency bursts firing, defined as any instance of an instantaneous firing frequency (IFF) falling below 20 Hz or rising above 100 Hz for VIP, SST and PYR neurons, or rising above 200 Hz for PV cells, respectively (Fig. 3A). On average, the proportion of high frequency bursts in PV and VIP neurons increased in both NREM and REM sleep compared to Wake (PV, Wake: $19.6 \pm 3.4\%$; NREM: $23.3 \pm 3.4\%$; REM: $23.0 \pm 3.5\%$, $n = 35$; $p < 0.001$ between Wake and NREM, $p = 0.0015$ for Wake vs REM; VIP, Wake: $24.4 \pm 3.9\%$; NREM: $27.4 \pm 3.8\%$; REM: $27.9 \pm 3.9\%$, $n = 34$; $p = 0.0017$ for Wake vs NREM, $p = 0.04$ for Wake vs REM; *K-R app.*). In contrast, SST cells displayed a more bursting mode specifically in NREM sleep (Wake: $9.8\% \pm 3.6$, NREM: $15.5 \pm 3.6\%$; REM: $10.56 \pm 3.8\%$, $n = 37$; *K-R app.*, $p < 0.001$ for Wake vs NREM, $p = 0.011$ for NREM vs REM) (Fig. 3B). PYR neurons, whether they belonged to the High REM or Low REM activity groups, showed no significant difference in their bursting behavior across vigilance states. (High REM PYR, Wake: $14.3 \pm 10.9\%$; NREM: $16.3 \pm 11.8\%$; REM: $14.8 \pm 11.4\%$, $n = 9$; Low REM PYR, Wake: $6.4 \pm 6.4\%$; NREM: $0.0 \pm 0.0\%$; REM: $20.0 \pm 20.0\%$, $n = 9$) (Fig. 3D). Similarly, we measured the changes in tonic firing and found that PV neurons progressively decreased their proportion of tonic firing from Wake to NREM, and from NREM to REM sleep (PV, Wake: $30.3 \pm 2.8\%$; NREM, $28.6 \pm 2.8\%$; REM, $24.1 \pm 2.9\%$, $n = 35$; *K-R app.*, $p = 0.011$ for Wake vs NREM, $p < 0.001$ for both Wake vs REM, and NREM vs REM). While the proportion of VIP cell tonic firing was significantly larger in NREM sleep compared to both Wake and REM sleep (VIP, Wake: $40.1 \pm 2.7\%$; NREM: $44.5 \pm 2.7\%$; REM: $38.5 \pm 2.9\%$, $n = 34$; *K-R app.*, $p < 0.001$ for both NREM vs Wake and NREM vs REM), SST cells fired less in tonic mode specifically during NREM compared to Wake (SST, Wake: $74.4\% \pm 3.1$, NREM: $71.1 \pm 3.1\%$; REM: $74.2 \pm 3.4\%$, $n = 37$; *K-R app.*, $p = 0.018$ for NREM vs Wake) (Fig. 3C). Only PYR cells with high REM activity displayed a tonic mode that was significantly lower during REM sleep compared to NREM (High REM PYR, Wake: $64.0 \pm 9.3\%$; NREM: $63.6 \pm 5.5\%$; REM: $52.2 \pm 10.1\%$, $n = 9$, $p=0.048$ for REM vs NREM sleep; Low REM PYR, Wake: $74.6 \pm 15.3\%$; NREM: $78.4 \pm 5.0\%$; REM: $72.0 \pm 6.5\%$, $n = 9$) (Fig. 3E). These observed shifts in

tonic vs high-frequency bursts firing may be related to changes in the firing irregularity of neurons. To quantify this parameter, we calculated the local coefficient of variation (LV) for which an LV of 1, more than 1 or less than 1, indicates Poisson-like, irregular and regular firing respectively (Vinck et al., 2016). Interestingly, we found that LV firing irregularity was vigilance-state and cell-type specific. PV firing was significantly more irregular in Wake, while VIP firing was more irregular in NREM sleep and SST cells displayed significantly more regular AP firing in REM sleep (PV, Wake: 0.99 ± 0.05 ; NREM: 0.93 ± 0.05 ; REM: 0.86 ± 0.055 , $n = 35$, $p < 0.001$ for both Wake vs NREM and Wake vs REM; VIP, Wake: 0.90 ± 0.06 ; NREM: 1.05 ± 0.06 ; REM: 0.92 ± 0.07 , $n = 34$, $p < 0.001$ for NREM vs Wake, $p = 0.0015$ for NREM vs REM; SST, Wake: 1.1 ± 0.09 ; NREM: 1.1 ± 0.09 ; REM: 0.90 ± 0.1 , $n = 37$, $p = 0.04$ for REM vs Wake, $p < 0.001$ for REM vs NREM; *K-R app.*) (Fig. 3E). In contrast, the firing irregularity of PYR neurons remained high across all vigilance states (High REM PYR, Wake: 1.2 ± 0.2 , NREM: 1.3 ± 0.3 ; REM: 1.0 ± 0.2 , $n = 9$; Low REM PYR: Wake: 1.9 ± 0.4 ; NREM: 1.8 ± 0.5 ; REM: 1.8 ± 0.4 , $n = 9$; *K-R app.*) (Fig. 3E).

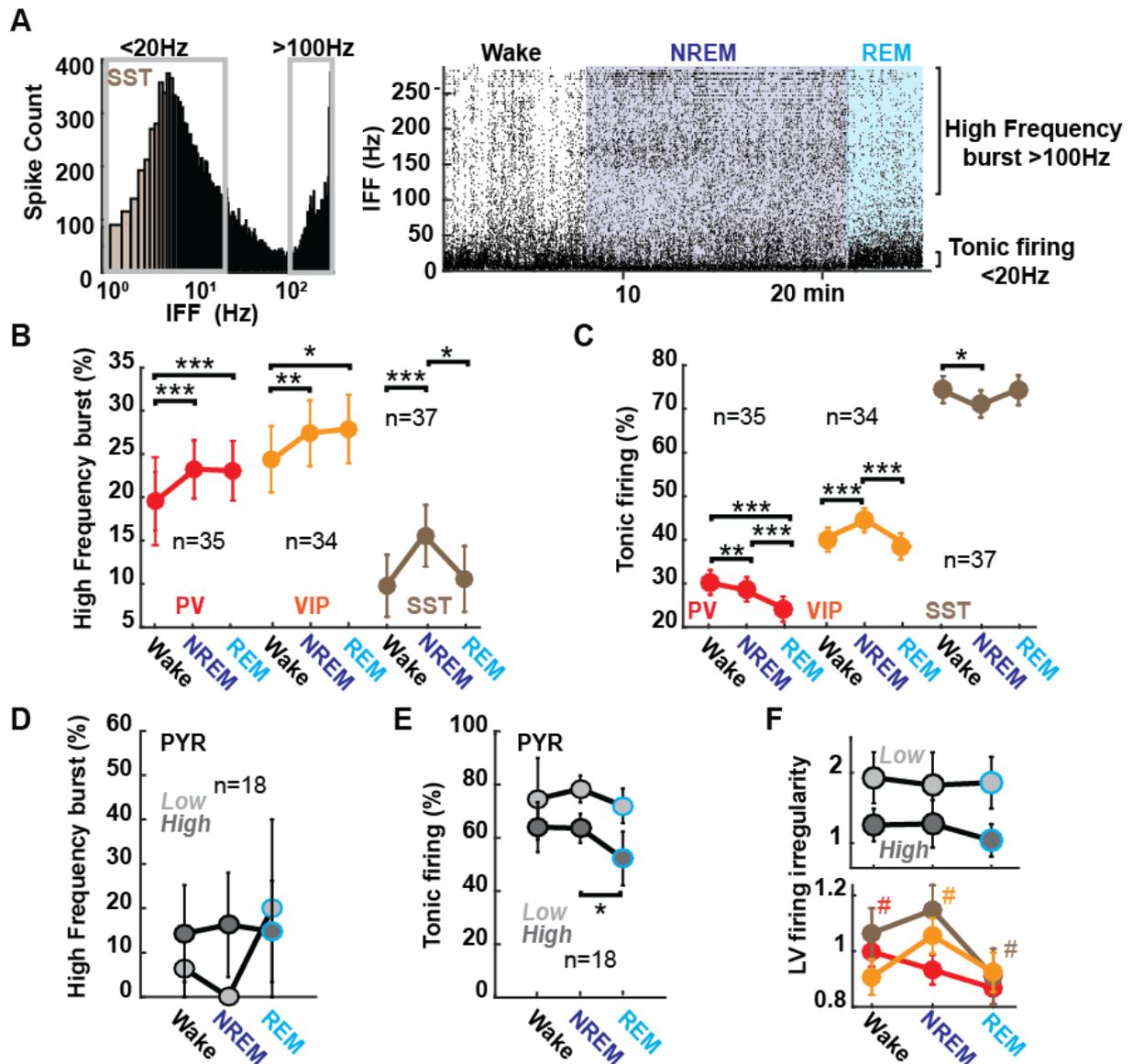


Figure 3: Cell-type specific firing patterns across vigilance states. **A.** Left: Example instantaneous firing frequency (IFF) distribution for one representative SST cell. Right: distribution of IFF firing rates of the same cell across time, encompassing three separate vigilance states. Frequency range $< 20\text{ Hz}$ was chosen to define tonic firing and high-frequency bursts were detected when IFFs $> 100\text{ Hz}$. **B.** Percentage of high frequency bursts according to vigilance state for PV, VIP and SST cells. **C.** Proportion of tonic firing across vigilance states for PV, VIP and SST cells. **D.** Same as in B, but for putative PYR neurons with high and low REM activity. **E.** Same as in C, but for PYR cells with high and low REM activity. **F.** Coefficient of variation (LV) measures of the firing irregularity for each neuronal cell type across vigilance states. # denotes statistical significance between the vigilance state above which the symbol is indicated vs the other two remaining vigilance states for the color-coded cellular subtype (PV: red, orange: VIP and beige: SST). *Estimated means and standard error are represented in bold in B, C and F (bottom). Medians and median absolute deviations are represented in D, E and F (top).*

Cell type-specific rapid changes in AP firing at transitions between vigilance states

As for our calcium-imaging study, we were able to manually time-stamp clear transition points between vigilance states, both at wake onset, but also between NREM and REM sleep in some instances. Therefore, we next investigated how the dynamics of AP firing rates of different neuronal cell types around those transition time points (aligned at $t = 0$ s). We quantified and compared firing rates from -5 s to 0 s and from 0 to +5 s. Confirming the results we found under calcium-imaging, a rapid decrease in PV cell firing was observed at wake onset from either NREM or REM sleep (PV REM to Wake transitions: 12.5 ± 7.9 Hz vs 4.0 ± 2.3 Hz; $n = 27$, $p < 0.001$; NREM to Wake transitions: 8.0 ± 4.8 Hz vs 3.3 ± 2.0 Hz; $n = 31$, $p < 0.001$). However, we did not find any changes at REM onset from NREM sleep. Similarly, we did not observe any changes in VIP cells firing across vigilance states, unlike our previous findings under calcium-imaging. A decrease in SST cell firing was uncovered at wake onset from NREM sleep (SST NREM to Wake transition: 1.6 ± 1.3 Hz vs 1.3 ± 2.4 Hz; $n = 30$, $p = 0.012$). Finally, firing rates of PYR cells decreased significantly at REM offset (REM to Wake transitions: 0.8 ± 0.8 Hz vs 0.36 ± 0.36 Hz; $n = 13$, $p < 0.001$) unlike results from calcium imaging (Fig. 4A). Since AP firing rates appeared to provide a better temporal estimate of activity dynamics in high-firing GABAergic neurons, we next examined how this activity evolved over the time span of a vigilance state. We divided each state episode that lasted over 20 seconds into 3 equal parts and quantified the mean firing frequencies for each neuronal subtype and each sleep stage subpart (Fig. 4B). Our results indicate that during Wake, the AP activity of PV, VIP, SST and PYR cells increased from the beginning to the end of a wake episode (PV Wake, beginning: 8.8 ± 6.4 Hz; middle: 12.0 ± 8.5 Hz; end: 13.8 ± 7.3 Hz; $n = 34$, $p < 0.001$ for beginning vs both middle and end, *here Scheffe post hoc test* was performed; VIP Wake, beginning: 7.8 ± 5.5 Hz; middle: 10.0 ± 4.8 Hz; end: 9.4 ± 6.6 Hz; $n = 31$; $p = 0.006$ for beginning vs middle, $p = 0.02$ for beginning vs end; SST Wake, beginning: 3.2 ± 2.9 Hz; middle: 3.8 ± 3.1 Hz; end: 3.3 ± 2.8 Hz; $n = 33$, $p = 0.0015$ for beginning vs end; PYR Wake: beginning: 0.9 ± 0.8 Hz; middle: 1.7 ± 1.3 Hz; end: 1.8 ± 1.4 Hz; $n = 20$, $p < 0.001$ for beginning vs end). In contrast, no significant changes in activity were observed during both NREM sleep episodes for all neuronal subtypes except for PV neurons, whose activity increased at the start of the NREM sleep state (PV NREM, beginning: 16.6 ± 9.6 Hz; middle: 18.1 ± 11.3 Hz; end: 19.5 ± 12.2 Hz; $n = 35$, $p = 0.03$ for beginning vs middle). AP dynamics during REM sleep revealed a similar increase in PV firing occurring over the time course of the beginning of a REM episode (PV REM, beginning: 25.3 ± 14.9 Hz; middle: 29.2 ± 17.6 Hz; end: 29.9 ± 18.2 Hz; $n = 31$, $p = 0.006$ for

beginning vs middle) and an increase in SST activity from the first to the last third of a REM episode (SST REM: beginning: 4.6 ± 3.5 Hz; middle: 5.1 ± 3.6 Hz; end: 5.5 ± 4.6 Hz; $n = 30$, $p = 0.009$ for beginning vs end) (Fig. 4B).

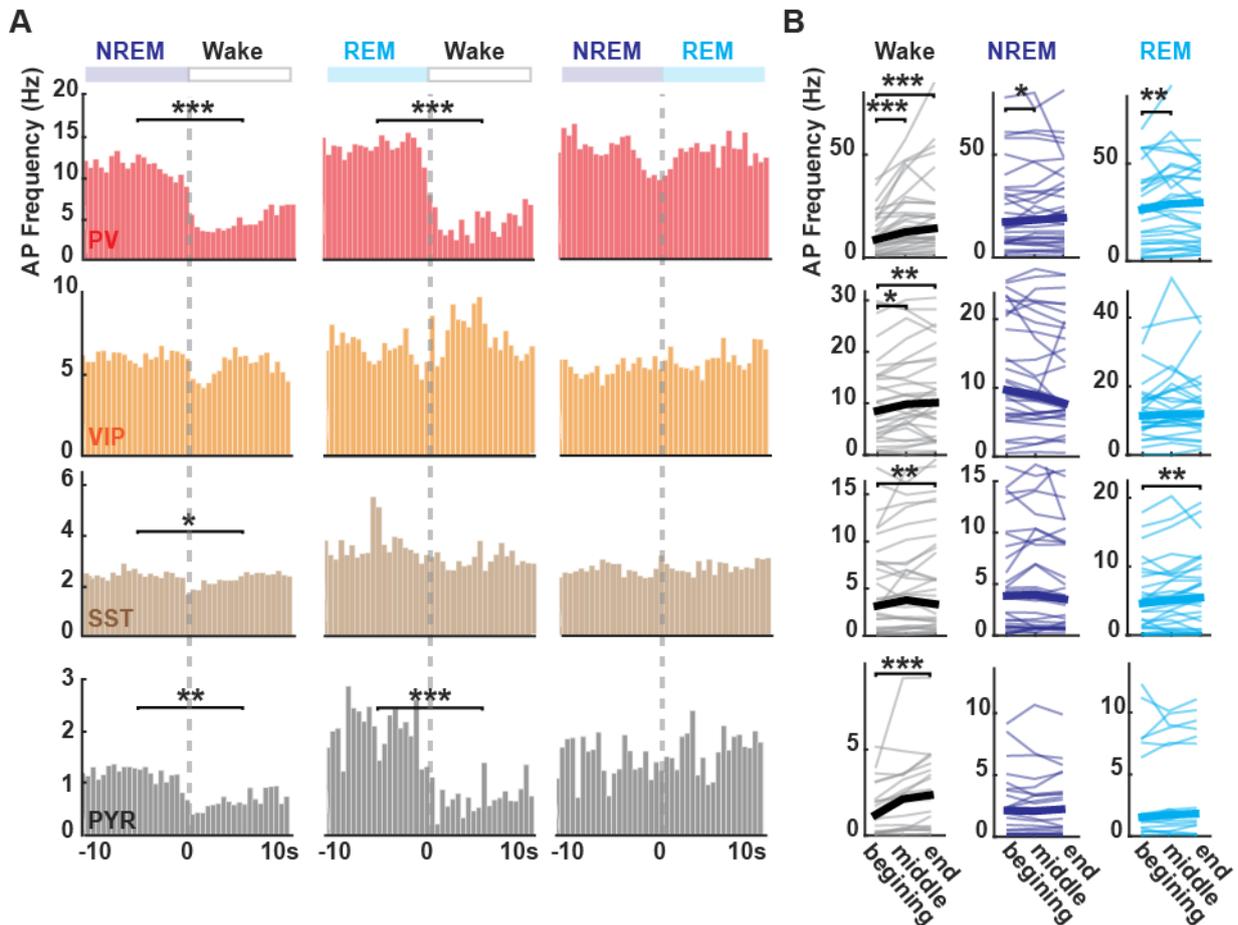


Figure 4: Dynamics of AP firing rates at vigilance state transitions and throughout sleep and wake episodes. **A.** Peristimulus time histograms (PSTH) for different vigilance state transitions (bin size = 500 ms) for each neuronal subtype (top, red, PV; middle, orange, VIP; middle, beige, SS; bottom, black, PYR). **B.** Time evolution of mean spike rates through Wake, NREM and REM sleep episodes. Each episode was time-normalized and divided into three equal parts. *Medians are represented.*

Theta and delta oscillations modulate timing of interneuronal firing

LFP cortical oscillations in the theta band (5-9 Hz) have been previously observed during both active wakefulness and REM sleep, but not during NREM sleep (Montgomery et al., 2008; Del Vecchio Koike et al., 2017), although the LFP electrode is usually positioned in deeper layers. Interestingly, we could also distinguish prominent theta oscillations during REM sleep on our

layer 2/3 LFPs (Fig. 5A). We therefore decided to investigate phase locking of local interneurons and putative pyramidal cells to layer 2/3 LFP theta oscillations detected in Wake and REM sleep (Fig. 5A). First, we estimated that 56 % and 45 % of PV cells were modulated by theta in Wake and REM respectively, 57 % and 37 % of VIP cells, 38 % and 14 % of SST cells, and 42 % and 33 % of PYR neurons (Fig. 5B). Fits using von Mises functions yielded estimates of the preferred phase (μ) and the concentration (κ) of spiking (which represents how peaked the spiking distribution is around the preferred phase). Interestingly, no differences across all cell types were observed in either the position of the peak of the preferred theta phase in REM sleep compared to Wake (PV, Wake: -0.15 ± 0.12 rad; REM: -0.02 ± 0.01 rad; SST, Wake: -0.07 ± 0.3 rad; REM: 0.30 ± 0.37 rad; VIP, Wake: -0.04 ± 0.12 rad; REM: 0.02 ± 0.32 rad; PYR, Wake: -0.04 ± 0.16 rad; REM: -0.3 ± 0.26 rad) (Fig. 5D), nor in the median concentration parameter κ in REM sleep vs Wake (PV, Wake: 0.88 ± 0.16 ; REM: 0.54 ± 0.14 ; SST, Wake: 0.67 ± 0.28 ; REM: 0.54 ± 0.21 ; VIP, Wake: 0.53 ± 0.15 ; REM: 0.51 ± 0.19 ; PYR, Wake: 0.78 ± 0.12 ; REM: 0.96 ± 0.18) (Fig. 5D).

LFP delta oscillations (1-4 Hz) could be observed in all vigilance states, including REM sleep (Funk et al., 2016), although they have been shown to be mostly prominent during quiet rather than active wakefulness (Fernandez et al., 2017) and to be interspersed with slow-wave activity during NREM sleep (Crunelli et al., 2006). We observed that 65 %, 77 % and 74 % of PV cells were modulated by delta oscillations in Wake, NREM and REM respectively. Similarly, a large proportion of VIP neurons (63 %, 67 % and 63 % for wake, NREM and REM respectively) and a smaller proportion of SST and PYR cells (SST, 34 %, 33 % and 28 %; PYR, 47 %, and 42 % and 43 % for Wake, NREM and REM sleep respectively) were phase-modulated by ongoing delta activity (Fig. 5G).

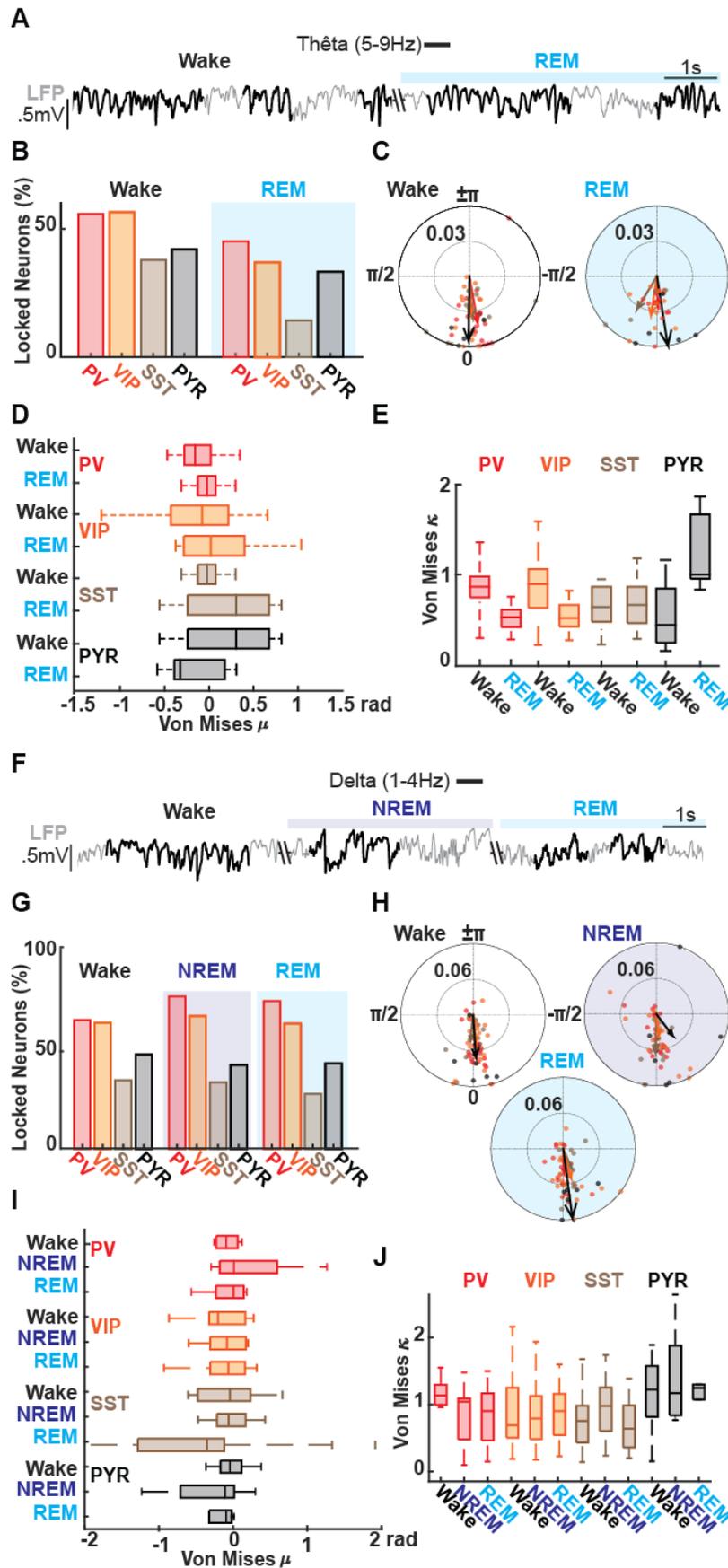


Figure 5: Theta and delta oscillations phase-locking of spikes across vigilance states. A. Example raw LFP trace showing detected theta (5 – 9 Hz) bouts (black) during Wake (left) and

REM sleep (right). **B.** Percentage of neurons phased-locked to theta oscillations in Wake and REM. A Rayleigh test was performed on each cell to detect if they were modulated by theta oscillations. **C.** Circular plots for all neurons modulated by theta oscillations in Wake and in REM. Each dot represents a modulated cell, and the arrow the mean for that population (same color code as B). **D.** Average concentrations of the phase locking by neuronal subtype. **E.** Average peaks of the phase locking by neuronal subtype. **F.** Example raw LFP trace showing detected delta (1 – 4 Hz) bouts (black) during Wake (left), NREM (middle) and REM sleep (right). **G.** Same as in B. for delta waves detected in Wake, NREM and REM sleep. **H.** Same as in C. for delta waves. **I.** Same as in D. for delta waves **J.** Same as in E. for delta waves occurring in Wake, NREM and REM sleep. *Medians and median absolute deviations are represented. Median, 25th and 75th percentiles are represented in boxplots in D and I.*

Similarly to what we observed for oscillations in the theta band, we found no difference amongst modulated cells of any cell type for the position of the peak of the preferred delta phase across all vigilances (PV, Wake -0.09 ± 0.14 rad; NREM: $+0.01 \pm 0.20$ rad; REM: $+0.006 \pm 0.17$ rad; SST, Wake: -0.04 ± 0.35 rad; NREM: -0.06 ± 0.21 rad; REM: 0.35 ± 0.59 rad; VIP, Wake: -0.20 ± 0.17 rad; NREM: -0.08 ± 0.24 rad; REM: -0.06 ± 0.20 rad; PYR, Wake: -0.04 ± 0.11 rad; NREM: -0.11 ± 0.12 rad; REM: -0.09 ± 0.09 rad) (Fig. 5I). On average, the median concentration median parameter κ was also unchanged for all cell types across all vigilance states (PV, Wake: 1.1 ± 0.16 ; NREM: 1.0 ± 0.18 ; REM: 0.90 ± 0.29 ; SST, Wake: 0.75 ± 0.30 ; NREM: 0.98 ± 0.33 ; REM: 0.64 ± 0.34 ; VIP, Wake: 0.69 ± 0.33 ; NREM: 0.79 ± 0.33 ; REM: 0.90 ± 0.26 ; PYR, Wake: 1.22 ± 0.34 ; NREM: 1.1 ± 0.37 ; REM: 1.2 ± 0.11 ; *Kruskal Wallis test*) (Fig. 5J).

Interneurons activity are differentially modulated by spindles

We observed a variety of oscillations on the layer 2/3 LFP recorded via a glass pipette positioned nearby (Fig. 6A). Importantly, we were able to observe clear spindle oscillations during NREM sleep (Fig. 6B). First we investigated whether detected spindles (10 – 17 Hz, see Materials and Methods) during NREM sleep modulated the activity of different cortical neurons of S1 barrel layer 2/3. The firing rates of different neuronal subtypes were estimated when spindles occurs (Spdl +), and when no spindles were detected on the LFP (Spdl -). On average, firing rates of both PV and PYR cells increased during spindles compared to outside spindles, while the AP activity of SST cells decreased during spindles (PV, Spdl-: 17.1 ± 9.9 Hz; Spdl+: 21.7 ± 12.6 Hz; $n = 35$, $p < 0.001$; PYR, Spdl-: 1.5 ± 1.3 Hz; Spdl+: 2.1 ± 2.1 Hz; $n = 22$, $p = 0.010$; SST, Spdl-: 3.2 ± 3.2 Hz; Spdl+: 2.8 ± 2.8 Hz; $n = 37$, $p = 0.0017$). In contrast, median firing rates of VIP cells remained unchanged by the occurrence of spindle oscillations (VIP, Spdl-: 9.7 ± 4.2 Hz; Spdl+: 9.0 ± 5.4 Hz; $n = 34$) (Fig. 6C). We next investigated whether

neurons could phase-lock to spindles by performing a Rayleigh test that allowed us to determine whether spiking of individual neurons was significantly locked to a particular phase of a spindle oscillation. A majority (54.3 %) of PV cells were phase-modulated by spindles, while 43.3 % of VIP, only 17.2 % of SST and 47.4 % of PYR neurons were (Fig. 6D, E). On average, the median concentration parameter κ was larger in PYR cells compared to VIP cells ($p = 0.04$) (κ , PV: 0.69 ± 0.12 ; VIP: 0.44 ± 0.27 ; SST: 0.70 ± 0.11 ; PYR: 1.2 ± 0.36 ; *Kruskal Wallis test*). The position of the peak of the preferred phase in radians (rad) was significantly different for VIP cells compared to PV ($p = 0.02$) (μ , PV: -0.16 ± 0.11 rad; VIP: $+0.32 \pm 0.20$ rad; SST: $+0.07 \pm 0.55$ rad; PYR: -0.19 ± 0.19 rad; *Anova*) (Fig. 6E, F).

In some instances (around 2 %, range: 0 – 18 %), LFP spindles bouts were preceded by a large positive delta wave (1-4 Hz), as previously observed on deeper S1-barrel cortex LFPs during NREM (Urbain et al., 2019). These delta waves are thought to correspond to periods of cortical quiescence (Contreras and Steriade, 1995; Maingret et al., 2016). We quantified normalized firing rates before, during delta events when they occurred (Delta), and during spindles (Spdl) and examined how the presence or absence of such delta waves influenced their dynamics. On average, all neuronal subtypes displayed increased firing rates during spindles compared to delta events (PV, Before: 15.0 ± 7.2 Hz; Delta: 7.5 ± 7.5 Hz Spdl: 28.3 ± 16.5 Hz; $n = 14$, $p < 0.001$ between Delta and Spdl; VIP, Before: 9.0 ± 5.5 Hz ; Delta: 10.0 ± 5.0 Hz; Spdl: 17.6 ± 6.7 Hz; $n = 12$, $p = 0.02$ between Before and Spdl, $p = 0.004$ between Delta and Spdl; SST, Before: 1.1 ± 1.1 Hz; Delta: 0.0 ± 0.0 ; Spdl: 3.9 ± 3.9 ; $n = 12$; PYR, Before: 0.0 ± 0.0 Hz; Delta 0.0 ± 0.0 Hz; Spdl: 3.8 ± 3.8 Hz; $n = 9$, $p = 0.02$ between Delta and Spdl) (Fig. 6H, I). Interestingly, the overtime analysis showed us that the increase activity of VIP cells specifically appears at the end of the delta event (Fig.6H).

We then wondered whether the neuronal activity could differ during a spindle, depending on whether or not it was preceded by a delta event. Results showed that all neuronal cell types - except SST cells, displayed a stronger firing rate during spindles preceded by a delta event (PV, Spdl: 13.1 ± 5.0 Hz Delta-Spdl: 28.3 ± 16.5 Hz; $n = 14$, $p = 0.013$; VIP, Spdl: 10.8 ± 5.1 Hz; Delta-Spdl: 17.6 ± 6.7 Hz; $n = 12$, $p < 0.001$; SST, Spdl: 2.7 ± 2.0 Hz; Delta-Spdl: 3.9 ± 3.9 Hz; $n = 12$; PYR, Spdl: 0.9 ± 0.9 Hz; Delta-Spdl: 3.8 ± 3.8 Hz; $n = 9$, $p = 0.03$) (Fig. 6J).

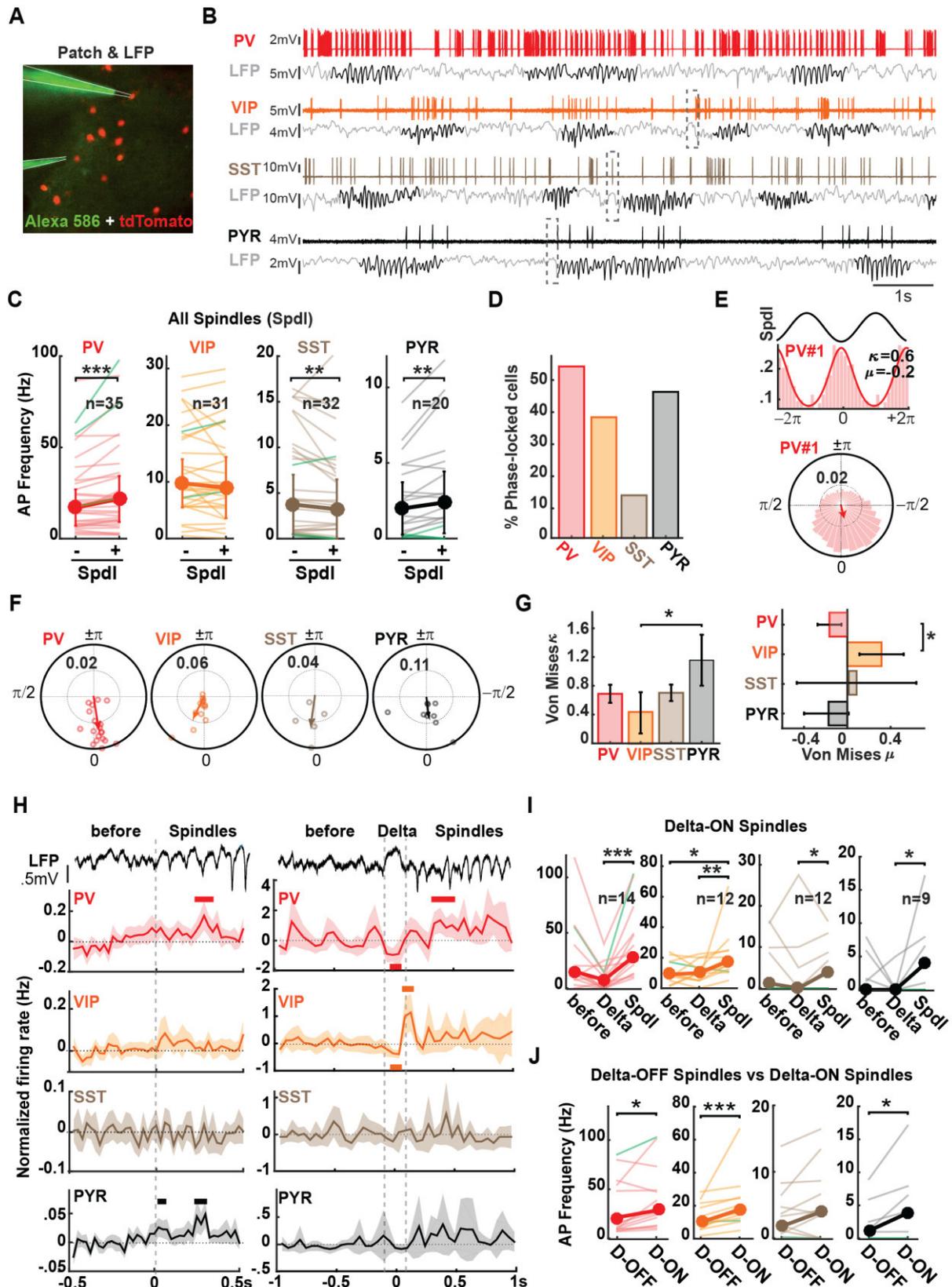


Figure 6: Modulation of interneuronal firing rates by sleep spindles in NREM sleep. **A.** Z-stack image showing glass pipettes (white lines) in loose-patch configuration (top) and LFP (bottom) in layer 2/3 of the S1 barrel cortex. **B.** Example raw traces from a PV (top), VIP (middle), SST (middle) and PYR (bottom) neuron together with ongoing LFP activity. Spindle

bouts are denoted in black. Delta events occurring before spindle bouts are indicated by dashed grey boxes. **C.** Average AP frequency (bold lines) during spindles (spdl+) and outside spindles (spdl-) for each cell type. Cells recorded in whole-cell patch mode are shown in green. **D.** Percentage of neurons phased-locked to spindle oscillations. A Rayleigh test was performed on each cell to detect if they were modulated by sleep spindles. **E.** Example PV cell phase-locked to spindle oscillations. The spike distribution was fitted by a Von Mises distribution (red line), where Kappa (κ), the concentration of the phase locking, and mu (μ) the peak of phase locking, are calculated. κ and μ can be represented on a circular plot (denoted by an arrow). **F.** Circular plots for all modulated cells. Each circle represents a modulated cell, and the arrow the mean for all modulated neurons. **G.** Average concentrations (left) and peaks (right) of the phase locking by neuronal subtype. **H.** Average normalized firing rates across delta-OFF spindles (left) or delta-ON spindles for each cell type. **I.** Average AP frequency before, during Delta event and during spindles for delta-ON spindle bouts for each cell type. **J.** Median firing rates during delta-ON (D-ON) vs delta-OFF (D-OFF) spindle bouts. *Medians and median absolute deviations are represented in F, G, I and J. Means and confidence intervals are represented in H.*

Whisking episodes can occur during REM sleep

One of the most striking behavioral features of rodents, which they mainly display during exploration of their environment, is their ability to actively sweep their whiskers back and forth (Welker, 1964). Interestingly, we observed long-lasting (> 1 s) C2 whisker movements during both active wakefulness and throughout the time course of REM sleep episodes (Fig. 7A). Those bouts were not equally distributed over the time course of a Wake nor REM episode, occurring over longer periods of time at the start of a Wake episode and towards the end of a REM episode, respectively (Wake % time spent whisking, 1st part: 9.8 ± 8.3 %; 2nd part: 4.5 ± 8.7 %; 3rd part 1.5 ± 5.4 %; $n = 92$, $p = 0.03$ for 1st vs 2nd part, $p < 0.001$ for 1st vs 3rd part; $p = 0.001$ for 2nd vs 3rd part; REM % time spent whisking, 1st part: 0.0 ± 4.6 %; 2nd part: 3.6 ± 8.8 % ; 3rd part 6.2 ± 3.6 %; $n = 70$, $p < 0.001$ for 1st vs both 2nd and 3rd parts) (Fig. 7B). Whisking bouts in REM further differed from their Wake counterparts in their frequency of protraction/retraction oscillations, with faster but smaller amplitude series of sweeps superimposed over an already large baseline deflection angle of the C2 whisker occurring during NREM sleep (Peak at around 8 Hz for whisking bouts occurring during Wake vs a peak at around 15 Hz for whisking bouts occurring during REM sleep, Fig. 7A, C), and their median maximal amplitudes (Wake: $46.2 \pm 8.1^\circ$; $n = 92$; REM: $32.8 \pm 5.5^\circ$; $n = 70$, $p < 0.001$) (Fig. 7D). However, their durations were similar to those occurring during Wake (Whisking bouts duration, Wake: 1.85 ± 0.97 s; $n = 92$; REM: 1.76 ± 1.76 s, $n = 70$) (Fig. 7D). Mice therefore

display whisking bouts with specific characteristics during REM sleep, but their durations preclude them from being categorized as twitches (Tiriac et al., 2012).

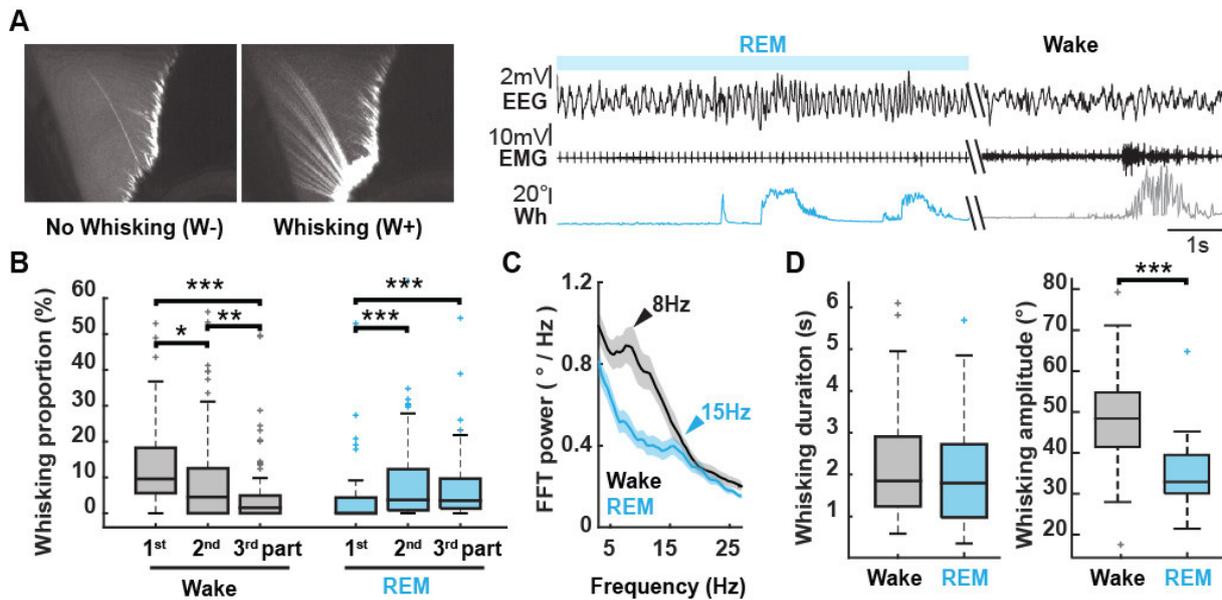


Figure 7: Whisking bouts occur during both Wake and REM sleep in naturally-sleeping mice. **A.** Left: Mean picture of C2 whisker observed through a high-speed infrared camera in the absence or presence of whisker protractions. Right, Example EEG (top), EMG (middle), and Whisker position (bottom) traces during REM sleep and Wake, showing bouts of whisking (> 1s) in both vigilance states. **B.** Percentage of time spent whisking during the first, second and third part of Wake and REM sleep across all recorded episodes. Dots denote results per recording session. **C.** Grand mean average Fast Fourier Transform (FFT) of whisker position during whisking bouts occurring in Wake (black) and REM sleep (blue). FFTs were computed from 1s time windows for all bouts across all recording sessions. A peak at around 8 Hz during Wake-whisking and at 15 Hz during REM-whisking are marked by black and blue arrows respectively. **D.** Average whisking bout durations (left) and amplitudes (right) during Wake and REM sleep. Median, 25th and 75th percentiles are represented in boxplots in B. Means and confidence intervals are represented in C.

Whisking induces changes in interneuronal firing activity during both Wake and REM sleep

Previous studies uncovered differential modulations of GABAergic cells neuronal firing during free whisking (Gentet et al., 2010, 2012; Muñoz et al., 2017) or active tactile behavior (Yu et al., 2019). Since we observed whisking behavior in our head-restrained, naturally-sleeping mice, during both Wake and REM sleep, we next examined whether it could differentially affect neuronal firing rates in our population of layer 2/3 cortical neurons during these two fundamentally different cognitive brain states (Fig. 8). We quantified the average firing rates of

different cellular subtypes when the mouse was whisking (W+) versus when no whisking occurred (W-). Furthermore, twitches were excluded from the analysis (see Materials and Methods). We observed different behaviors across different cells in both loose-patch (Fig. 8A) and whole-cell patch-clamp (Fig. 8B) configurations. On average, AP firing in both PV and PYR neurons was not affected by whisking bouts occurring during either Wake nor REM sleep (PV, Wake W-: 10.0 ± 6.1 Hz; Wake W+: 9.5 ± 9.0 Hz; $n = 30$; REM W-: 17.3 ± 10.9 Hz; REM W+: 25.2 ± 12.7 Hz; $n = 19$; PYR, Wake W-: 1.1 ± 1.0 Hz; Wake W+: 0.3 ± 0.3 Hz; $n = 17$; REM W-: 1.6 ± 1.4 Hz; REM W+: 1.5 ± 1.5 Hz; $n = 14$). On the other hand, VIP cells firing activity was increased during whisking in both Wake and REM sleep (VIP, Wake W-: 9.4 ± 6.1 Hz; Wake W+: 19.0 ± 9.9 Hz; $n = 28$; REM W-: 10.7 ± 5.4 Hz; REM W+: 13.4 ± 6.3 Hz; $n = 23$, $p < 0.001$ for whisking effects in Wake, $p = 0.01$ for whisking effects in REM). Interestingly, whisking differentially affected the firing activity of SST neurons. While SST cells significantly decreased their AP firing whisking in Wake (SST, Wake W-: 4.0 ± 3.2 Hz; Wake W+: 3.2 ± 3.0 Hz; $n = 27$ $p = 0.02$), their firing activity remained unchanged during whisking bouts when they occurred in REM sleep (SST, REM W-: 6.3 ± 5.4 Hz; REM W+: 4.9 ± 4.9 Hz; $n = 15$) (Fig. 8C). These results on population averages may not however reflect the behavior of individual neurons during whisking throughout the sleep-wake cycle. Therefore, in order to better understand whether whisking could differentially affect the firing rates of different neurons, we subtracted individual neuronal firing rates during whisking by the firing rates during non-whisking, divided by the firing rate during non-whisking, to obtain an index as a % change for each cell. We defined cells as a whisker-active (W+) or whisker-inhibited (W-) when the absolute percentage of change exceeded +15 % and -15 %, respectively. We found that 53 % of PV cells were W- and 29 % were W+ during Wake, while only 12% were W- and 35% were W+ during REM. For VIP cells, the proportion of W+ cells was 83 % and 67 % in Wake and REM respectively, while those values were only 11 % and 22 % during Wake and REM respectively for W- neurons (Fig; 8D). 56 % of SST neurons were W- in Wake vs 44 % in REM and 22 % of SST cells were W- in Wake vs 11 % that were in REM (Fig; 8D). Interestingly, a majority PYR neurons was categorized as W- in Wake (67 %), compared to a smaller fraction that were in REM (22 %) (Fig. 8D). Finally, we compared the percentages change in Wake and REM for each individual neuron grouped by subtype. In our population of VIP cells, this percentage change dropped significantly in REM compared to Wake, indicating that the increase in VIP cells AP firing that occurs during whisking in Wake is larger than the increase observed during REM sleep (VIP Wake % change: $+78.5 \pm 69.4$ % vs $+22.7 \pm 23.6$ % in REM; $n = 18$, $p = 0.011$). For PV, PYR and SST cells, the percentage changes remained

stable in Wake compared to REM (PV, Wake % change: $-25.3 \pm 32.1\%$; REM % change: $-5.7 \pm 15.0\%$; $n = 17$; SST, Wake % change: $-15.6 \pm 10.9\%$; REM % change: $-13.2 \pm 27.5\%$; $n = 9$; PYR, Wake % change: $-65.4 \pm 34.6\%$; REM % change: $-46.3 \pm 24.6\%$; $n = 9$) (Fig. 8E).

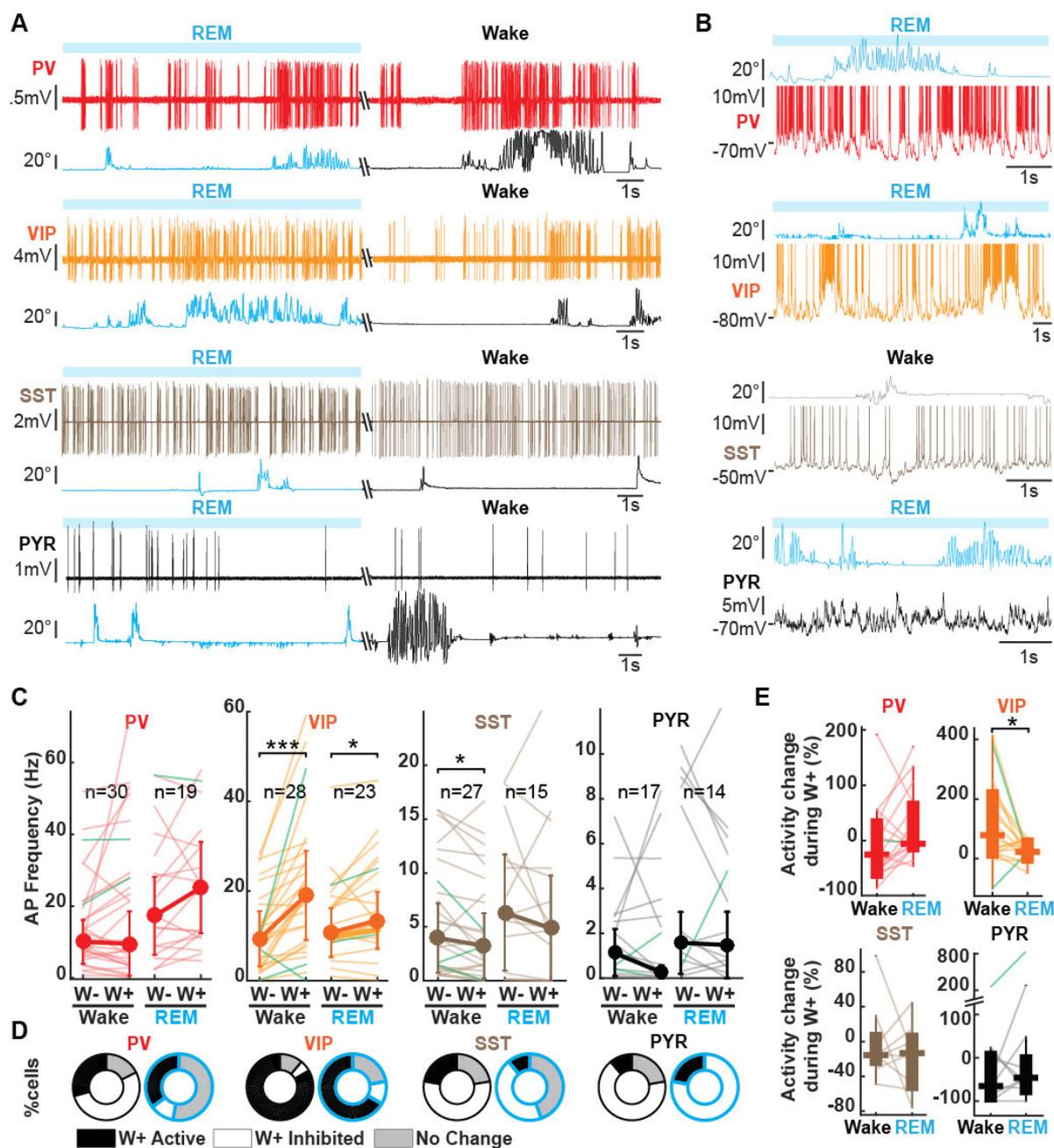


Figure 8: Whisking modulates cortical interneurons firing rates. **A.** Example raw traces of loose-patch recordings and whisker movements in Wake and REM sleep for one PV (top, red), one VIP (middle, orange), one SST (middle, beige) and one PYR (bottom, black). **B.** Example raw traces of whole-cell recordings and whisker movement in Wake or REM sleep (same color code as A). **C.** Mean firing rates for PV, VIP, SST and PYR neurons during whisking bouts (W+) vs no whisking (W-). Cells recorded in loose-patch are represented in light color and whole-cell patch-clamped neurons in green. **D.** Percentage of cells per subtype and per vigilance state displaying either increased, decreased or no change in their firing rates during whisking

vs no whisking. **E.** Activity change in % during whisking (W+) in Wake vs REM compared to no whisking in Wake and REM sleep.

DISCUSSION

Cortical activity throughout the sleep/wake cycle needs to be highly dynamic, in order to perform different behavioral tasks during wakefulness and allow the consolidation or removal of unnecessary memory traces during sleep (Kay and Frank, 2019). Local GABAergic interneurons can efficiently control the spike timing of principal neurons via their precise targeting of different regions of the somato-dendritic arborizations of pyramidal cells (Gentet, 2012). Layer 2/3 of the somatosensory barrel cortex (wS1) is involved in the processing of whisker sensory information and can perform computations of both simple and complex tasks in a goal-oriented manner (Petersen, 2019). While PV cells primarily exert perisomatic inhibition onto excitatory cells (Kawaguchi and Kubota, 1997), SST cells, comprised essentially of Martinotti-type neurons (Jiang et al., 2015) control the dendritic encoding of synaptic inputs in the somatosensory cortex (Murayama et al., 2009; Gentet et al., 2012). How local GABAergic inhibitory cells regulate this circuit during different vigilance states of the sleep/wake cycle, and how ongoing brain oscillations or whisking behaviors modulate their firing patterns or activity, remains however poorly understood.

In this study, we first performed calcium-imaging of neuronal population activity in layer 2/3 of wS1 in different transgenic mouse lines where genetically-identified subpopulations of GABAergic neurons could be visualized. This initial study first revealed that PV cell activity is increased during both NREM and REM sleep stages, VIP activity is increased specifically during REM sleep, and SST and PYR neuronal activity remains overall stable over the time course of the sleep/wake cycle. These findings share both similarities and differences with a previous study in the motor cortex, showing elevated PV cell activity during REM, but reduced activity of PV, SST and PYR neurons during NREM compared to wakefulness (Niethard et al., 2016). Such discrepancies could be explained by differences in the brain region under investigation, or experimental procedures. In our study, mice were habituated to the head-fixation device for considerably longer periods of time than in the study by Niethard and Colleagues (3 weeks in the present study versus one day before imaging sessions began). Our animals might therefore have displayed reduced levels of stress from the head-restraint during imaging sessions. In any case, our results under calcium-imaging were confirmed by our targeted recordings of individual neurons in loose-patch or whole-cell patch-clamp configurations. Such recordings also offer the advantage of offering a more precise temporal resolution of AP firing than calcium-imaging, and allowed us to simultaneously record the LFP by placing a glass pipette within layer 2/3 of the same column from which our targeted single-

unit recordings originated (Perrenoud et al., 2016). Using this combination of recording elements, we first confirmed our findings that overall activity of PV cells is significantly increased in both NREM and REM sleep compared to Wake, and that VIP cells are specifically more active during REM sleep. These measures of cell type-specific average firing activity according to vigilance states offer a good indicator that the excitatory/inhibitory balance is highly dynamic across the sleep/wake cycle. In our study, we further investigated those dynamics along the time course of vigilance states and at clear-cut transitions between vigilance states. We found that PV activity rapidly decreased at wake onset from NREM and REM sleep episodes, as previously reported for transitions from NREM to wake for fast-spiking, putative PV neurons in the mouse frontal cortex (Miyawaki et al., 2019). This rapid decrease could be due to the rapid activation of the ascending arousal system. For example, wake-specific histaminergic neurons of the tuberomammillary nucleus and norepinephrine neurons of the locus ceruleus, both with extensive projections throughout the cerebral cortex, have been shown to rapidly activate at wake onset (Takahashi et al., 2006, 2010).

Notably, we found that distribution of pyramidal cell activity broadened during REM sleep as described by Miyawaki et al. (2019). We therefore decided to split pyramidal cell population into two subgroups on the basis of their basal activity during REM. While activity at the population level remained stable across vigilance states, this separation uncovered more subtle changes in the activity of principal neurons throughout the sleep/wake cycle. The neurons with the highest basal levels of REM activity were significantly less active during wake and NREM sleep, but their firing irregularity was less pronounced than neuron with low REM activity, while neurons with low REM activity did not display any significant overall changes in AP firing frequency across vigilance states.

Interestingly, while the average AP activity of SST neurons remained stable across the sleep/wake cycle, their firing patterns, as well as those of other types of interneurons, shifted to a more burst-like behavior during NREM sleep compared to Wake. This shift could be explained by the more synchronized state of cortex during NREM sleep, with the time windows for neuronal firing being temporally-restricted for all neurons compared to Wake. However, the firing irregularity of GABAergic neurons was differentially modulated during NREM sleep, with increased firing irregularity being present in VIP neurons but not PV nor SST cells. Thus, VIP neurons may play a major role in the re-organization of GABAergic neuronal activity patterns during NREM, through its strong disinhibitory influence over local cortical interneurons (Pfeffer et al., 2013). The important role of VIP neurons firing dynamics during NREM was

further evidenced by their firing behavior during sequences of delta waves-spindles. Delta waves preceding spindles have recently been shown to play a role in memory consolidation via the recruitment of local cell assemblies performing isolated cortical computations (Todorova and Zugaro, 2019). Interestingly, we observed subtle temporal changes in the activity of GABAergic VIP neurons over the time course of LFP delta – spindle sequences that suggest that the disinhibitory control exerted by this interneuronal subpopulation is reduced during delta events, but rises quickly towards the end, and at the time of emergence of spindle oscillations (Fig. 6 H). This could lead to short, but temporally precise time windows, during which removal of inhibition onto excitatory cell assemblies would allow cortical replay sequences to be carried out (Ji and Wilson, 2007).

During NREM sleep, we further found an increased activity during periods of LFP spindles in both PV and excitatory layer 2/3 pyramidal neurons, but a decrease in SST overall neuronal activity, as previously reported across different cortical regions (Niethard et al., 2018). In addition, we report that amongst those VIP and PV neurons that were modulated by spindle oscillations, PV cells fired at a preferentially earlier phase than their VIP counterparts, indicating that these cells might contribute to the emergence and/or amplification of these LFP oscillations through their sequential activation. While spindles are considered to be thalamic in origin, and induce phase-locking of rhythms in both neocortical and hippocampal networks (Latchoumane et al., 2017), it is currently unclear whether the spindles that we recorded on our LFP electrodes are mainly a representation of these propagating spindles, an emanation of local circuit properties, or a combination of both, as LFPs are notoriously difficult to interpret (Einevoll et al., 2013).

A majority of local cortical neurons were modulated by ongoing LFP slow delta waves during both wake and sleep. Only SST neurons displayed relatively weaker modulation, in accordance with a previous finding suggesting that their membrane potential dynamics were not correlated to those of surrounding neurons during quiet wakefulness (Gentet et al., 2012). Interestingly, this weaker modulation remained stable throughout the sleep/wake cycle. During theta oscillations recorded in Wake and REM sleep however, a shift in the sequence of activation of different subpopulations was observed. While most modulated GABAergic neurons fired ahead of principal cells during active wake theta cycles, they fired later than excitatory neurons during NREM sleep theta cycles, illustrating that cortical computations performed during these oscillations may be fundamentally different during active wakefulness, when animals are engaged in sensory tasks, than during NREM sleep, when they are not (Fernandez et al., 2017).

Whisking behavior in rodents is associated with their nocturnal foraging habits, as they explore their environment through the whisker sensing of surrounding objects (Petersen, 2014). While during REM sleep, mice display, just like humans, rapid-eye movements (Fulda et al., 2011), we surprisingly observed long-lasting bouts of whisking behavior in mice during REM sleep, associated with complete muscle atonia. We distinguish these bouts of whisking from previously reported REM “twitches” in the rat neonate (Tiriac et al., 2012) by their durations (over 1 second versus a few tens of milliseconds for twitches) and the amplitude of their protraction. Nevertheless, they differed from their wake counterparts in their higher peak frequency of oscillations, corresponding to smaller but faster protraction/retraction sweeps from an already protracted whisker position from rest. In this paper, we first confirm results obtained from previous studies showing whisking-related changes in interneuronal AP firing in awake head-fixed mice: while PV cells displayed heterogeneous modulation of their activity following the onset of free whisking, VIP neurons were more consistently activated during whisking, while SST firing was reduced, as previous findings (Gentet et al., 2010, 2012; Lee et al., 2013; Muñoz et al., 2017). During REM sleep however, whisking induced smaller increases and no significant decrease in VIP and SST neuronal activity, respectively. This differential modulation of VIP neurons and their target SST cells could help isolate the local circuit from top-down cortico-cortical and thalamic afferents impinging onto distal dendrites of excitatory principal pyramidal cells (Oda et al., 2004; Larkum et al., 2009). This raises the interesting prospect that REM whisking bouts might correspond to a brain state during which internalization of awake whisking behavior is re-experienced.

In summary, our study sheds light on the complex interplay between local cortical interneuronal firing activity and ongoing brain oscillatory dynamics across different vigilance states. Especially, we have shown that PV and VIP neurons may play prominent roles in dynamically suppressing, disengaging, or activating the local circuits at important time points of the sleep/wake cycle. The functional consequences of this dynamic interplay might be better observed at the level of perception of sensory inputs during sleep (Velluti, 1997; Nir et al., 2015) or consolidation of sensory memory traces acquired during wake (Buzsáki, 1989; van Dongen et al., 2011).

BIBLIOGRAPHY

- Atallah B V., Bruns W, Carandini M, Scanziani M (2012) Parvalbumin-Expressing Interneurons Linearly Transform Cortical Responses to Visual Stimuli. *Neuron* 73:159–170 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2011.12.013>.
- Bates D, Mächler M, Bolker BM, Walker SC (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw* 67.
- Born J, Rasch B, Gais S (2006) Sleep to remember. *Neuroscientist* 12:410–424.
- Bouchard MB, Chen BR, Burgess SA, Hillman EMC (2009) Ultra-fast multispectral optical imaging of cortical oxygenation, blood flow, and intracellular calcium dynamics. *J Neuropathol Exp Neurol* 17:509–509.
- Buzsáki G (1989) Two-stage model of memory trace formation: A role for “noisy” brain states. *Neuroscience* 31:551–570.
- Buzsaki G (2002) Theta Oscillations in the Hippocampus. *Neuron* 33:325–340.
- Chen TW, Wardill TJ, Sun Y, Pulver SR, Renninger SL, Baohan A, Schreiter ER, Kerr RA, Orger MB, Jayaraman V, Looger LL, Svoboda K, Kim DS (2013) Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature* 499:295–300.
- Cirelli C (2017) Sleep, synaptic homeostasis and neuronal firing rates. *Curr Opin Neurobiol* 44:72–79 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.conb.2017.03.016>.
- Contreras D, Steriade M (1995) Cellular basis of EEG slow rhythms: A study of dynamic corticothalamic relationships. *J Neurosci* 15:604–622.
- Crunelli V, Cope DW, Hughes SW (2011) UKPMC Funders Group Thalamic T-type Ca²⁺ channels and NREM sleep. *40:175–190*.
- Einevoll GT, Kayser C, Logothetis NK, Panzeri S (2013) Modelling and analysis of local field potentials for studying the function of cortical circuits. *Nat Rev Neurosci* 14:770–785.
- Fang G, Zhang C, Xia Y, Lai Y, Liu T, You Z, Yao D (2009) The effect of different EEG derivations on sleep staging in rats: The frontal midline-parietal bipolar electrode for sleep scoring. *Physiol Meas* 30:589–601.
- Fernandez, L., Lüthi, A. (2020). Sleep spindles: mechanisms and functions. *Physiological Reviews* 100(2), 805-868.
- Fulda S, Romanowski CPN, Becker A, Wetter TC, Kimura M, Fenzel T (2011) Rapid eye movements during sleep in mice: High trait-like stability qualifies rapid eye movement density for characterization of phenotypic variation in sleep patterns of rodents. *BMC Neuroscience*, 12-110.

- Funk CM, Peelman K, Bellesi M, Marshall W, Cirelli C, Tononi G (2017) Role of somatostatin-positive cortical interneurons in the generation of sleep slow waves. *J Neurosci* 37:9132–9148.
- Gentet LJ (2012) Functional diversity of supragranular GABAergic neurons in the barrel cortex. *Front Neural Circuits* 6:1–13.
- Gentet LJ, Avermann M, Matyas F, Staiger JF, Petersen CCH (2010) Membrane Potential Dynamics of GABAergic Neurons in the Barrel Cortex of Behaving Mice. *Neuron* 65:422–435 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2010.01.006>.
- Girardeau G, Benchenane K, Wiener SI, Buzsáki G, Zugaro MB (2009) Selective suppression of hippocampal ripples impairs spatial memory. *Nat Neurosci* 12:1222–1223 Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nn.2384>.
- Hobson JA, McCarley RW (1971) Cortical unit activity in sleep and waking. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 30:97–112.
- Ji D, Wilson MA (2007) Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nat Neurosci* 10:100–107.
- Jiang X, Lachance M, Rossignol E (2016) Involvement of cortical fast-spiking parvalbumin-positive basket cells in epilepsy. *Prog Brain Res* 226.
- Kawaguchi Y, Kubota Y (1997) GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cereb Cortex* 7:476–486.
- Kay K, Frank LM (2019) Three brain states in the hippocampus and cortex. *Hippocampus* 29:184–238.
- Koike BDV, Farias KS, Billwiller F, Almeida-Filho D, Libourel PA, Tiran-Cappello A, Parmentier R, Blanco W, Ribeiro S, Luppi PH, Queiroz CM (2017) Electrophysiological evidence that the retrosplenial cortex displays a strong and specific activation phased with hippocampal theta during paradoxical (REM) sleep. *J Neurosci* 37:8003–8013.
- Larkum ME (2009) Synaptic Integration in Tuft Dendrites. *Science* (80-) 756:756–761.
- Latchoumane CF V., Ngo HV V., Born J, Shin HS (2017) Thalamic Spindles Promote Memory Formation during Sleep through Triple Phase-Locking of Cortical, Thalamic, and Hippocampal Rhythms. *Neuron* 95:424–435.e6 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2017.06.025>.
- Lee S, Kruglikov I, Huang ZJ, Fishell G, Rudy B (2013) A disinhibitory circuit mediates motor integration in the somatosensory cortex. *Nat Neurosci* 16:1662–1670 Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nn.3544>.
- Maingret N, Girardeau G, Todorova R, Goutierre M, Zugaro M (2016) Hippocampo-cortical coupling mediates memory consolidation during sleep. *Nat Neurosci* 19:959–964.

- Margrie TW, Meyer AH, Caputi A, Monyer H, Hasan MT, Schaefer AT, Denk W, Brecht M (2003) Targeted whole-cell recordings in the mammalian brain in vivo. *Neuron* 39:911–918.
- Miyawaki H, Watson BO, Diba K (2019) Neuronal firing rates diverge during REM and homogenize during non-REM OPEN. *Sci Rep* 9 Available at: www.nature.com/scientificreports/ [Accessed August 21, 2020].
- Montgomery SM, Sirota A, Buzsáki G (2008) Theta and gamma coordination of hippocampal networks during waking and rapid eye movement sleep. *J Neurosci* 28:6731–6741.
- Muñoz W, Tremblay R, Levenstein D, Rudy B (2017) Layer-specific modulation of neocortical dendritic inhibition during active wakefulness. *Science* (80-) 355:954 Available at: www.sciencemag.org/content/355/6328/954/suppl/DC1 [Accessed August 6, 2020].
- Murayama M, Larkum ME (2009) Enhanced dendritic activity in awake rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:20482–20486.
- Niethard N, Hasegawa M, Itokazu T, Oyanedel CN, Born J, Sato TR (2016) Sleep-Stage-Specific Regulation of Cortical Excitation and Inhibition. *Curr Biol* 26:2739–2749 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2016.08.035><http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2016.08.035> [Accessed July 9, 2020].
- Niethard N, Ngo H-V V, Ehrlich I, Born J, Hertie D (2018) Cortical circuit activity underlying sleep slow oscillations and spindles. *PNAS* 115 Available at: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1805517115 [Accessed July 8, 2020].
- Nir Y, Vyazovskiy V V., Cirelli C, Banks MI, Tononi G (2015) Auditory responses and stimulus-specific adaptation in rat auditory cortex are preserved across NREM and REM sleep. *Cereb Cortex* 25:1362–1378.
- Oda S, Kishi K, Yang J, Chen S, Yokofujita J, Igarashi H, Tanihata S, Kuroda M (2004) Thalamocortical projection from the ventral posteromedial nucleus sends its collaterals to layer I of the primary somatosensory cortex in rat. *Neurosci Lett* 367:394–398.
- Perrenoud Q, Pennartz CMA, Gentet LJ (2016) Membrane Potential Dynamics of Spontaneous and Visually Evoked Gamma Activity in V1 of Awake Mice. *PLoS Biol* 14:1–21.
- Petersen CCH (2014) Cortical control of whisker movement. *Annu Rev Neurosci* 37:183–203.
- Petersen CCH (2019) Sensorimotor processing in the rodent barrel cortex. *Nat Rev Neurosci* 20:533–546 Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/s41583-019-0200-y>.
- Peyrache A, Battaglia FP, Destexhe A (2011) Inhibition recruitment in prefrontal cortex during sleep spindles and gating of hippocampal inputs. *PNAS* 108 Available at: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1103612108 [Accessed July 9, 2020].

- Pfeffer CK, Xue M, He M, Huang ZJ, Scanziani M (2013) Inhibition of inhibition in visual cortex: The logic of connections between molecularly distinct interneurons. *Nat Neurosci* 16:1068–1076 Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nn.3446>.
- Prönneke A, Witte M, Möck M, Staiger JF (2020) Neuromodulation leads to a burst-tonic switch in a subset of VIP neurons in mouse primary somatosensory (Barrel) cortex. *Cereb Cortex* 30:488–504.
- Steriade M, Timofeev I, Grenier F (2001) Natural Waking and Sleep States: A View From Inside Neocortical Neurons. *J Physiol* Available at: www.jn.physiology.org [Accessed July 9, 2020].
- Steriade M, Timofeev I (2003) Neuronal plasticity in thalamocortical networks during sleep and waking oscillations. *Neuron* 37:563–576.
- Takahashi K, Lin JS, Sakai K (2006) Neuronal activity of histaminergic tuberomammillary neurons during wake-sleep states in the mouse. *J Neurosci* 26:10292–10298.
- Tiriac A, Uitermarkt BD, Fanning AS, Sokoloff G, Blumberg MS (2012) Rapid whisker movements in sleeping newborn rats. *Curr Biol* 22:2075–2080 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2012.09.009>.
- Todorova R, Zugaro M (2019) Isolated cortical computations during delta waves support memory consolidation. *Science* (80-) 366 Available at: <http://science.sciencemag.org/>.
- Tononi, Giulio and Cirelli C (2009) Sleep and the Price of Plasticity: From Synaptic to cellular Homeostasis to Memory Consolidation and Integration. *Neuron* 49:1841–1850.
- Tremblay R, Lee S, Rudy B (2016) GABAergic Interneurons in the Neocortex: From Cellular Properties to Circuits. *Neuron* 91:260–292 Available at: <http://dx.doi.org/>. [Accessed August 24, 2020].
- Urbain N, Fourcaud-Trocmé N, Laheux S, Salin PA, Gentet LJ (2019) Brain-State-Dependent Modulation of Neuronal Firing and Membrane Potential Dynamics in the Somatosensory Thalamus during Natural Sleep. *Cell Rep* 26:1443-1457.e5.
- van Dongen E V., Takashima A, Barth M, Fernández G (2011) Functional connectivity during light sleep is correlated with memory performance for face-location associations. *Neuroimage* 57:262–270 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.04.019>.
- Vaz AP, Inati SK, Zaghoul KA (2020) Replay of cortical spiking sequences during human memory retrieval. *Science* (80-) 367:1131–1134.
- Velluti RA (1997) Interactions between sleep and sensory physiology. *J Sleep Res* 6:61–77.
- Vijayan S, Hale GJ, Moore CI, Brown EN, Wilson M (2010) Activity in the barrel cortex during active behavior and sleep. *J Neurophysiol* 103:2074–2084.

Vinck M, Bos JJ, van Mourik-Donga LA, Oplaat KT, Klein GA, Jackson JC, Gentet LJ, Pennartz CMA (2016) Cell-type and state-dependent synchronization among rodent somatosensory, visual, perirhinal cortex, and hippocampus CA1. *Front Syst Neurosci* 9:1–25.

Vyazovskiy V V., Olcese U, Lazimy YM, Faraguna U, Esser SK, Williams JC, Cirelli C, Tononi G (2009) Cortical Firing and Sleep Homeostasis. *Neuron* 63:865–878.

Watson BO, Levenstein D, Greene JP, Gelinas JN, Buzsáki G (2016) Network Homeostasis and State Dynamics of Neocortical Sleep. *Neuron* 90:839–852.

Welker WI (1964) Analysis of sniffing of the albino rat. *Behav Leiden* 22:223–244.

Xiaolong Jiang, Shen S, Cadwell CR, Berens P, Sinz F, Ecker AS, Patel S, Tolias AS (2015) Principles of connectivity among morphologically defined cell types in adult neocortex. *Science* (80-) 350.

Yu J, Hu H, Agmon A, Svoboda K (2019) Recruitment of GABAergic Interneurons in the Barrel Cortex during Active Tactile Behavior. *Neuron* 104:412–427 Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.07.027>.

Supplementary Information

In this section, we present additional data and analysis that is not included in the previously submitted article. In addition, we provide more detailed information on our experimental procedures.

Supplementary Methods

Habituation

The method of head-restraining non-anesthetized rodents is now routinely performed in many labs around the world. However, it has only recently been used for the study of natural sleep (Niethard et al., 2016; Yüzgeç et al., 2018; Urbain et al., 2019). Therefore, we decided to establish whether mice could fall asleep under our experimental conditions; ie : when performing two-photon microscopy, in a room which can be noisy due to the presence of the laser chiller and from the galvanometric mirror scanning that occurs during imaging. Mice were first handled for five consecutive days, and subsequently habituated to the head-restraint for 10-15 days in incremental durations until reaching 3 hours. At this stage, we monitored EEG and EMG activity while the mouse was positioned under the objective of the two-photon microscope. Automatic scoring from a custom-written Matlab routine based on the variance of EEG and EMG, the theta/delta ratio and the spindles power (10-17 Hz) revealed that mice were capable of falling naturally asleep and enter REM sleep stage after around 5 days (Figure S1 A & B). The percentage of time spent in REM sleep reached 6% after ten days, a proportion similar to that previously observed in freely-moving mice (Soltani et al., 2019). We therefore conclude that our experimental conditions are adequate for the study of natural sleep in head-restrained mice.

Calcium imaging study

Fifteen mice were used in total for the calcium imaging study : 5 PV Cre TdTomato, 5 VIP Cre TdTomato and 5 SST Cre TdTomato mice. Imaging was performed on average for 2-3 days, and each daily session lasted 3 hours maximum. In mean, 8 different sites were recorded in the layer II/III per animal, and each site was recorded on average during 7 minutes to avoid bleaching. All detailed statistics relative to this experiment are summarized in the Table S2.

Targeted patch-clamp study

In the patch-clamp study, 21 PV Cre TdTomato, 21 VIP Cre TdTomato and 18 SST Cre TdTomato mice were used. Detailed statistics relative to the number of recorded cells, the mean depth of the recordings, and other parameters are summarized in Table S3. While glass pipettes need to be regularly changed, leading to a potential disturbance of the animal, we found no difference in sleep quality between this study and the calcium imaging study (about 42% of Wake, 41% of NREM and 16% of REM sleep) (Table S2 & Table S4).

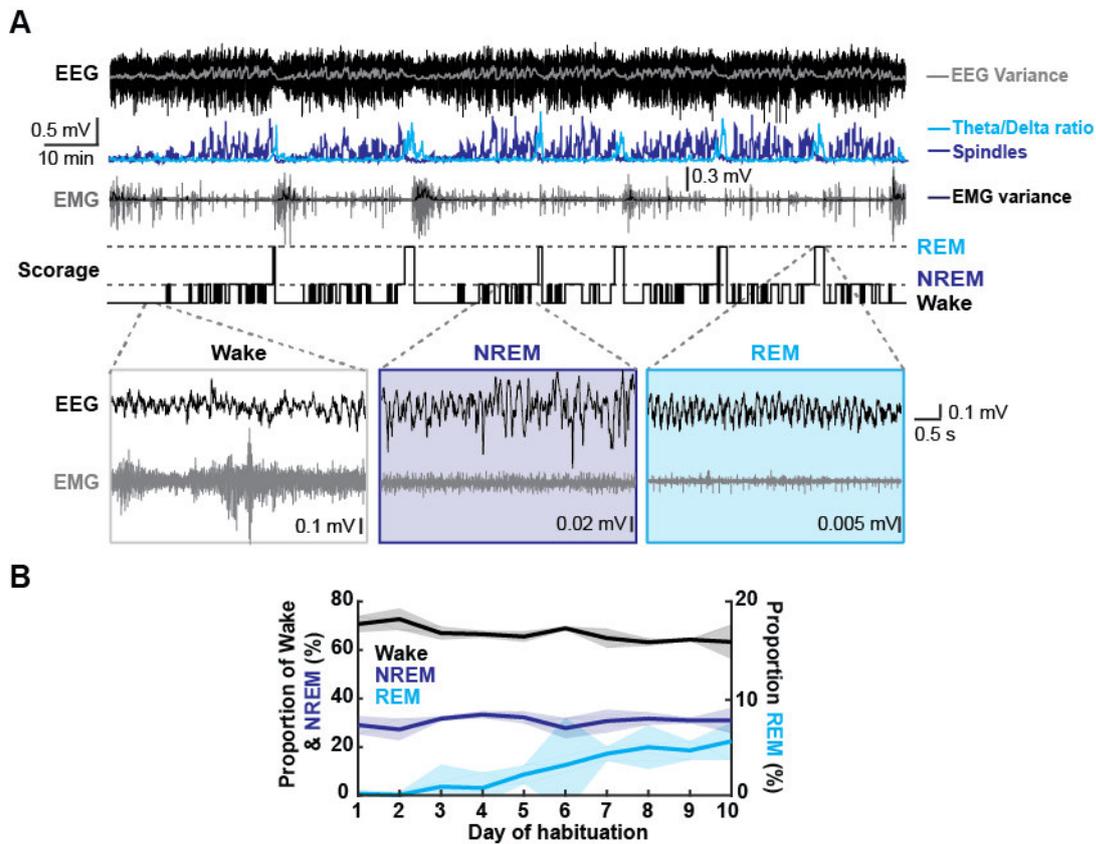


FIGURE S1: Scoring of vigilance states. A. Identification of vigilance states using EEG and EMG recordings. The variance of EEG and EMG, the theta/delta ratio and the spindles power (10-17 Hz) were used for manually sleep scoring of animals. **B.** Proportion of Wake, NREM and REM sleep during head-restrained mice habituation. Here, scoring was performed automatically by a custom routine written in our lab in Matlab during the first 10 days of head-restraint habituation (n = 5 mice). Mean and confidence intervals are represented.

| Animal number | Mouse genotype & name | Imaging session (in day) | Number of video | Number of recording site | Mean recording time per site \pm std (seconds) | Mean depth per site \pm std (μ m) | Number of pyramidal cells recorded | Number of Interneurons recorded | Number of Wake episode recorded | Number of NREM episode recorded | Number of REM episode recorded | Time spent in Wake (%) | Time spent in NREM (%) | Time spent in REM (%) |
|---------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|--|--|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| 1 | PV12033 | 1 | 2 | 2 | 178 \pm 83 | -176,5 \pm 30,4 | 21 | 13 | 3 | 2 | 2 | 27,8 | 19,9 | 52,2 |
| 2 | PV12052 | 2 | 7 | 7 | 203 \pm 58 | -183,9 \pm 25,5 | 198 | 46 | 13 | 11 | 5 | 32,9 | 49,9 | 17,2 |
| 3 | PV12098 | 3 | 20 | 20 | 237 \pm 0 | -230,1 \pm 26,5 | 272 | 155 | 58 | 66 | 11 | 34,1 | 53,0 | 12,8 |
| 4 | PV12101 | 3 | 13 | 13 | 237 \pm 0 | -213,2 \pm 27,5 | 268 | 79 | 42 | 42 | 6 | 44,8 | 46,0 | 9,2 |
| 5 | PV12130 | 1 | 9 | 3 | 711 \pm 237 | -216,3 \pm 30,1 | 100 | 17 | 22 | 17 | 5 | 65,0 | 22,9 | 12,0 |
| 6 | VIP1090 | 1 | 6 | 2 | 711 \pm 0 | -161,0 \pm 8,5 | 39 | 12 | 14 | 12 | 4 | 46,3 | 26,2 | 27,4 |
| 7 | VIP1091 | 3 | 11 | 11 | 221 \pm 28 | -145,0 \pm 21,0 | 158 | 42 | 27 | 33 | 6 | 36,2 | 48,1 | 15,7 |
| 8 | VIP1137 | 1 | 5 | 5 | 225 \pm 26 | <i>missing values</i> | 47 | 16 | 8 | 10 | 5 | 31,0 | 36,4 | 32,6 |
| 9 | VIP1138 | 2 | 12 | 10 | 385 \pm 241 | -164,8 \pm 19,6 | 187 | 39 | 24 | 27 | 8 | 51,0 | 39,4 | 9,7 |
| 10 | VIP1139 | 2 | 8 | 2 | 948 \pm 0 | -182 \pm 25,5 | 52 | 4 | 29 | 25 | 2 | 63,2 | 33,5 | 3,3 |
| 11 | SOM5017 | 1 | 9 | 9 | 178 \pm 42 | -192,9 \pm 20,4 | 133 | 17 | 13 | 15 | 7 | 34,2 | 22,0 | 43,8 |
| 12 | SOM5034 | 3 | 24 | 13 | 410 \pm 311 | -203,2 \pm 22,1 | 227 | 50 | 59 | 65 | 14 | 28,7 | 54,4 | 16,9 |
| 13 | SOM5037 | 4 | 47 | 15 | 741 \pm 210 | -209,3 \pm 23,8 | 430 | 77 | 138 | 143 | 20 | 42,9 | 48,3 | 8,8 |
| 14 | SOM5046 | 3 | 21 | 7 | 711 \pm 335 | -211,1 \pm 38,8 | 165 | 25 | 77 | 71 | 5 | 53,9 | 43,9 | 2,2 |
| 15 | SOM163 | 7 | 17 | 4 | 901 \pm 352 | -217,5 \pm 32,9 | 65 | 15 | 62 | 57 | 2 | 69,5 | 28,9 | 1,7 |
| | Mean per mouse \pm std | 2,5 \pm 1,5 | 14 \pm 11,1 | 8,2 \pm 5,4 | 466 \pm 286 | -193,3 \pm 25,2 | 157,5 \pm 111,9 | 40,5 \pm 39,2 | 39,3 \pm 35,4 | 39,7 \pm 36,6 | 6,8 \pm 4,9 | 44,1 \pm 13,8 | 38,2 \pm 11,9 | 17,7 \pm 15,0 |
| | Total | 37 | 211 | 123 | | | 2362 | 607 | 589 | 596 | 102 | | | |

FIGURE S2: Descriptive statistics of calcium imaging experiment per animal.

| | Number of mice | Mean number of recorded cells per mice \pm std | Number of recorded interneurons | Mean depth of recorded interneurons \pm std (μm) | Number of recorded pyramidal cells | Mean depth of recorded pyramidal cells \pm std (μm) |
|--------------------------|----------------|--|---------------------------------|---|------------------------------------|--|
| PV cre td Tomato | 21 | 2,3 \pm 1.5 | 35 | -180,2 \pm 46.0 and 1 unknown | 13 | -218.4 \pm 102.3 and 3 unknown |
| VIP cre td Tomato | 21 | 2.1 \pm 1.3 | 37 | -189,1 \pm 51.4 | 4 | -138 \pm 19.3 and 1 unknown |
| SST cre td Tomato | 18 | 2.0 \pm 0.9 | 34 | -172,9 \pm 34.9 | 5 | -170 \pm 0.0 and 4 unknown |

FIGURE S3: Descriptive statistics of targeted patch-clamp study per animal.

| | Duration of loose patch recordings (min) | Duration of whole cell recordings (min) | Mean Wake quantity \pm std (min) | Mean NREM quantity \pm std (min) | Mean REM quantity \pm std (min) | Mean Wake episode duration \pm std (s) | Mean NREM episode duration \pm std (s) | Mean REM episode duration \pm std (s) |
|-----------------|--|---|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|--|--|---|
| Total | 17.2 \pm 13.6 | 8.6 \pm 8.5 | 7.0 \pm 7.1 (42.3%) | 6.6 \pm 6.4 (39.9%) | 1.8 \pm 1.5 (13.7%) | 48.2 \pm 50.0 | 41.6 \pm 23.0 | 73.4 \pm 42.7 |
| Analyzed | 15 \pm 12.5 | 5.2 \pm 4.8 | 6,3 \pm 6.8 (42.4%) | 6,0 \pm 6.1 (41.5%) | 1,8 \pm 1.5 (16.1%) | 54,2 \pm 52.0 | 46.6 \pm 16.1 | 77,7 \pm 41.1 |

FIGURE S4: Detailed description of recording and sleep episode durations in totality and in our analysis during patch clamp recordings.. In *Total*, vigilance states scored as undefined are not represented (4.1% of the signal in mean). In *Analyzed*, all episodes lasting less than 20 seconds and undefined vigilance states were removed from the analysis.

Supplementary Results

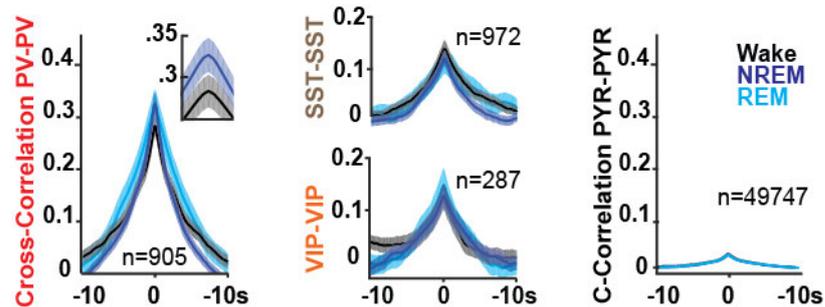


FIGURE S5: Cross-correlations comparison of changes in fluorescence between neuronal subtypes in Wake, NREM and REM. Means and confidence intervals are represented.

In the calcium imaging study, unlabeled putative pyramidal cells and genetically-identified interneuron sub-types were recorded simultaneously. Thus, we wondered whether changes in calcium fluorescence in neurons were correlated with other neurons of the same type and if this cross-correlation was modified according to vigilance states (Figure S5). Results indicate a high level of cross-correlation in the calcium activity of PV cells especially during NREM compared to Wake at the time $t = 0$ of the cross-correlation plot (Wake : 0.28 ± 0.02 ; NREM : 0.33 ± 0.02 ; REM : 0.32 ± 0.03 ; $n = 905$; non-overlapping confidence intervals). For VIP, SST and PYR we observed weaker cross-correlation, and no significant differences were observed between sub-states (PYR, Wake : 0.02 ± 0.002 ; NREM, 0.02 ± 0.001 , REM, 0.02 ± 0.001 , $n = 49747$; VIP : Wake, 0.12 ± 0.03 , NREM, 0.12 ± 0.03 , REM, 0.14 ± 0.05 , $n = 287$; SST, Wake : 0.12 ± 0.02 ; NREM : 0.10 ± 0.01 ; REM : 0.10 ± 0.03 , $n = 972$) (Figure S5). The weak cross-correlation observed within the pyramidal neurons population was not surprising given that only membrane potentials of these neurons are correlated with each other, whereas their action potentials are not (Poulet and Petersen, 2008; Gentet et al., 2010). The strong cross-correlation at the level of calcium-imaging observed in the PV cells population has also been previously reported. In particular, in mouse primary visual cortex, PV cells calcium activity was shown to be more correlated with each other than that of SST neurons (Kwan and Dan, 2012).

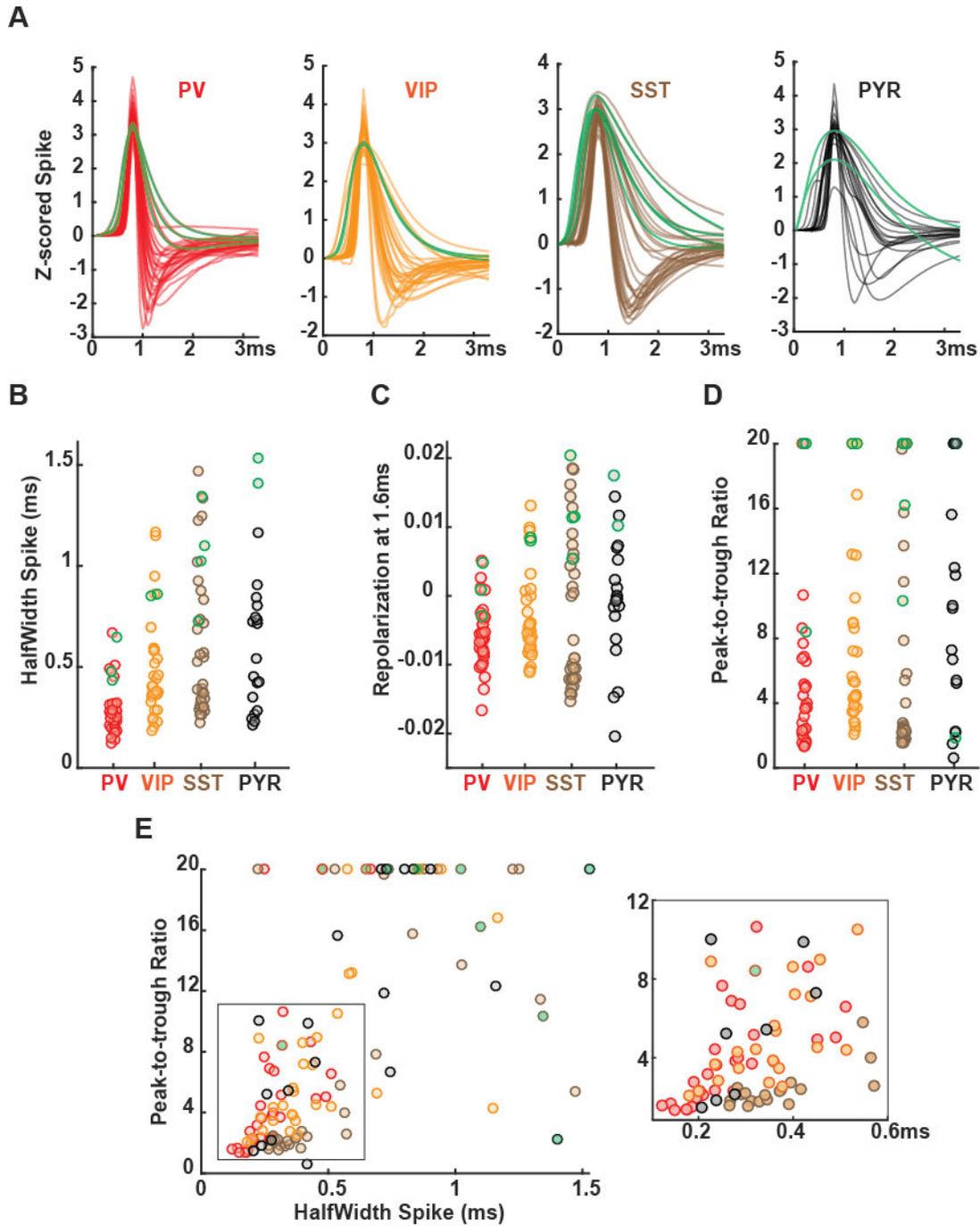


FIGURE S6: Spike properties of interneurons and pyramidal cells. **A.** Average spike waveforms for each neuron according to their neuronal subtype. Spike amplitudes were z-scored, aligned at the peak and baselined at 0ms. Each line represents a cell, and neurons patched in the whole cell mode were colored in green. **B.** Half-width (ms) of each neuron according to their neuronal subtype. **C.** Repolarization at 1.6 ms of each neuron according to their neuronal subtype. **D.** Peak-to-trough ratio of each neuron according to their neuronal subtype. **E.** Peak-to-trough ratio according to the half-width (ms). Each dot represents a cell. Dots of neurons patched in the whole cell mode were filled in green. PV neurons are in red, VIP in orange, SST in brown and PYR cells in black.

The combination of transgenic mice expressing tdTomato in identified sub-types of interneurons and the two photon microscope allowed us to specifically target our recordings on GABAergic neurons or putative pyramidal cells in the cortex. In addition to the visual identification of cells, we also analyzed for the patch clamp study, the spike properties of all neurons. First the average waveform of the first 100 recorded spikes was computed for each cell patched either in the loose patch mode and in the whole cell mode (Figure S6 A). Whereas PV and PYR cells displayed respectively narrow and wide waveform, spike profiles of SST and VIP cells were less recognizable. However, spike properties as halfwidth, the repolarization at 1.6 ms and the peak to trough ratio, failed to clearly dissociate different neuronal subtypes (Figure S6 B, C and D). The configuration in which most of the cells have been patched, ie loose patch mode, were probably not fully appropriate to distinguish different class of neurons. Indeed when we focus our attention on neurons patched in the whole cell mode (in green), spike properties seemed to be more determinant especially for the halfwidth and the repolarization at 1.6 ms. Nevertheless, some clusters were noticeable when plotting the peak to trough ratio as a function of the halfwidth (Figure S6 E).

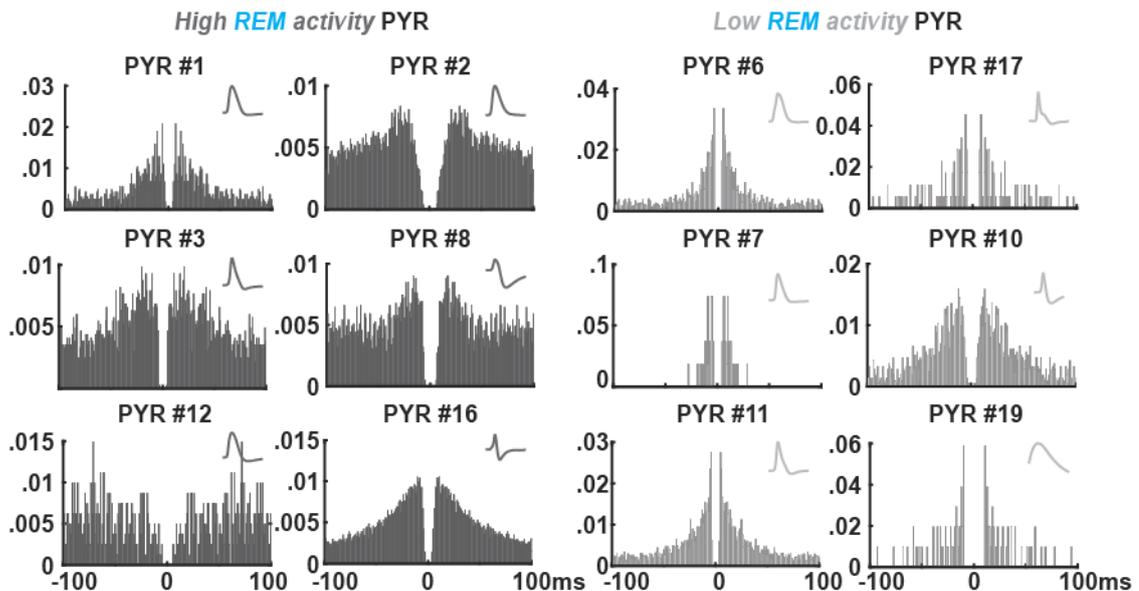


FIGURE S7: Pyramidal cells autocorrelograms. Left : autocorrelograms for six representative pyramidal cells with a high REM activity. Right : autocorrelograms for six representative pyramidal cells with a low REM activity. Insets : corresponding spike waveform. All cells shown here were patched in the loose-patch mode, except PYR #19 (whole-cell patch-clamp).

The detailed analysis of AP frequency of pyramidal cells revealed that the neuronal population could be divided according to their level of activity during REM sleep. Because their firing behavior during sleep were clearly different, we wondered if their discharge proprieties also

were. On the figure S7, autocorrelograms of six representative pyramidal neurons during Wake for each groups were displayed. While spike waveform of neurons were very similar between the two groups, pyramidal cells with a low REM activity displayed a more bursting profile than high REM activity pyramidal neurons. Pattern of discharge remained similar in NREM and REM on autocorrelogram plots (data not shown). This finding reinforces the idea that pyramidal cells are not an homogeneous population, and that their firing profile could give a clue on how sleep affects their AP frequency.

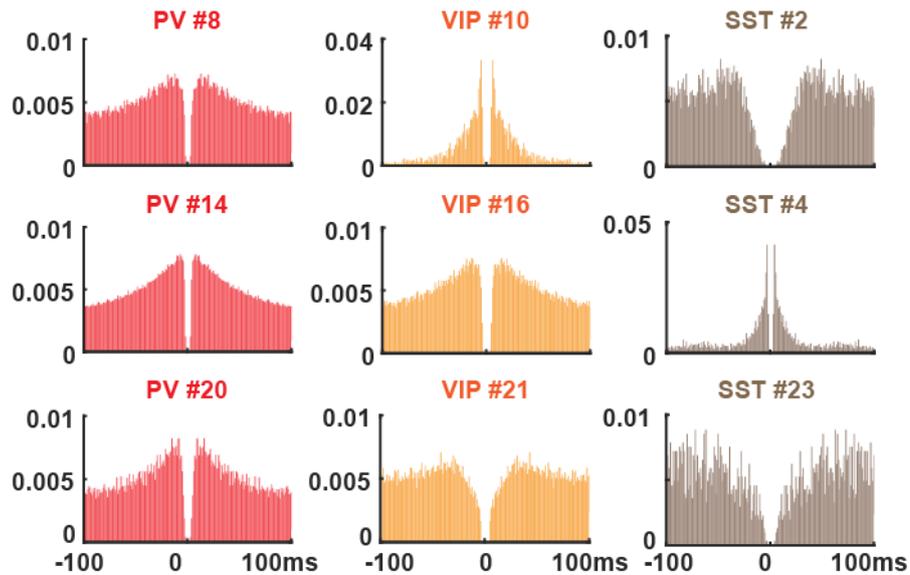


FIGURE S8: Interneuron autocorrelograms. Examples of representative autocorrelograms of three neurons according to their neuronal subtype.

On figure S8, autocorrelograms for three representative PV cells appear homogeneous while autocorrelograms for VIP and SST display both bursting-like (VIP #10, SST #4) and non-bursting behaviors. Those findings are closed to what we can observed in the literature (Peyrache and Destexhe, 2019).

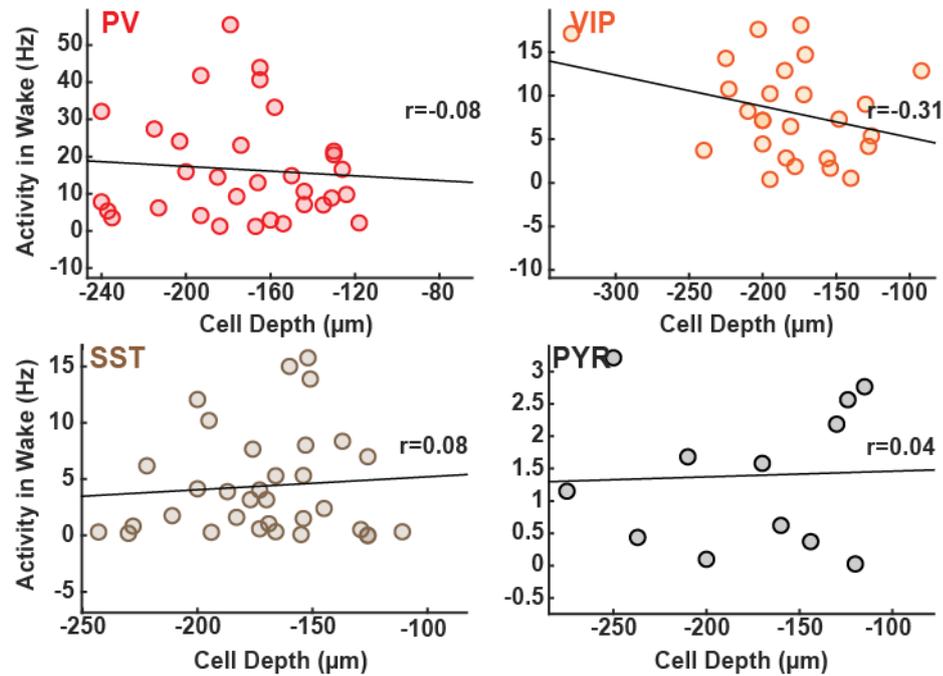


FIGURE S9: AP firing rate vs cell depth plots. Each dot represents a cell and the r-value of the Pearson coefficient is indicated on the right of each graph. No significant correlation was found. PV cells are in red, VIP in orange, SST in brown and PYR cells in black.

To complete the characterisation of recorded neurons, we wondered if the depth of neurons could have an impact on the mean firing rate of cells (Figure S9). All recordings were performed in the layer II/III, approximately $-128 \mu\text{m}$ to $-418 \mu\text{m}$ below the pia in mice (Lefort et al., 2009), but most of neurons were patched above $-250 \mu\text{m}$. Pearson correlations revealed that position of neurons inside the layer II/III did not have an impact on cells AP frequency during wakefulness.

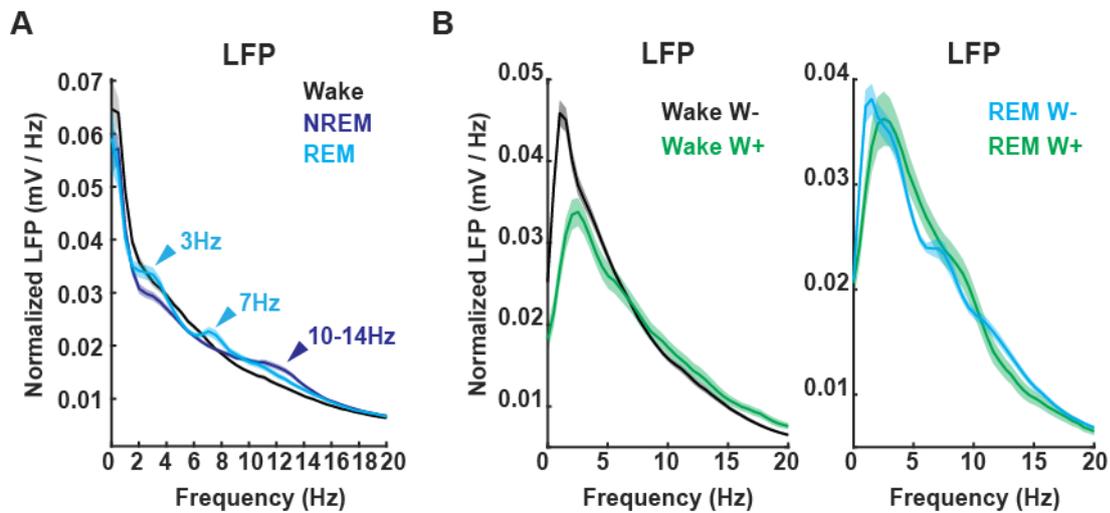


FIGURE S10: Spectral analysis of LFPs during different vigilance states. **A.** Spectral analysis of LFPs during wake in black, NREM sleep in blue, and REM sleep in cyan. **B.** Left, spectral analysis of LFPs during quiet wake (i.e. no whisking and no twitches W- in black), and during active wake with whisking (W+, in green). Right, spectral analysis of LFPs during quiet REM sleep (i.e. no whisking and no twitches W- in cyan), and during active REM sleep with whisking (W+, in green). Mean and confidence interval are represented.

Nearby the patch clamp pipette, LFP recording was performed simultaneously in order to appreciate the activity of the local cortical network. Several vigilance states were scored in our experiment. First we dissociated Wake from NREM and REM, thanks to the EEG/EMG recordings. Because the quality of the different LFP could be highly variable according to the recording session, we decided to normalized raw signal of LFP by the mean and the standard deviation. The spectral analysis of the grand average normalized LFP revealed that NREM sleep resulted in an increase of oscillations between 10 to 15 Hz and that REM sleep conducted to an increase power at nearly 3 and 7 Hz (Figure S10 A) as expected (Urbain et al., 2019; Funk et al., 2016). Thus, thanks to the monitoring of the C2 whisker, we identified bouts of whisking (> 200ms and > 20°). While no whisking bouts was identified during NREM sleep, we observed a non negligible proportion of whisking during both Wake and REM sleep. Therefore, those two main vigilance states were split according to the presence or not of whisker movements. In wake, whisking reduced low frequency oscillations (0 to 5 Hz) on the LFP. Those observations are in accordance with literature, showing an activation of network during active wake (). While the impact of whisking occurring in Wake on cortical activity have been yet described, whisking in REM sleep have been poorly studied (Tiriatic et al., 2012). Unlike in wake, no reduction of low frequency rate were observed on LFP potential during whisking in REM sleep (Figure S10 B).

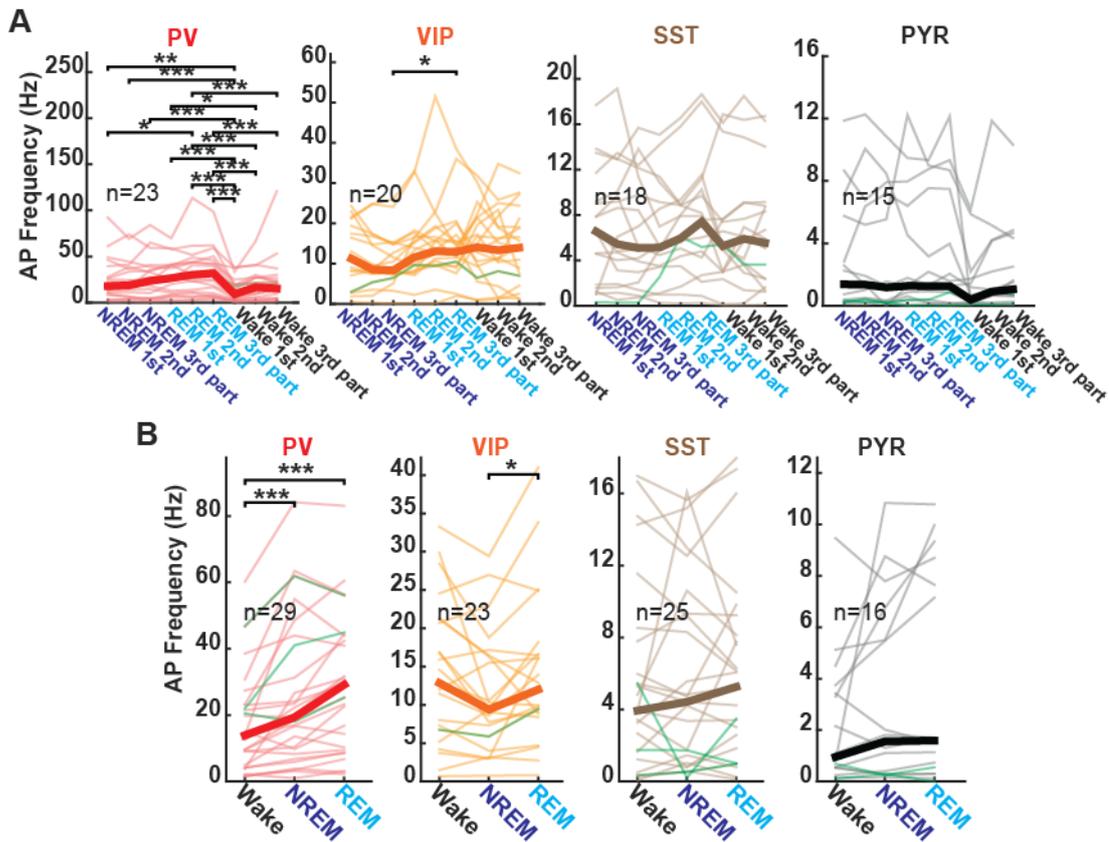


FIGURE S11: Ongoing cells activity during following episodes of NREM, REM and Wake. **A.** Neuronal firing rates before, during and after a REM episode. Each episode has been divided in three equal part to better visualize the evolution of firing rate. Medians are represented in bold. **B.** Average activity shown in **A.** for each neuronal subtype. Each line represents a cell, medians are represented in bold. (PV : Friedman Tuckey HSD post hoc test $p < 0.001$ between Wake and NREM, $p < 0.001$ between Wake and REM, $p = 0.15$ between NREM and REM part; VIP : Friedman Tuckey HSD post hoc test $p = 0.30$ between Wake and NREM, $p = 0.56$ between Wake and REM, $p = 0.03$ between NREM and REM part; SST : Friedman Tuckey HSD post hoc test $p = 0.99$ between Wake and NREM, $p = 0.83$ between Wake and REM, $p = 0.76$ between NREM and REM part; PYR : Friedman Tuckey Scheffe post hoc test $p = 0.94$ between Wake and NREM, $p = 0.78$ between Wake and REM, $p = 0.93$ between NREM and REM part).

On figure S11, we focused on NREM sleep and Wake episodes occurring respectively before and after a REM sleep episode. In order to better appreciate the evolution of neurons firing rate, we divided each episodes in three equal parts. While firing rate of pyramidal neurons and SST cells remained stable during this sequence of vigilance states, AP frequency of PV cells clearly increased progressively during NREM and some more in REM sleep, to reach a maximum just before the Wake onset. Firing rate of VIP neurons however, remained stable across REM and Wake and reach a minimum just before REM onset (Figure S11 A). When firing rate during this sequence NREM-REM-Wake were averaged, our results were confirmed : an increase activity of PV cells during sleep, and a specific increase of AP frequency of VIP cells in REM sleep compared to NREM (Figure S11 B).

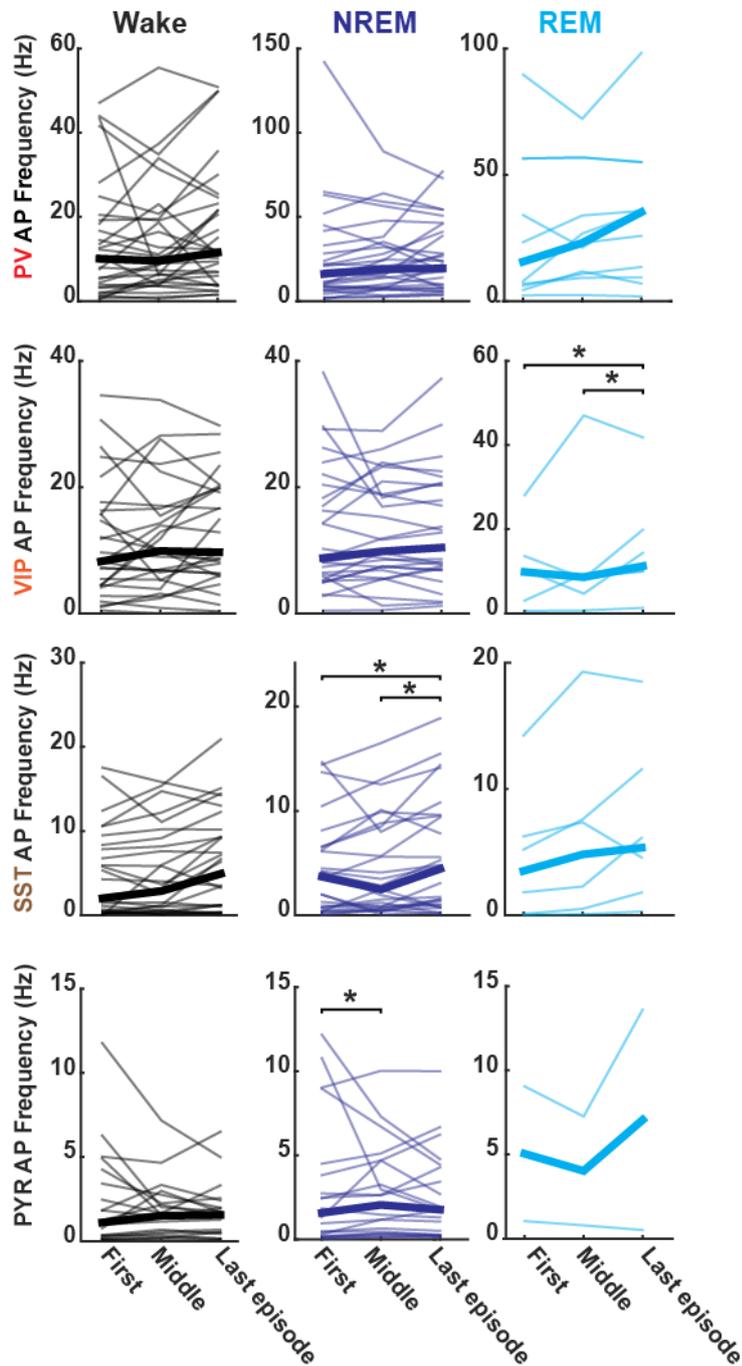


FIGURE S12: AP firing rate (Hz) evolution across episodes of wake, NREM and REM sleep. For cells whose total recording time included more than three episodes of either Wake, NREM or REM sleep. If more than 3, all episodes between the first and the last were included for the calculation of the rate of “middle” episodes. Each line represents a cell, medians are represented in bold.

Because homeostatic pressure could influence firing rate (Vyazovskiy et al., 2009), we decided to also study the evolution of AP frequency throughout the recorded session of the cells (Figure S12). Firing rate during the first episode of Wake was compared to activity during the latest

of Wake recorded. The calculation of the rate of *middle* episodes included all episode of Wake occurring after the first and before the latest episode. This analysis was performed only on cells whose total recording time included more than three episodes of either Wake, NREM or REM sleep. In our data, there is no clear impact of homeostatic pressure on firing rate, except a little increase of SST activity during NREM sleep episode. Because our recordings only lasted on averaged 15 minutes, no clear effect of homeostatic pressure could be seen unlike observations made on freely moving animal, with about 6 hours of NREM sleep recorded in the study of Vyazovskiy et al. (2009).

Whereas the majority of cell were recorded in a loose patch mode, few cells have been in the whole cell mode. We could therefore reported the average membrane potential (V_m) during vigilance states after removing spikes by applying a low pass filter at 50 Hz. Two of the three PV cells displayed on averaged a strong depolarisation during NREM compared to Wake, but also during REM sleep (Figure S13 A). The resting membrane potential of VIP cells also seemed to be depolarized in REM sleep but this observation was only made on one cell. Resting membrane potential of SST displayed variable behaviors during NREM and REM sleep, with two cells depolarized in NREM compared to Wake and two cells hyperpolarized. Nevertheless membrane potential of SST neurons seemed to be similar in REM sleep compare to Wake. Pyramidal cells with a resting membrane potential close to -70 mV, seemed to be lightly depolarized both in NREM and REM sleep. Thus, oscillations of membrane potential were studied more in detailed thanks to a spectral analysis. Fast Fourier transformed was performed on filtered V_m in each vigilance states, with a window of 5 seconds and an overlapping of 2.5 seconds. On average, PV cell membrane potentials oscillated at the spindles frequency band in NREM, while a peak in the delta and theta frequency band could be observed during REM sleep (Figure S13 B C). No clear oscillations of V_m could be observed in other neurons subtypes. However we noticed that SST neurons had notably less slow membrane potential fluctuations compared with other neurons subtypes. Those observation are in line with previous works (Gentet et al., 2012; Pala and Petersen, 2018).

Because firing rates of cortical cells could be rapidly modulated at transitions between vigilance states, we next asked if membrane potentials of different neurons could similarly display fast dynamics at these time points. On Figure S14 A, an example of the resting membrane potential of each cell patched in the whole-cell mode is shown during transitions. We can observe that at Wake onset from REM or from NREM sleep, the membrane potential of PV cells was impacted within the timeframe of less than one second preceding or following the transition. We can also noticed that SST cells did not display clear periods of Up and Down states after NREM onset, or before NREM offset, a finding similar to what was observed for these neurons during

quiet wakefulness in accordance with previous study (Gentet et al., 2012; Pala and Petersen, 2018). For pyramidal cells, slow membrane fluctuations were not clearly visible at NREM onset and NREM offset, suggesting that transitions did not impact rapidly their membrane potential unlike interneurons (Figure S14). Taken together, these preliminary results suggest that neuronal membrane potentials can display rapid changes around transition states, and that these changes, at least for PV cells, are partly responsible for the subsequent rapid increase or decrease in AP firing.

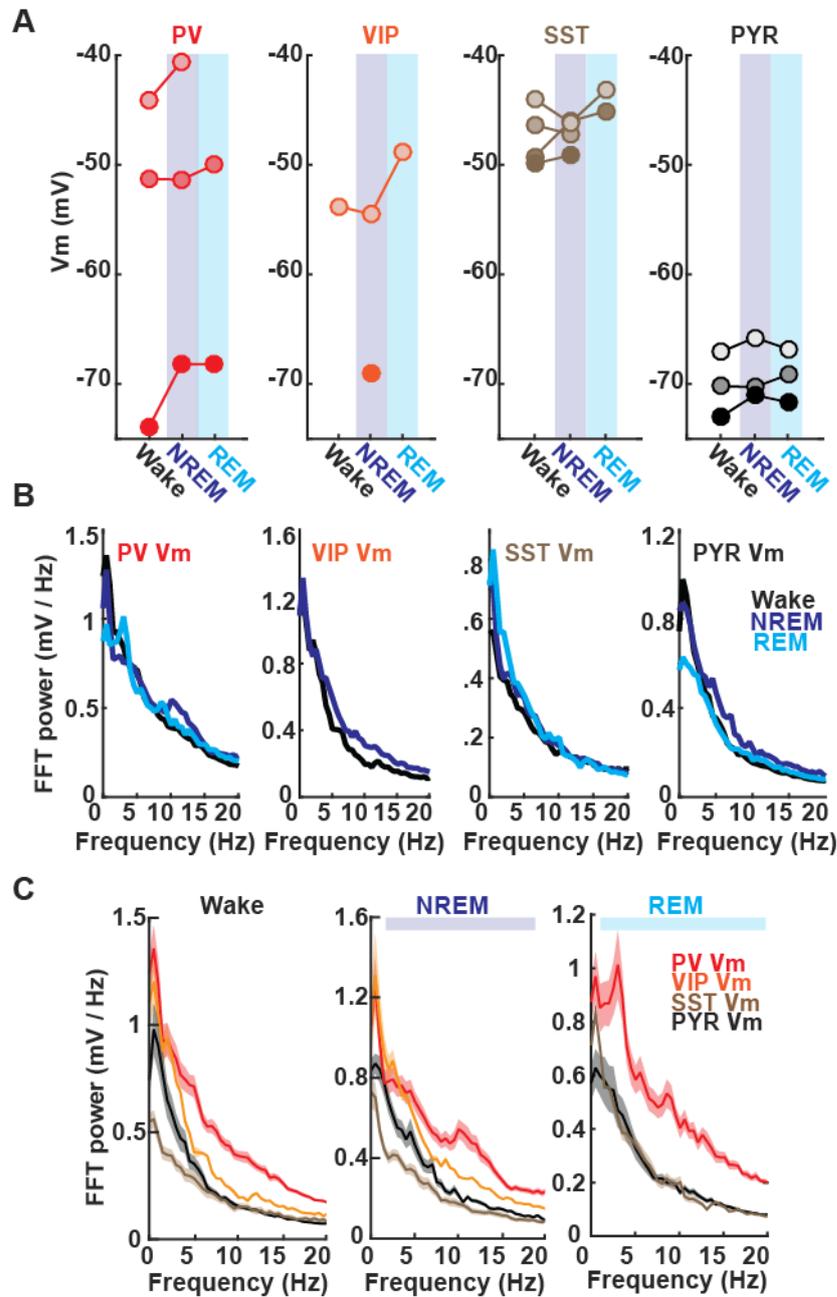


FIGURE S13: Resting membrane potential fluctuations of cortical neurons throughout the sleep-wake cycle. **A.** Average membrane potential throughout the sleep-wake cycle for each cell recorded in whole-cell patch-clamp mode. **B.** Spectral analysis of membrane potentials according to neuronal subtype. **C.** Spectral analysis of membrane potentials according to vigilance states. Mean are represented on plots, and confidence interval are represented in addition in C.

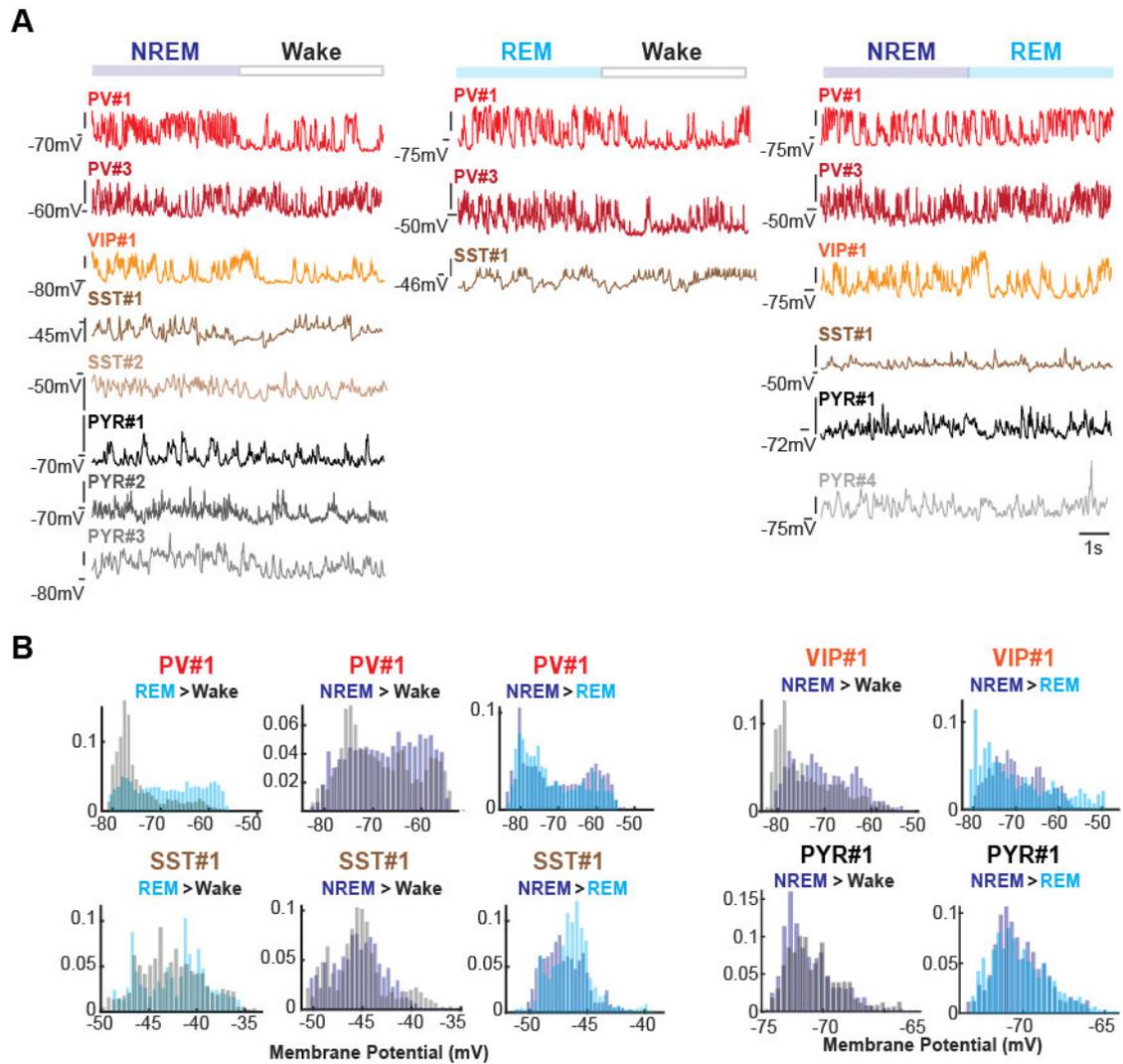


FIGURE S14: Membrane potential evolution at transition states. **A.** Membrane potential fluctuations of cells patched in whole cell mode 5 seconds before and after transitions. Vertical scale bars are equal to 10mV. **B.** Distribution of resting membrane potential before (-10 to 0 seconds) and after transitions (0 to +10 seconds).

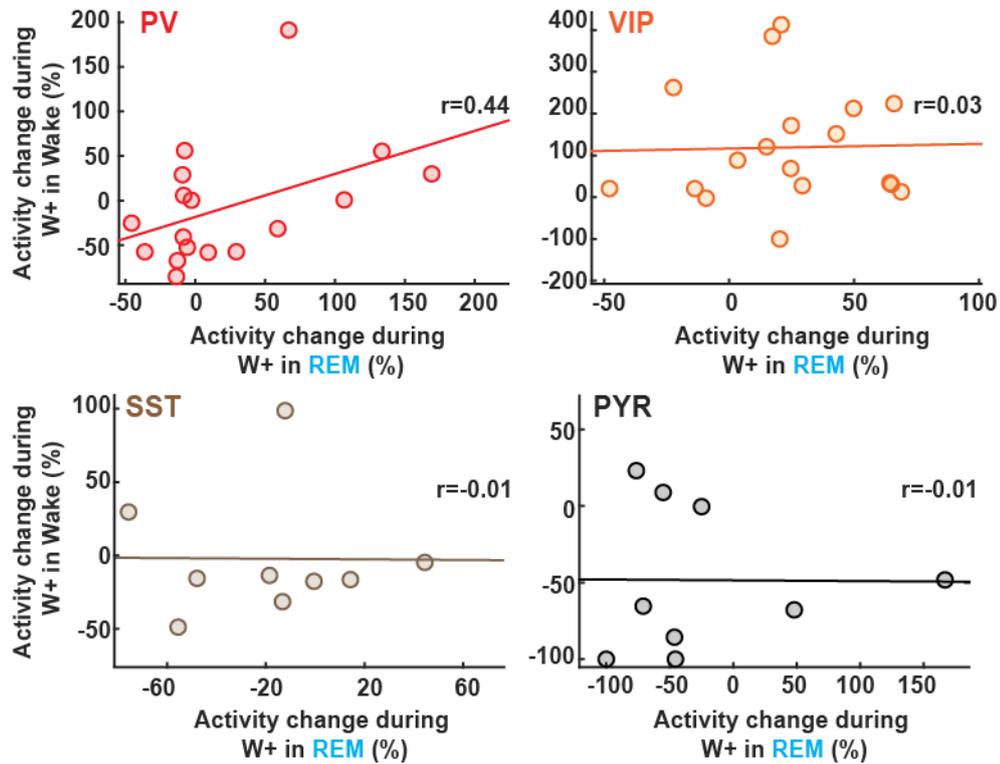


FIGURE S15: Correlation plots of AP % firing changes between quiet wake (no whisking) and active wake (whisking, W+) Each dot represents a cell and the r-value of the Pearson coefficient is indicated to the right of each graph. No significant correlation was found. PV cells are in red, VIP in orange, SST in brown and PYR cells in black.

In the submitted paper, we found that firing rate of cortical neurons was modulated by whisking behaviors in both Wake and REM sleep. For example, AP frequency of VIP neurons increased during active Wake but also in active REM sleep. Thus we wondered if neurons that responded the most in whisking in Wake was also neurons that responded the most in whisking during REM sleep. To answer this question, we computed for each cell a value corresponding to the percentage of AP firing changes for whisking in both Wake and REM. A Pearson correlation revealed that there were no significant correlation between activity change during whisking in Wake with activity change during whisking in REM sleep (Figure S15). In sum, a neuron that strongly increased their firing rate during whisking in Wake, could be not sensitive to whisking in REM sleep and vice versa.

Finally, we paid attention to membrane potential fluctuations observed in neurons patched in whole cell mode (Figure S16). Here we found that for PV and VIP cells resting membrane potential were depolarized during whisking in Wake and in a less extent during whisking in REM. Two of the four SST cells were hyperpolarized by whisking in Wake, which is in accordance to the literature (Gentet et al., 2012; Muñoz and Rudy, 2014) and the two remaining cells with a

lower resting membrane potential, were depolarized by whisking. Gentet et al. (2012) already demonstrated that SST cells could be depolarized by whisking if resting membrane potential was initially hyperpolarized. Pyramidal cells on average, were also depolarized by whisking in both Wake, as expected (Gentet et al., 2010), and REM sleep (Figure S16 A). Spectral analysis of V_m indicates that slow oscillations are less present in membrane potential of PV cells during whisking in Wake, but this opposite was observed during REM (Figure S16 B C). Surprisingly, membrane potential of VIP cells had less slow membrane potential fluctuations during whisking in REM but not in Wake. Finally, we found no reduction of pyramidal cell V_m in slow oscillations during whisking in Wake, unlike literature (Gentet et al., 2010). However all results concerning membrane potential fluctuation needs to be taken with caution because of the small number of cell recorded.

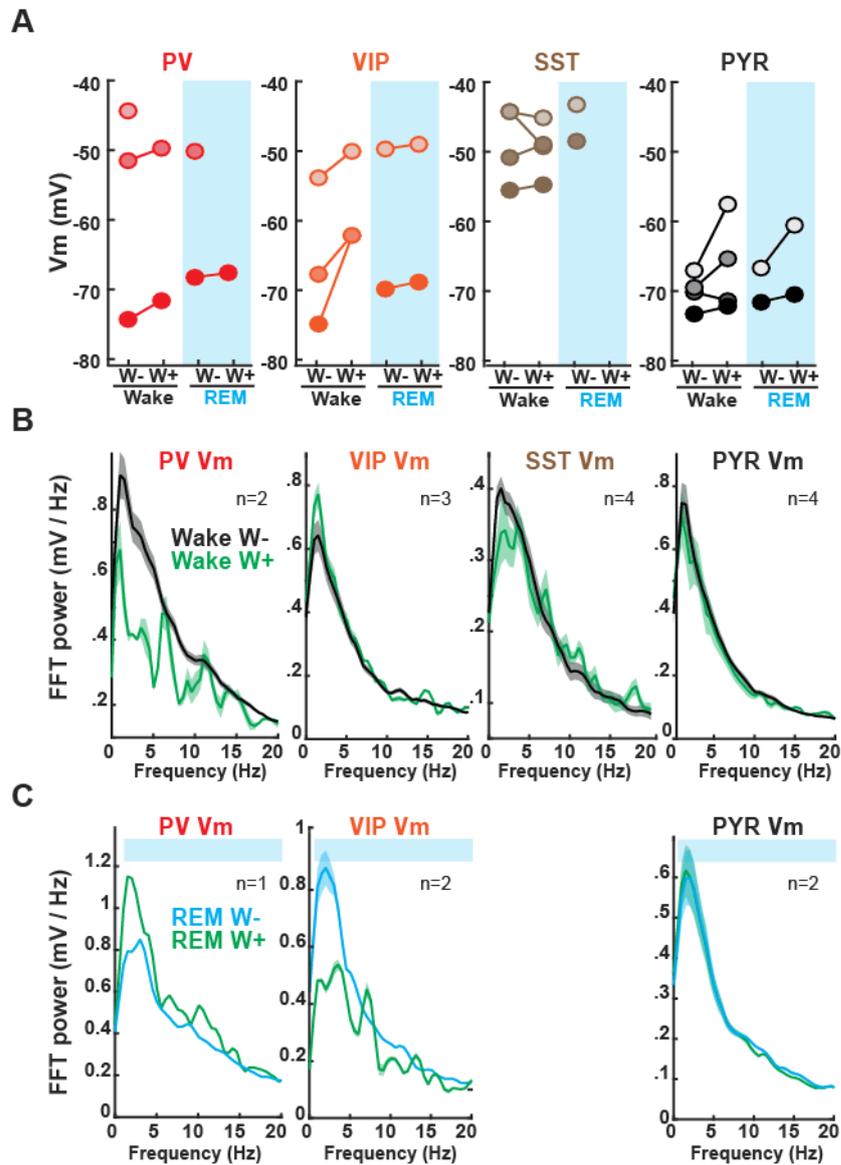


FIGURE S16: Resting membrane potential fluctuations during whisking (W+) and non-whisking (W-) in Wake and REM sleep. **A.** Average membrane potentials during whisking and non whisking in Wake and in REM sleep for each cell recorded in whole-cell patch-clamp mode. Each color represents a cell. **B.** Spectral analysis of resting membrane potentials during quiet Wake (i.e. no whisking and no twitches W-) in black, and during active Wake sleep with whisking W+, in green. **C.** Spectral analysis of resting membrane potentials during quiet REM sleep (i.e. no whisking and no twitches W-) in cyan, and during active REM sleep with whisking W+, in green.

Etude II

Etude II

Objectifs et présentation de l'étude

Les résultats de l'étude précédente suggèrent que lors du sommeil, l'intégration sensorielle pourrait être modifiée par l'activation différentielle des différents acteurs de l'inhibition. Pour tester cette hypothèse, nous avons dans cette étude proposé d'étudier la réponse des différents neurones corticaux lors de stimulations sensorielles appliquées pendant le cycle veille-sommeil. Des déflexions passives et légères (ne provoquant pas de réveil) de la vibrisse centrale C2 ont été réalisées au cours des différents états de vigilance à l'aide d'un aimant et d'une peinture métallique appliquée sur cette vibrisse. Les résultats en cellule entière nous indiquent que les neurones inhibiteurs répondent à la stimulation lors de différents états de vigilance : soit par une dépolarisation du potentiel de membrane pour les cellules VIP et PV, soit par une hyperpolarisation pour les cellules SST. En cellule attachée, nous avons pu observer que la majorité des neurones répondent de façon supraliminaire à la stimulation sensorielle qu'elle ait lieu en éveil, en sommeil lent ou en sommeil paradoxal. Par ailleurs, il apparaît que les neurones VIP et PV sont plus engagés dans la réponse à la stimulation sensorielle que les cellules excitatrices. Toutefois, l'intensité de la réponse à la stimulation se révèle être globalement plus importante en sommeil lent qu'en éveil et en sommeil paradoxal pour l'ensemble des sous-types neuronaux, excitateurs et inhibiteurs. Par ailleurs, la réponse de l'ensemble des sous-types neuronaux (excitateurs et inhibiteurs), est diminuée lorsque les stimulations sensorielles surviennent pendant les fuseaux du sommeil. Contrairement à nos attentes, les résultats suggèrent qu'une stimulation sensorielle en sommeil lent n'induisant pas le réveil de l'animal, peut être intégrée au niveau cortical malgré la forte inhibition des interneurons PV et VIP. De même, l'augmentation du seuil de réveil lors d'une stimulation pendant les fuseaux du sommeil ne semble pas être causée par les interneurons corticaux mais pourrait être due à une afférence sensorielle thalamo-corticale réduite. Cette seconde étude a été rédigée en anglais sous la forme d'un court article scientifique. Toutefois, ces résultats sont préliminaires et ne feront pas l'objet d'une publication dans l'immédiat. Des acquisitions supplémentaires sont prévues afin de confirmer ces observations.

Contribution personnelle

A l'instar de l'étude précédente, l'ensemble des expérimentations et des analyses ont été réalisées par mes soins.

Cell-type-specific neuronal responses to passive whisker deflections throughout the sleep-wake cycle

Introduction

Sensory responses in neocortex are modulated by different states of vigilance (for review, see Velluti 1997; Batista-Brito et al. 2018). However, the circuit mechanisms underlying this contextual modulation are only beginning to be understood. During wakefulness, spontaneous fluctuations of brain activity profoundly modify cortical responses to sensory stimulation (Petersen et al., 2003), indicating that ongoing spontaneous brain oscillations play a major role in shaping such responses. Furthermore, Vm responses of layer II/III pyramidal cells, evoked by passive whisker deflections in mice, are reduced in amplitude during whisking compared to quiet wakefulness (Crochet and Petersen, 2006). While PV neurons have been shown to be implicated in attentional states at the level of primary somatosensory cortex (Cardin et al., 2008; Siegle et al., 2014), how those neurons and other subtypes of GABAergic cells modulate and/or control our perception of sensory inputs remain poorly investigated. Oscillations such as spindles, delta or theta wave occurring during sleep may also have relevant effects on the sensory information processing. Likewise, in humans, sensory evoked response during NREM were strongly influenced by the phase of slow oscillation at which stimuli were delivered (Massimini et al., 2003). A detailed study of neuronal response to stimulation could then answer to how sleep modulate cortical sensory response.

In our first study, we report that the spontaneous activity of inhibitory cells is highly dynamic throughout the sleep-wake cycle (see page 69). stronger levels of cortical inhibition, essentially mediated by PV cells were observed during both NREM and REM sleep, while the level of burstiness of SST cells were more increased during NREM and the AP frequency of VIP neurons increased specifically during REM sleep. These drastic modifications of interneuronal subtypes basal firing rates of could therefore profoundly alter the way the cortical circuits of S1 layers II/III integrate sensory responses emanating from the whisker pad (Férezou and Deneux, 2017). While it was previously reported that, during wake, the response of interneurons to passive whisker deflections differs according to their subtypes (Gentet et al., 2012; Yu et al., 2019), to our knowledge, their responses at both the supra and sub-threshold membrane potential level, have not yet been investigated.

In the present study, we therefore investigated how sensory inputs may be modulated by the vigilance state of the animal, at the level of the local circuitry of layer II/III of the mouse somatosensory barrel cortex (S1). Small deflections of the C2 whisker were applied throughout the sleep-wake cycle (frequency : 1 Hz) while simultaneously recording the neuronal activity of putative excitatory pyramidal cells and different subtypes of GABAergic neurons (PV, SST and VIP) in naturally-sleeping head-fixed mice. Surprisingly, we found that both excitatory cells and inhibitory cells responded best to stimulations occurring during NREM sleep. Moreover, our results indicate that the nature and phase of the ongoing oscillations at which the stimulus appears could profoundly modulate the observed response.

Material & methods

Animal

Transgenic mice expressing TdTomato in a subset of genetically-defined GABAergic neurons were used. All animals came from our previous study (see Methods of submitted paper, page 69). A total of twelve C57BL6 mice previously implanted with a metal head holder and EEG/EMG device were included : 4 mice PV Cre-tdTomato, 3 mice VIP Cre-tdTomato and 5 mice SST Cre-tdTomato.

Experiment

After 3 weeks of daily head-restraint habituation, all whiskers contralateral to the metal head holder chamber were removed except C2 whisker. A drop of metallic paint was applied on the length of the C2 whisker and a magnet with an extended 2 cm metal pole was placed in front of the animal (end of pole approximately 5 mm anterior to C2 whisker rest position). Series of magnetic pulses of 5 ms duration were delivered at 1 Hz, leading to small forward deflections (about 2 °) of the C2 whisker. In order to elicit a response that could be faithfully compared throughout the sleep/wake cycle, the whisker deflections elicited by the magnetic pulse were small enough not to induce the animal's awakening, but strong enough to induce a detectable response at the level of the cortical LFP electrode. All stimulations that occurred around a vigilance state transition (\pm 500 ms) were removed from the analysis. Simultaneously, LFP and electrodes were positioned were in the layer 2/3 of the C2 barrel column previously identified using intrinsic optical imaging. Both loose-patch and whole-cell recordings in visually-identified inhibitory interneurons and putative excitatory pyramidal cells were performed under two-photon microscopy (Figure 1).

Analysis

In order to confirm that we were indeed recording from the C2 barrel column and that the evoked whisker deflection was sufficiently strong, we first checked for evoked responses at the level of the LFP, whose recording pipette was positioned in close proximity ($< 100 \mu\text{m}$) to the patched neuron. Only cells whose associated LFP recording displayed a response to whisker deflection (as observed by visual inspection during a recording session) were included in our analysis. Manual scoring of vigilance states was performed on the basis of EEG/EMG recordings and C2 whisker movements were monitored using a high-speed camera as previously described. All whisking bouts were removed from the analysis for the purpose of this study. Sensory evoked responses elicited by whisker stimulations were subsequently sorted according to vigilance states. To be included in the analysis of supra-threshold neuronal responses, a neuron had to fire a minimum of 100 spikes per vigilance state and a minimum of 20 stimulations per vigilance state were required. Furthermore, only cells recorded in at least two different vigilance states were taken into account. Sensory responses per neuron per vigilance were first averaged, then a grand average was calculated for each neuronal subtype per vigilance state. Since we were unable to obtain a statistically sufficient dataset of whole-cell recordings, data obtained from cells in both configurations were pooled when reporting the response-mediated changes observed in spike rates. PSTH per cell and vigilance states were z-scored to erase spontaneous activity differences observed throughout the sleep wake cycle. Then the amplitudes, latencies and widths of the responses were calculated on an average z-scored PSTH. In addition, for whole-cell patched neurons, membrane potential fluctuations in response to the whisker deflection were averaged according to the vigilance state per neuron.

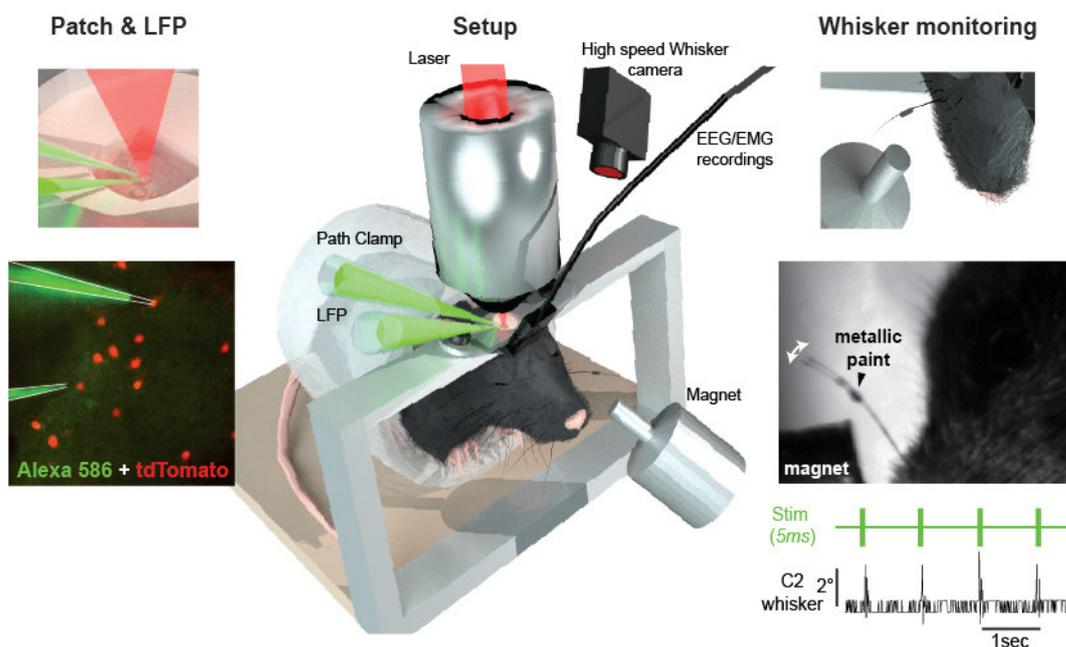


FIGURE 1: Experimental procedure. Mice were trained to sleep head restrained under 2-photon microscopy. Both patch clamp and LFP recordings were performed in the C2 column thanks to intrinsic optical imaging. A metallic paint was applied on C2 whisker and a magnet was placed next to the whisker. Trains of stimulation lasting 5ms were applied at 1 Hz. Whisker deflections were applied in all vigilance state and should not induce an awakening. Network response was controlled thanks to the evoked response of LFP. Neuronal response was measured thanks to patch clamp recordings in loose patch or whole cell mode.

Results & Discussion

In this study, we evaluated neuronal response of both excitatory and inhibitory cortical cells of layer 2/3 barrel cortex to small and controlled whisker deflections occurring in wakefulness and both NREM and REM sleep.

LFP response to whisker deflections is faster and larger in NREM compared to other vigilance states

On average, sensory-evoked LFP responses were larger during NREM sleep compared to REM and Wake (Wake -3.1 ± 0.4 , NREM -3.9 ± 0.2 , REM -3.1 ± 0.6 , $n = 13$; *Friedman* $p < 0.001$ between Wake and NREM and $p = 0.007$ between NREM and REM). However, the latency of the peak response remained unchanged (Wake $36.0 \text{ ms} \pm 7.8$, NREM $30.2 \text{ ms} \pm 1.8$, REM $31.8 \text{ ms} \pm 2.9$, $n = 13$; *Friedman*) (Figure 2 A & B). Our LFP recordings therefore indicate that barrel cortex layers 2/3 responses to a set sensory stimulus may vary according to vigilance states. Interestingly,

the observed sensory-evoked LFP response was larger during the vigilance state that is most associated with a lack of sensory perception, ie : slow-wave sleep. While S1 has been shown to be required for the percept of a sensory response (Flesher et al., 2016), the size of an LFP response is not necessarily indicative of this percept. Therefore, we next examined how sensory-evoked spiking activity of different GABAergic neurons might evolve throughout the sleep-wake cycle.

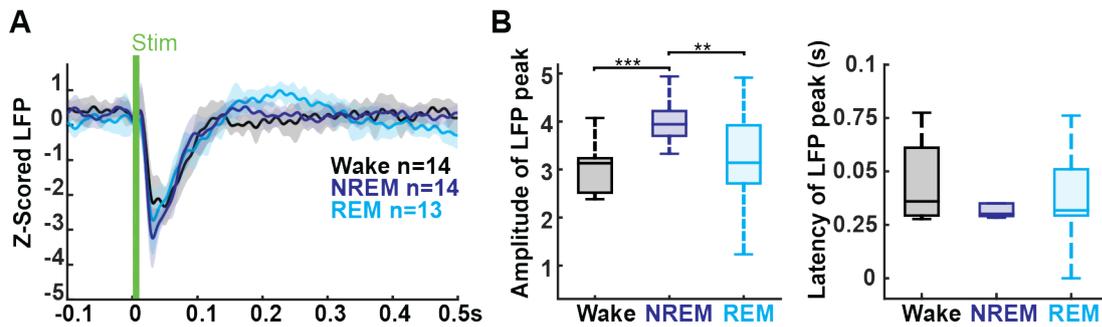


FIGURE 2: Average LFP response to the whisker deflections. A. z-scored mean sensory-evoked LFP responses for all LFPs recorded in Wake, NREM and REM sleep. B. left, median peak amplitudes of LFP response. Right, latency of LFP peak responses according to vigilance state.

Cortical neurons response to whisker deflections is faster and larger in NREM compared to other vigilance states

First, we estimated the proportions of cells in each subtype that responded to our small passive whisker deflection at the suprathreshold level, ie : with an increase or decrease in spikes. A cell was determined to be responding when, on its average z-scored PSTH, a minimum of two successive bins exceeded an absolute value of 2.576, corresponding to a two tailed p-value of 0.01 in at least one vigilance state. Using this criterion, we found that all of our recorded PV cells were responding (Figure 7), in accordance with a previous study by Gentet et al. which showed that PV neurons were particularly responsive to whisker deflections in head-restrained awake mice (Gentet et al., 2012).

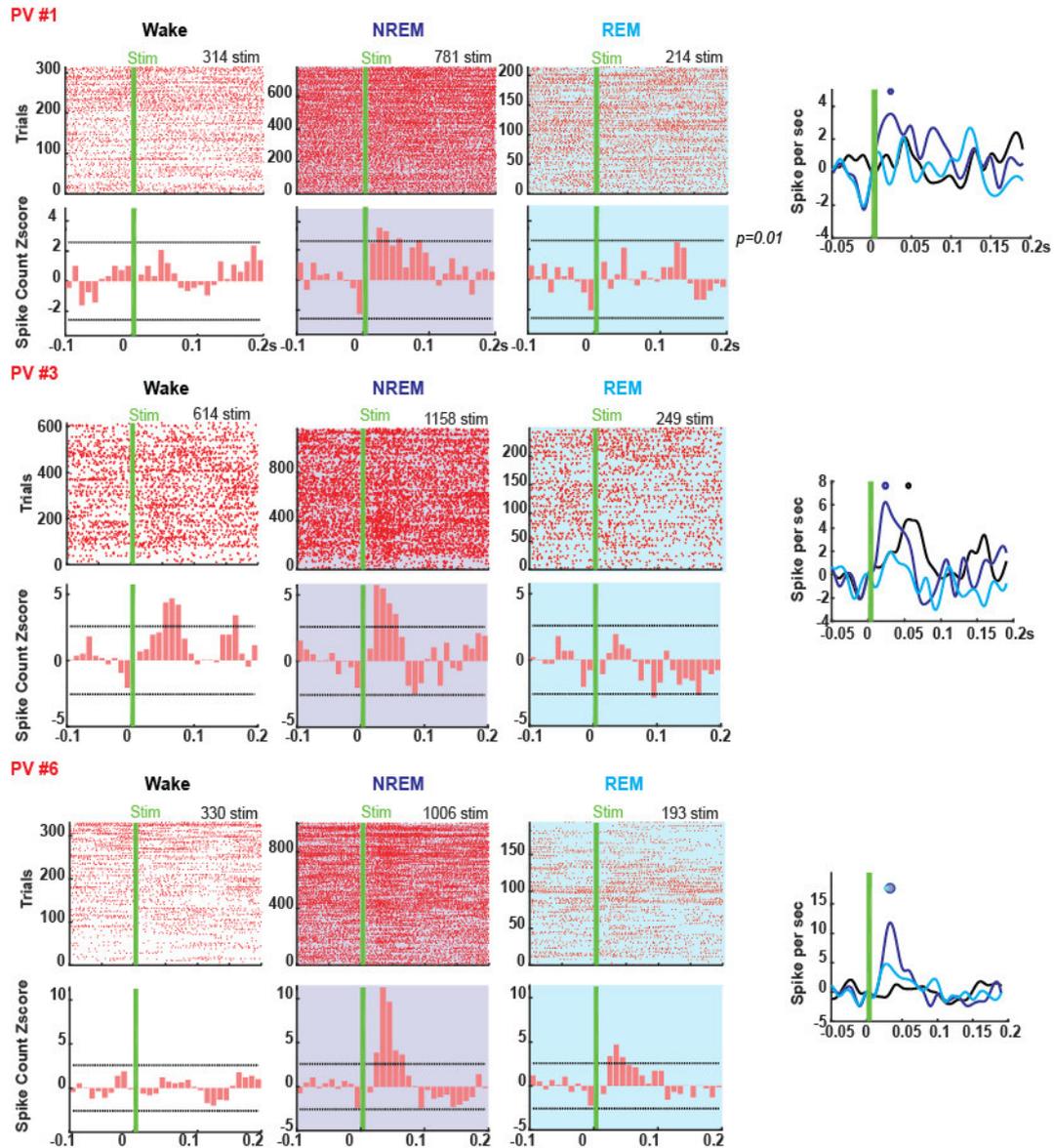


FIGURE 3: Example of 3 PV cells responding to the whisker deflections. Raster plots according to the vigilance state observed during whisker deflections were represented on top. Z-scored PSTH were represented bottom. Dashed lines indicate the threshold for a pvalue equal to 0.01. A minimum of two successive bins has to cross this threshold to the neuron be consider as a responding cell. On the right, a kernel-smoothed of z-scored PSTH for Wake (dark), NREM (blue) and REM (cyan) was plotted. Colored dots above lines, represent the peak of the response if the cell was considered as a responding cells in this vigilance state. Horizontal position of dots represents the latency of the response, and their diameter the intensity of the response. Note that for those 3 PV cells, responses were stronger in NREM sleep.

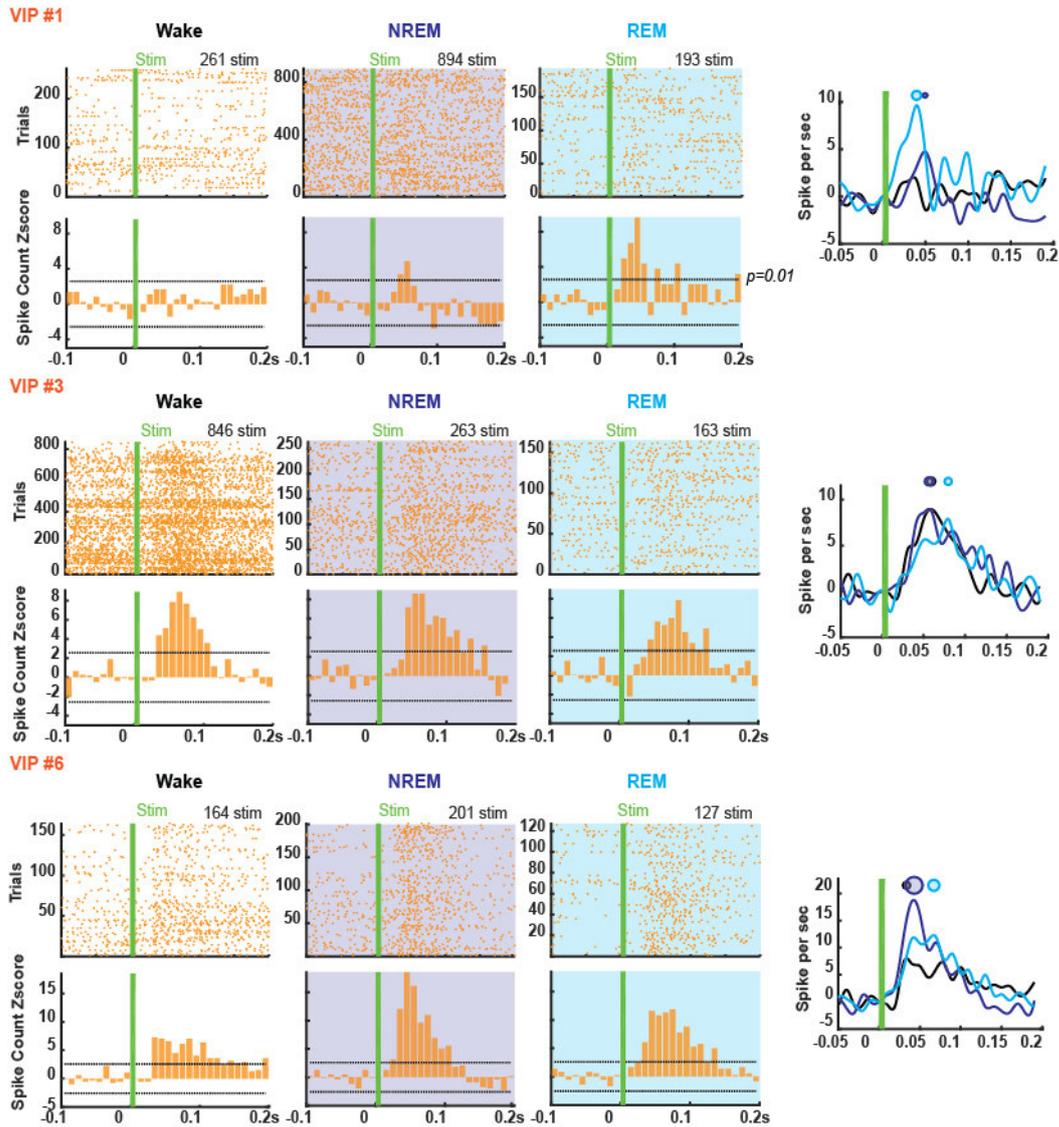


FIGURE 4: Example of 3 VIP cells responding to the whisker deflections. Raster plots according to the vigilance state observed during whisker deflections were represented on top. Z-scored PSTH were represented bottom. Dashed lines indicate the threshold for a pvalue equal to 0.01. A minimum of two successive bins has to cross this threshold to the neuron be consider as a responding cell. On the right, a kernel-smoothed of z-scored PSTH for Wake (dark), NREM (blue) and REM (cyan) was plotted. Colored dots above lines, represent the peak of the response if the cell was considered as a responding cells in this vigilance state. Horizontal position of dots represents the latency of the response, and their diameter the intensity of the response.

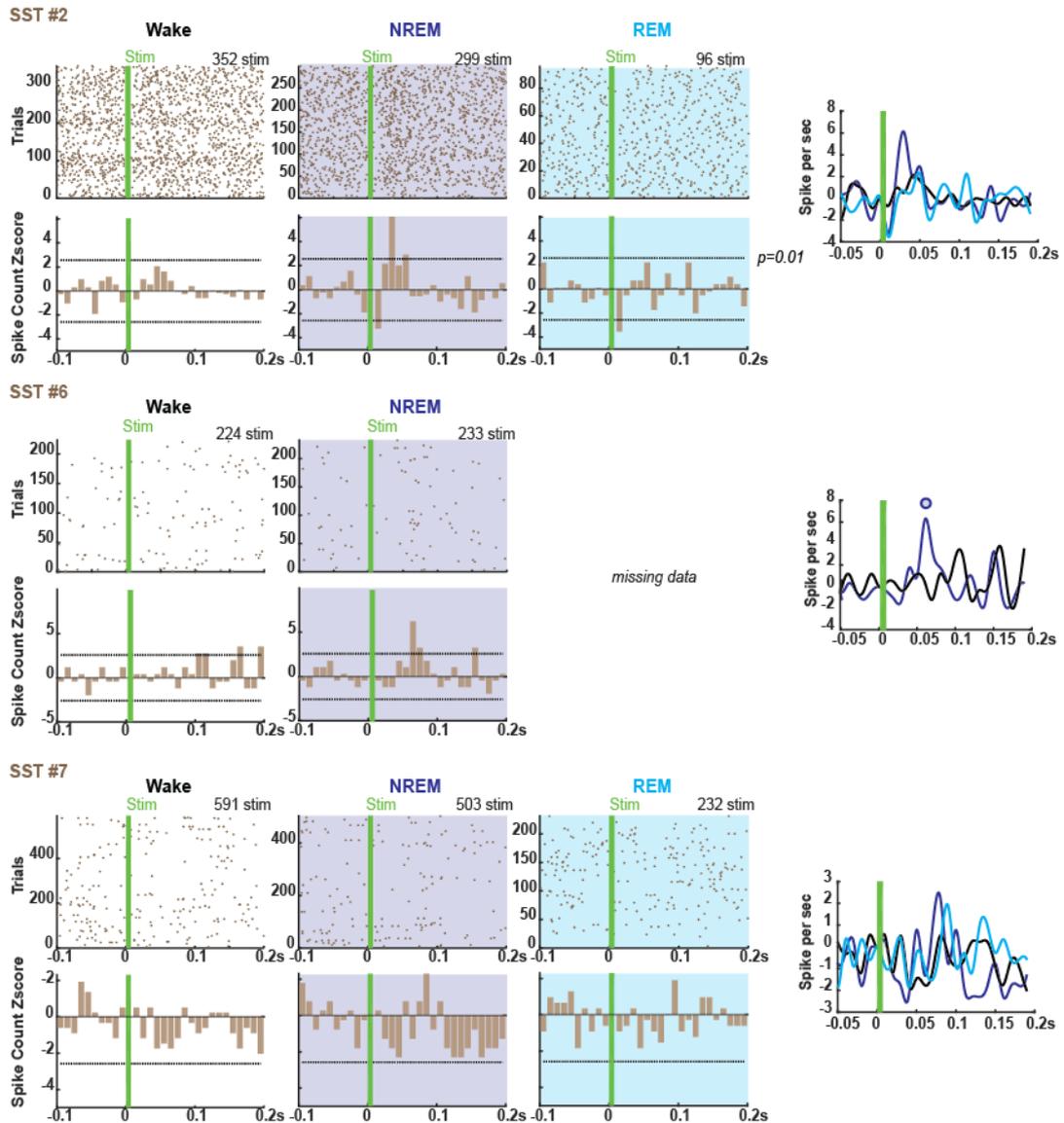


FIGURE 5: Example of responses of 3 SST cells to the whisker deflections. Raster plots according to the vigilance state observed during whisker deflections were represented on top. Z-scored PSTH were represented bottom. Dashed lines indicate the threshold for a pvalue equal to 0.01. A minimum of two successive bins has to cross this threshold to the neuron be consider as a responding cell. On the right, a kernel-smoothed of z-scored PSTH for Wake (dark), NREM (blue) and REM (cyan) was plotted. Colored dots above lines, represent the peak of the response if the cell was considered as a responding cells in this vigilance state. Horizontal position of dots represents the latency of the response, and their diameter the intensity of the response. Here, only the SST 6 responded to deflections in NREM sleep. Note however that SST 2 seems to be inhibited by deflections.

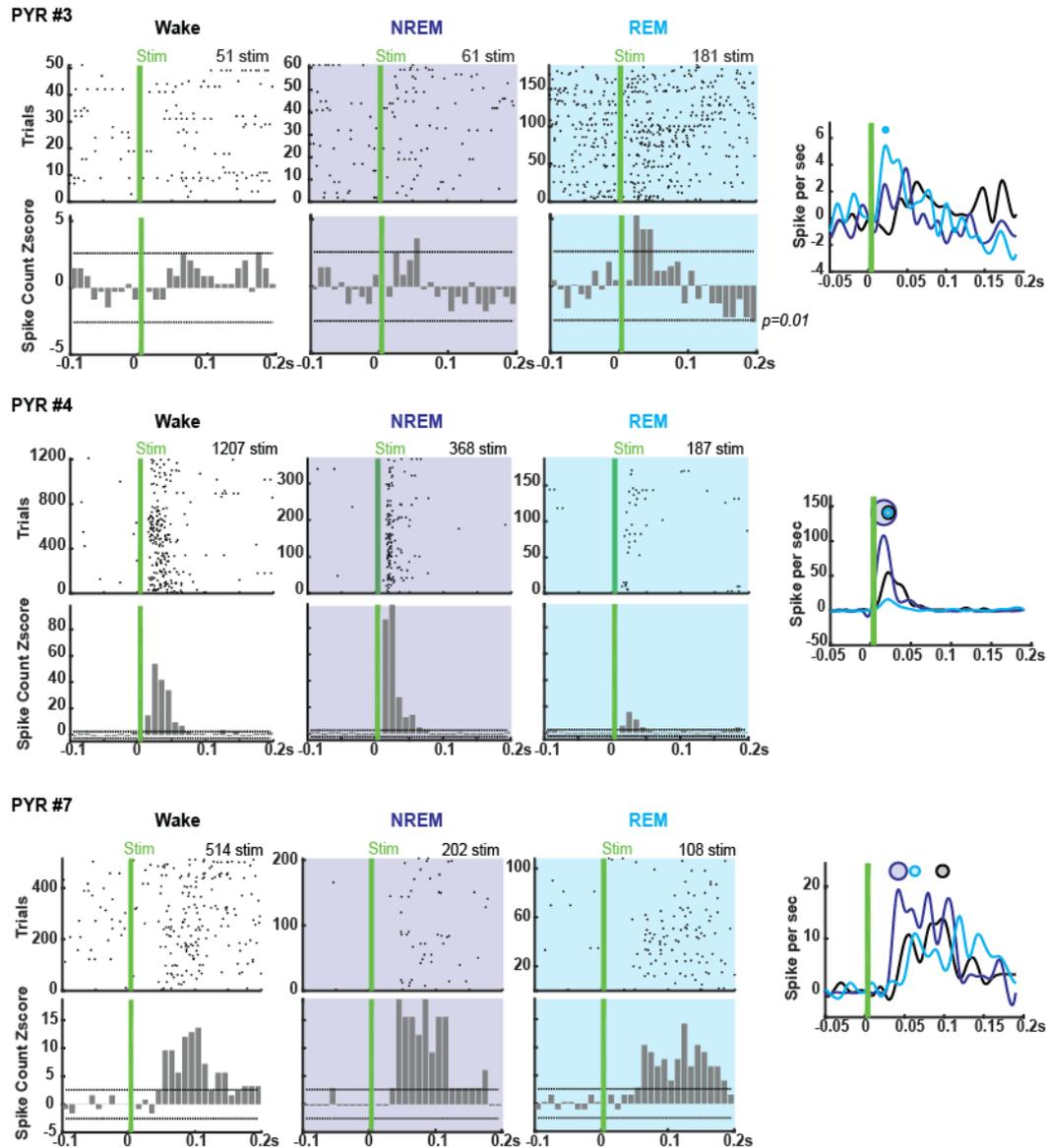


FIGURE 6: Example of 3 PYR cells responding to the whisker deflections. Raster plots according to the vigilance state observed during whisker deflections were represented on top. Z-scored PSTH were represented bottom. Dashed lines indicate the threshold for a pvalue equal to 0.01. A minimum of two successive bins has to cross this threshold to the neuron be consider as a responding cell. On the right, a kernel-smoothed of z-scored PSTH for Wake (dark), NREM (blue) and REM (cyan) was plotted. Colored dots above lines, represent the peak of the response if the cell was considered as a responding cells in this vigilance state. Horizontal position of dots represents the latency of the response, and their diameter the intensity of the response. Note that for those 3 PYR cells, responses are stronger in NREM or in REM sleep.

Similarly, 6/7 VIP cells were classified as responding cells, while only 1 out of 5 SST neurons and 3 out of 5 PYR cells were (Figure 7 C & D). The low level of responding layer 2/3 SST neurons was not surprising, since they have been shown to essentially hyperpolarize their membrane potentials and reduce their firing during whisker movements in awake animals (Gentet et al.,

2012; Muñoz et al., 2017), but quickly recover at the end of a whisker deflection. Under our criteria, SST neurons rarely reduced their firing for more than one consecutive bin (Figure 7). In effect, the only neuron that fell within our response criteria slightly increased its firing rate following whisker deflection, potentially due to a rebound firing that has been previously observed in some SST cells (Gentet, personal communication).

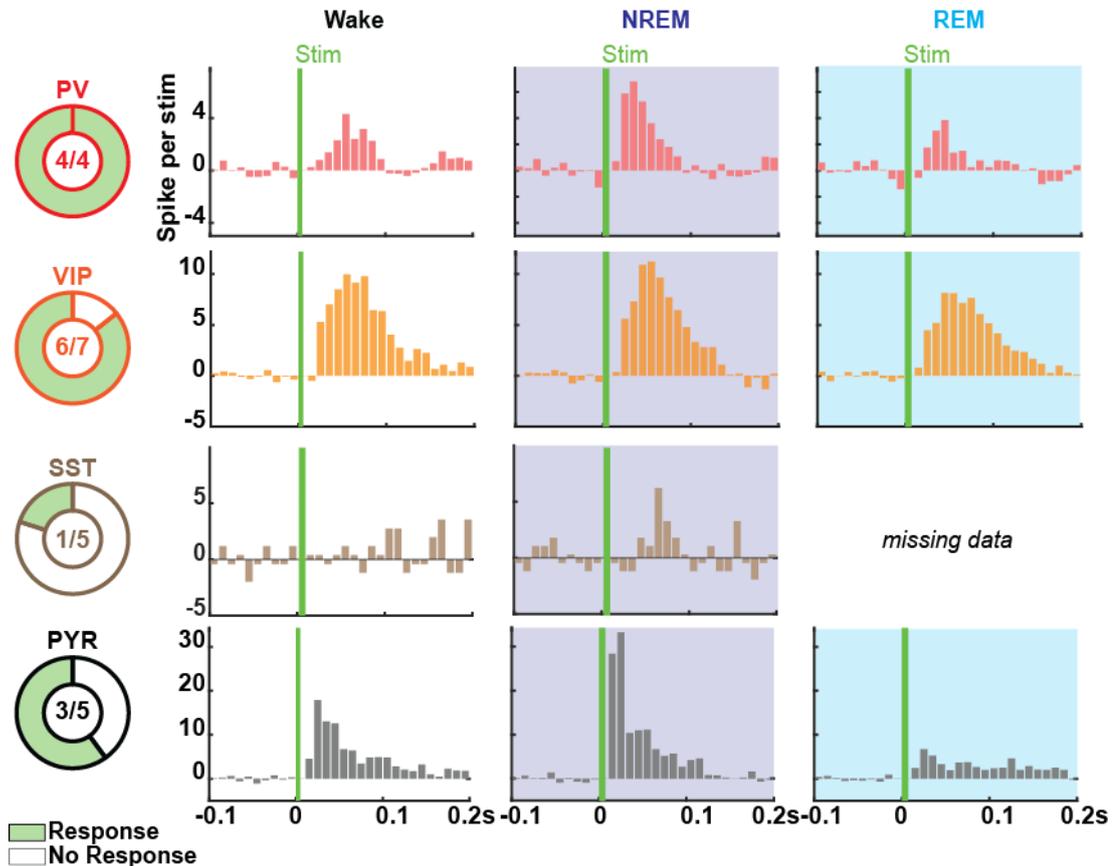


FIGURE 7: Average cortical response to the whisker deflections. A. Proportion of cells considered as responding cells compared to all cells recorded. B. Grand average z-scored PSTH of all responding cells according to the vigilance state. PV cells are in red, VIP cells in orange, SST in brown and PYR cells in black. Mean and confidence interval are represented in A. Median, 25th and 75th percentiles are represented in boxplots.

Next, we measured different sensory-evoked response parameters for each suprathreshold responding cells according to the vigilance state of the animal (Figure 8 A). In order to better illustrate the vigilance-dependent differences in spike modulation, an average z-scored PSTH was computed for each cell and each episode of vigilance state by subtracting the mean and dividing the standard deviation of activity in baseline (-0.1 to 0 s). The number of z-scored spikes evoked per stim, the peak response latency and the response width were calculated. On average, all cells displayed a higher number of spike per stim in NREM (For PV cells : Wake 4.1 ± 0.9 ,

NREM 8.8 ± 0.1 , REM 5.8 ± 1.1 , $n = 4$; For SST cells : Wake 1.8 ± 1.6 , NREM 2.4 ± 2.0 , REM no data, $n = 1$; For VIP cells : Wake 5.0 ± 0.8 , NREM 5.8 ± 0.9 , REM 5.3 ± 1.0 , $n = 6$; For PYR cells : Wake 2.7 ± 1.1 , NREM 3.0 ± 1.3 , REM 3.0 ± 1.3 , $n = 3$; *K-R app.*). When all neurons (except the SST cell) were pooled together, we observed a larger response to whisker deflections when they were triggered during NREM sleep (Wake 3.9 ± 0.7 , NREM 5.9 ± 0.8 , REM 4.7 ± 0.9 ; All vigilance state : PV 6.2 ± 0.8 , SST no estimation because no REM sleep recoded, VIP 5.3 ± 0.8 , PYR 2.9 ± 1.0 , $n = 13$; *Satterthwaite's method* $p = 0.003$ for the vigilance state effect, $p = 0.002$ for the subtypes effect and $p = 0.005$ for the interaction between those two effect) (Figure 8 B, C, D on the left). Our results at the level of suprathreshold neuronal responses therefore reproduce those from our LFP responses.

We also found that the mean peak latency of the response to passive whisker deflection was statistically significantly shorter for all subtypes in NREM vs Wake and REM (For PV cells : Wake $66.6 \text{ ms} \pm 11.5$, NREM $40.7 \text{ ms} \pm 11.5$, REM $66.3 \text{ ms} \pm 16.8$, $n = 4$; For SST cells : Wake $121.1 \text{ ms} \pm 28.9$, NREM $51.4 \text{ ms} \pm 47.5$, REM no data, $n = 1$; For VIP cells : Wake $71.6 \text{ ms} \pm 9.9$, NREM $48.4 \text{ ms} \pm 10.6$, REM $81.7 \text{ ms} \pm 11.8$, $n = 6$; For PYR cells : Wake $51.4 \text{ ms} \pm 13.3$, NREM $42.7 \text{ ms} \pm 16.9$, REM $62.5 \text{ ms} \pm 18.0$, $n = 3$; *K-R app.*). However, the average response latencies did not differ between cellular subtypes when all states were pooled (All cells expected SST : Wake $63.2 \text{ ms} \pm 8.9$, NREM $44.0 \text{ ms} \pm 9.6$, REM $70.2 \text{ ms} \pm 10.7$; All vigilance state : PV $57.9 \text{ ms} \pm 10.3$, SST no estimation because no REM sleep recoded, VIP $67.3 \text{ ms} \pm 8.9$, PYR $52.2 \text{ ms} \pm 11.9$, $n = 13$; *Satterthwaite's method* $p = 0.009$ for the vigilance state effect, $p = 0.22$ for the subtypes effect and $p = 0.9$ for the interaction between those two effect) (Figure 8 B, C, D in middle).

Finally, the response width was evaluated for all subtypes according to vigilance states (For PV cells : Wake $33.9 \text{ ms} \pm 4.6$, NREM $39.6 \text{ ms} \pm 4.6$, REM $45.5 \text{ ms} \pm 7.1$, $n = 4$; For SST cells : Wake $14.7 \text{ ms} \pm 12.4$, NREM $13.6 \text{ ms} \pm 20.6$, REM no data, $n = 1$; For VIP cells : Wake $28.6 \text{ ms} \pm 3.8$, NREM $32.4 \text{ ms} \pm 4.1$, REM $32.0 \text{ ms} \pm 4.7$, $n = 6$; For PYR cells : Wake $25.4 \text{ ms} \pm 5.4$, NREM $21.1 \text{ ms} \pm 7.0$, REM $20.9 \text{ ms} \pm 7.5$, $n = 3$; *K-R app.*). When all neurons were pooled together, the width of the response did not differ between Wake, NREM and REM sleep. However, the response width for PYR was on average statistically significantly narrower than for PV neurons when all vigilances were pooled (All cells expected SST : Wake $29.3 \text{ ms} \pm 3.3$, NREM $31.0 \text{ ms} \pm 3.7$, REM $32.8 \text{ ms} \pm 4.2$; All vigilance state : PV $39.7 \text{ ms} \pm 4.0$, SST no estimation because no REM sleep recorded, VIP $31.0 \text{ ms} \pm 3.3$, PYR $22.5 \text{ ms} \pm 4.7$, $n = 13$; *Satterthwaite's method* $p = 0.005$ for the subtypes effect) (Figure 8 B, C, D on the right). Gentet et al. (2012) similarly found that the response to passive whisker deflection in wake was shorter in PYR neurons vs PV cells, indicating that PV neurons respond in a more sustained manner to sensory inputs, even minimal as was the case in our

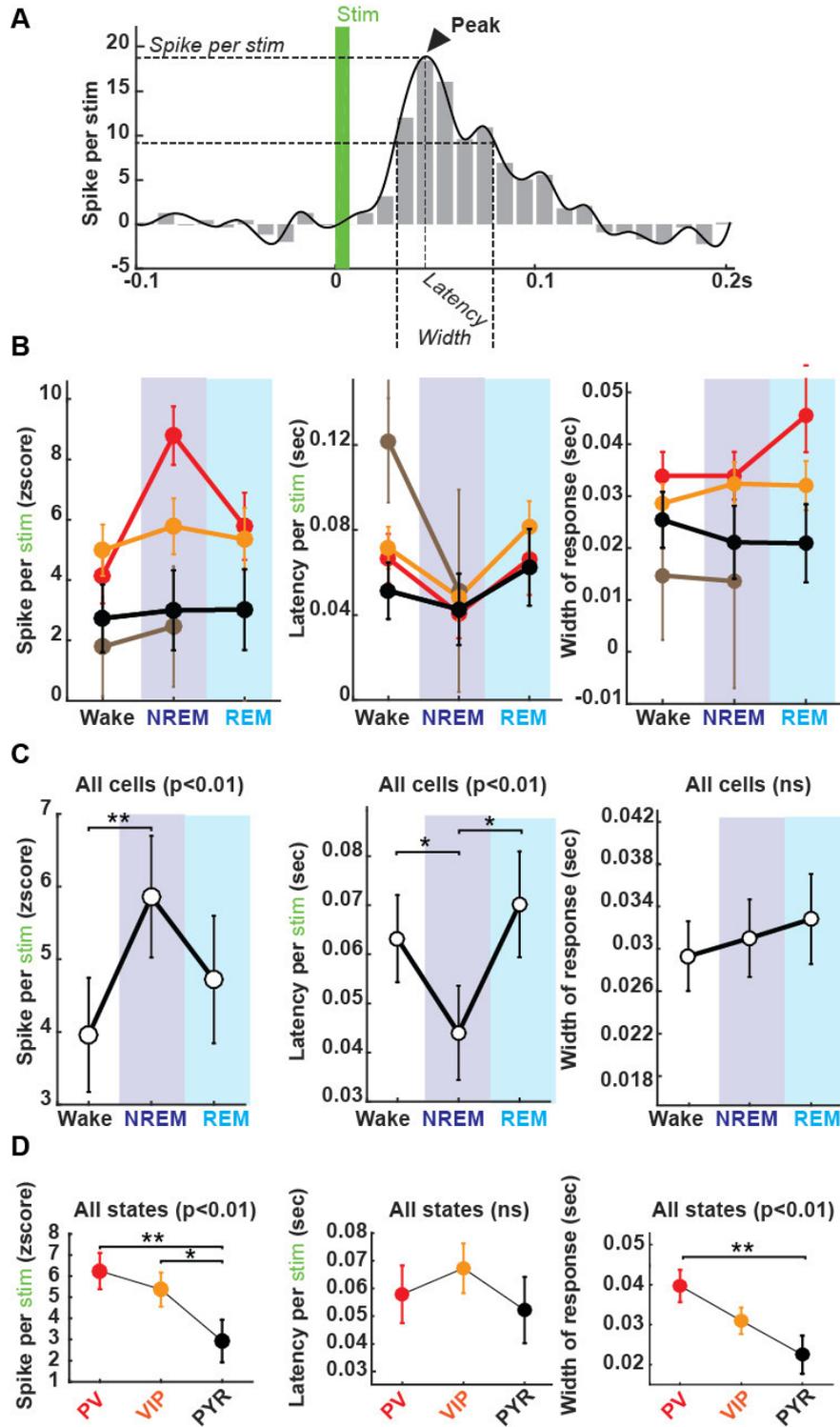


FIGURE 8: Parameters of response differ according to vigilance state. **A.** An example of z-scored PSTH and a kernel-smoothed (black line) for one episode of a vigilance state where the number of spike per stim, the latency and the width of response were calculated. The number of spike was estimated by the y value of the maximum bin after the stimulation (the peak). The latency was estimated by the x value of the peak. The width of response was estimated by the half of the number of spike per stim. **B.** The estimated means of spike per stim (left), the latency (middle) and the width of the response (right) according to neurons subtypes and vigilance states. **C.** The estimated means of spike per stim (left), the latency (middle) and the width of the response (right) according to vigilance states, independently of the neuron subtype. Note that whatever the subtypes, cortical neurons responded with a higher intensity in a shorter time to a stimulation occurring in NREM sleep compared to Wake. **D.** The estimated means of spike per stim (left), the latency (middle) and the width of the response (right) according to the neuron subtype, independently of vigilance states. Note that PV and VIP cells responded with a higher intensity to deflections compared to PYR cells. However, the response of PYR cells was thinner than the response of PV cells. Estimated means and standard error are represented in plot B, C and D. PV cells are in red, VIP cells in orange, SST in brown and PYR cells in black.

current experimental paradigm. Whether this sustained response is meant to curtail repetitive sensory inputs (a process known as neural adaptation) remains to be determined.

In Figure 9 and Figure 10, we reported all cells patched in the whole cell mode that displayed an infraliminal response to whisker stimulations. PV, VIP and PYR membrane potentials displayed a strong depolarization especially when a deflection occurs in sleep whereas SST displayed no responses or a light hyperpolarization.

Spindles reduce sensory-evoked suprathreshold responses in all neurons

Next, we wondered whether NREM spindles oscillations could facilitate or inhibit the response of cortical cells to passive whisker deflections. Spindles were detected on the LFP as previously described (see Methods of submitted paper, page ??), and neuronal responses were separated according to whether the whisker deflection had occurred within (InSpdl) or outside (OutSpdl) of spindle oscillations (Figure 11). Our results reveal that all neurons fire significantly more following an OutSpdl deflection vs an InSpdl (For PV cells : InSpdl 2.7 ± 0.8 , OutSpdl 3.3 ± 0.8 $n = 4$; For PV SST : InSpdl 2.2 ± 1.4 , OutSpdl 2.9 ± 1.3 , $n = 1$; For VIP cells : InSpdl 3.7 ± 0.8 , OutSpdl 5.7 ± 0.8 , $n = 6$; For PYR cells : InSpdl -0.6 ± 1.1 , OutSpdl 0.5 ± 1.0 , $n = 3$; *K-R app.*) (Figure 11 D). In addition, VIP cells OutSpdl modulation during NREM was greater than those of PYR and PV cells, and PV neurons responded more significantly to a OutSpdl stimulation than PYR cells (All cells : InSpdl 2.0 ± 0.8 , OutSpdl 3.1 ± 0.8 ; All NREM state : PV 3.0 ± 0.8 , SST 2.6 ± 1.2 , VIP 4.7 ± 0.8 , PYR -0.08 ± 0.9 ; Satterthwaite's method $p = 0.02$ for spindles effect, $p < 0.001$ for the subtypes effect) (Figure 11).

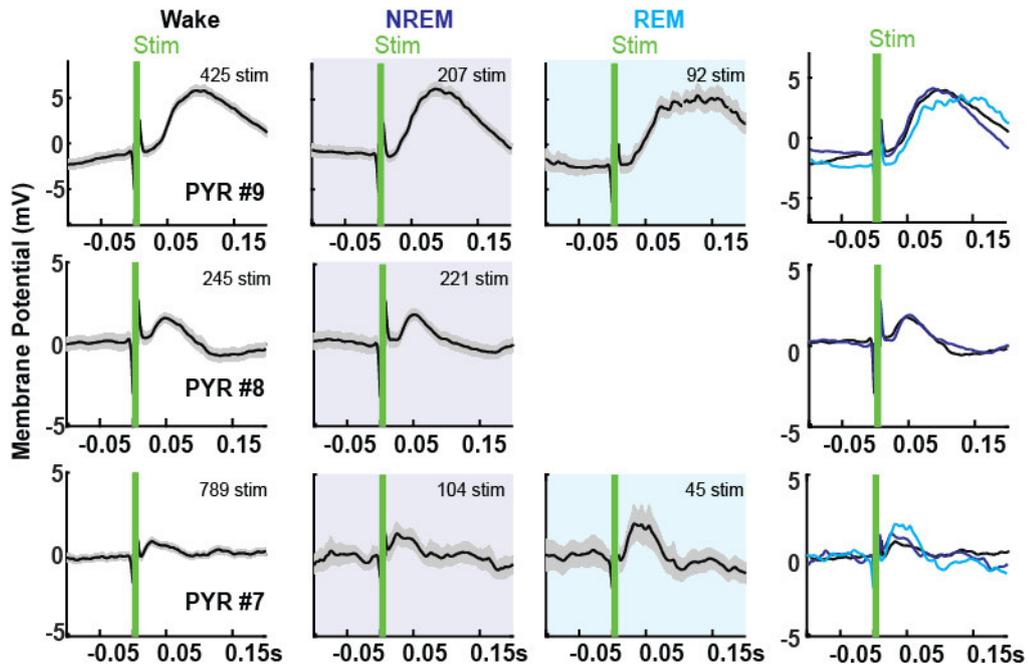


FIGURE 9: Pyramidal membrane potential fluctuation after whisker deflections. Evoked response in membrane potential of cell patched in whole cell mode according to vigilance states. Note that PYR membrane potential displayed a strong depolarization especially when deflections occurs in sleep. Mean and confidence interval are represented.

Interneurons are less responsive to deflections phase-locked to the Down of delta

Delta oscillations (1-4 Hz) can appear in Wake mainly in quiet wakefulness, in NREM sleep with prominent active (Up) and silent (Down) phase, and also sometimes in REM sleep (Figure 12 A). On detected delta oscillations, we sorted stimulations according to their phase locking on delta wave : inside an Up state or inside a Down phase (Figure 12 B). In delta oscillations during wake episodes, all interneurons fired less in response to a whisker deflection occurring in the Down phase of delta wave, unlike pyramidal cells that seems to fired more (For PV cells : Up 3.5 ± 0.5 , Down 2.5 ± 0.4 n = 4; For SST cells : Up 2.8 ± 1.0 , Down 2.6 ± 0.9 , n = 1; For VIP cells : Up 4.1 ± 0.4 , Down 3.5 ± 0.4 , n = 6; For PYR cells : Up 1.1 ± 0.6 , Down 0.6 ± 0.6 , n = 3; *K-R app.*). Indeed, we observed a significant interaction between the subtypes effect and the Up/Down effect (All cells : Up 2.9 ± 0.4 , Down 2.8 ± 0.4 ; All vigilance state : PV 3.0 ± 0.4 , SST 2.7 ± 0.7 , VIP 3.8 ± 0.4 , PYR 1.9 ± 0.5 ; *Satterthwaite's method* p < 0.001 for the subtypes effect and p = 0.01 for the interaction between those two effect). Surprisingly, in NREM sleep, SST cells tends to response more to a stimulation occurring in the Down phase of delta oscillation, as PYR cells, and unlike PV and VIP cells (For PV cells : Up 4.1 ± 0.9 , Down 2.0 ± 0.8 n = 4; For SST cells : Up 1.4 ± 1.5 , Down 3.6 ± 1.5 , n = 1; For VIP cells : Up 5.0 ± 0.8 , Down 4.5 ± 0.8 , n = 6; For PYR cells : Up -0.3 ± 1.2 , Down 2.3 ± 1.1 , n = 3; *K-R app.*). Here, the interaction between the two main effect

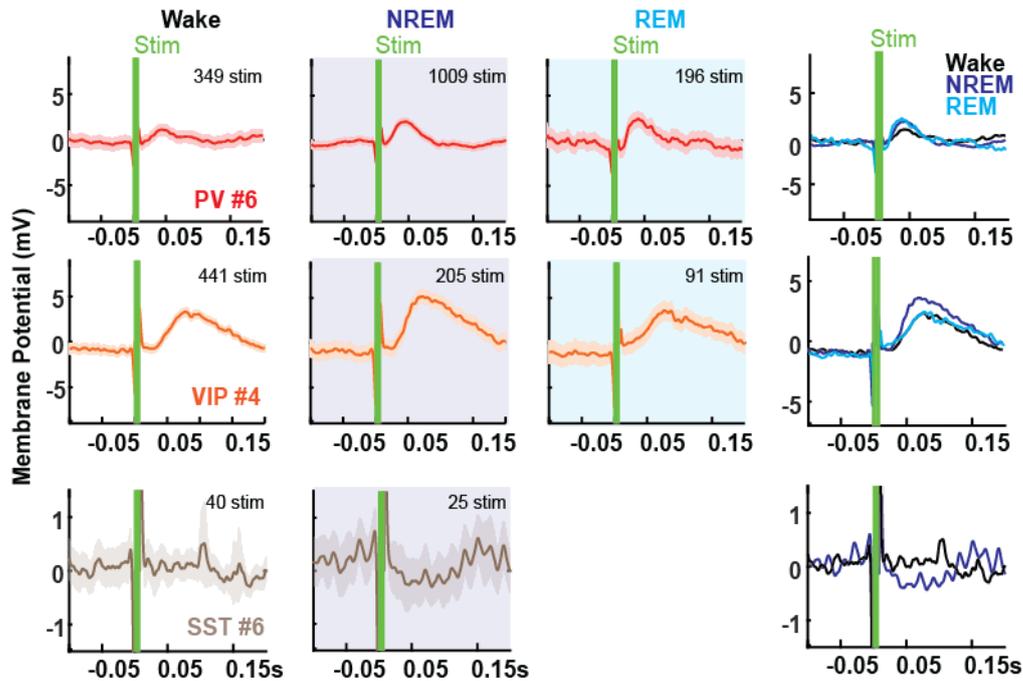


FIGURE 10: Interneurons membrane potential fluctuation after whisker deflections. Evoked response in membrane potential of cell patched in whole cell mode according to vigilance states. Note that PV and VIP membrane potential displayed a strong depolarization especially when deflections occurs in sleep. However, SST displayed no responses or a light hyperpolarization. PV cells are in red, VIP cells in orange, SST in brown. Mean and confidence interval are represented.

(subtypes effect and Up/Down effect) was strongly significant (All cells : Up 2.5 ± 0.8 , Down 3.1 ± 0.8 ; All vigilance state : PV 3.1 ± 0.8 , SST 2.5 ± 1.3 , VIP 4.7 ± 0.8 , PYR 1.0 ± 1.0 ; *Satterthwaite's method* $p < 0.001$ for the subtypes effect and $p < 0.001$ for the interaction between those two effect). Finally, in REM sleep, only PV cells tends to respond less to deflections appearing in the Down phase of delta oscillations (PV : Up 4.1 ± 0.7 , Down 2.0 ± 0.7 $n = 4$; SST no estimation because no REM sleep recorded, VIP : Up 4.3 ± 0.7 , Down 4.3 ± 0.6 , $n = 6$; PYR : Up 2.9 ± 0.9 , Down 2.4 ± 0.9 , $n = 3$; *K-R app.*). No phase locked effect or interaction with the subtypes were observed during REM sleep (All cells expected SST : Up 3.8 ± 0.5 , Down 2.9 ± 0.5 ; All vigilance state : PV 3.0 ± 0.6 , VIP 4.3 ± 0.5 , PYR 2.6 ± 0.7 ; *Satterthwaite's method* $p = 0.1$ for state effect, $p = 0.04$ for the subtypes effect) (Figure 12 C & D).

Cortical responses are greater in the Up phase of theta oscillation in Wake and REM sleep

Lastly, we evaluated the response of cortical cells either stimulation appeared in the Up or the Down phase of detected theta in Wake or in REM sleep (Figure 13 A B). In both theta during Wake and REM, neurons fired less in response to a stimulation that occurred in the Down phase of theta oscillation (Theta Wake : For PV cells : Up 3.1 ± 0.5 , Down 2.5 ± 0.5 $n = 4$; For SST

cells : Up 2.9 ± 0.9 , Down 2.3 ± 0.9 , $n = 1$; For VIP cells : Up 4.4 ± 0.4 , Down 3.3 ± 0.4 , $n = 6$; For PYR cells : Up 2.4 ± 0.6 , Down 0.8 ± 0.6 , $n = 3$; Theta REM : For PV cells : Up 2.7 ± 0.6 , Down 2.1 ± 0.6 $n = 4$; For SST cells no estimation because no REM sleep recoded, For VIP cells : Up 5.1 ± 0.5 , Down 3.2 ± 0.5 , $n = 6$; For PYR cells : Up 2.4 ± 0.8 , Down 1.6 ± 0.8 , $n = 3$; *K-R app.*) (Figure 13 C). We observed a significant effect of the phase locking and of the subtypes, but no significant differences for interaction, meaning that all subtypes behave the same way in response to deflections (Theta Wake : All cells : Up 3.2 ± 0.4 , Down 2.2 ± 0.4 ; All vigilance state : PV 2.8 ± 0.4 , SST 2.6 ± 0.7 , VIP 3.8 ± 0.4 , PYR 1.6 ± 0.5 ; *Satterthwaite's method* $p = 0.002$ for state effect, $p < 0.001$ for the subtypes effect and $p = 0.46$ for the interaction between those two effect; Theta REM : All cells expected SST : Up 3.4 ± 0.4 , Down 2.3 ± 0.4 ; All vigilance state : PV 2.4 ± 0.5 , VIP 4.2 ± 0.4 , PYR 2.0 ± 0.6 ; *Satterthwaite's method* $p = 0.01$ for state effect, $p < 0.001$ for the subtypes effect) (Figure 13 D).

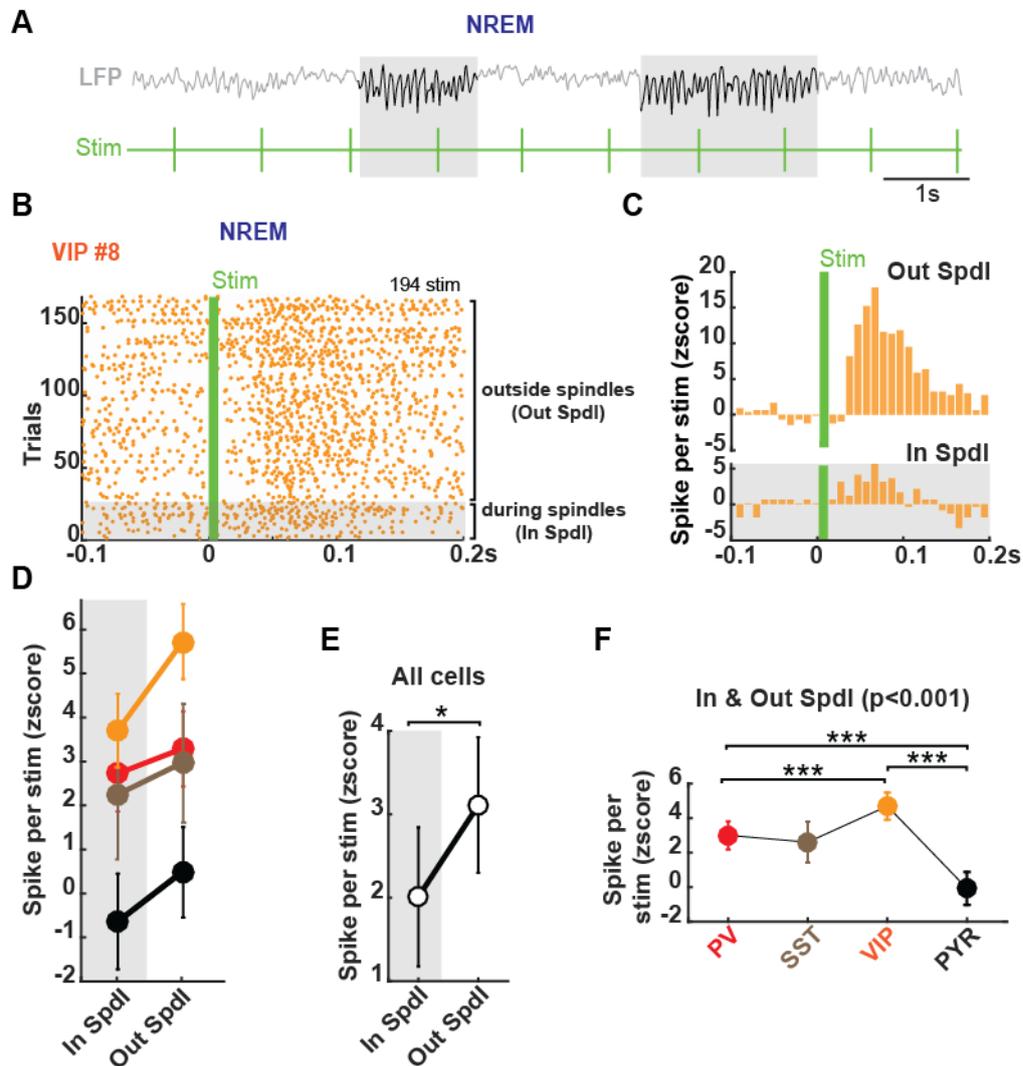


FIGURE 11: Comparison of neuronal responses to whisker deflection occurring inside or outside spindles detected in NREM sleep. **A.** Example of spindles (black lines and gray shaded box) detected on LFP recordings during NREM sleep. Deflections were sorted according to their occurrence outside or inside spindles. **B.** Example raster plot for a VIP cell during NREM sleep. Deflections occurring during spindles are highlighted by the gray shaded box (bottom). **C.** Z-scored PSTH for the same VIP cell and in B, for deflections occurring outside spindles (top) and inside spindles (bottom). Note that the intensity of the response modulation is larger when deflections were triggered outside spindles. **D.** Estimated means of spikes per stim according to the occurrence of whisker deflections inside or outside spindles, and for each neuronal subtypes (PV : red, VIP : orange; SST : brown; PYR : black). **E.** Estimated means of spikes per stim according to the occurrence of whisker deflections, inside or outside spindles independently of neuronal subtype. Cortical cells responded better when whisker deflections occurred outside spindles compared to inside spindles. **F.** Estimated means of spikes per stim according to neuronal subtype, for all whisker deflections during NREM sleep. On average, VIP cells responded more to a deflection than PYR and PV cells and PV cells responded more than PYR cells. Estimated means and standard error are represented in plot D, E and F.

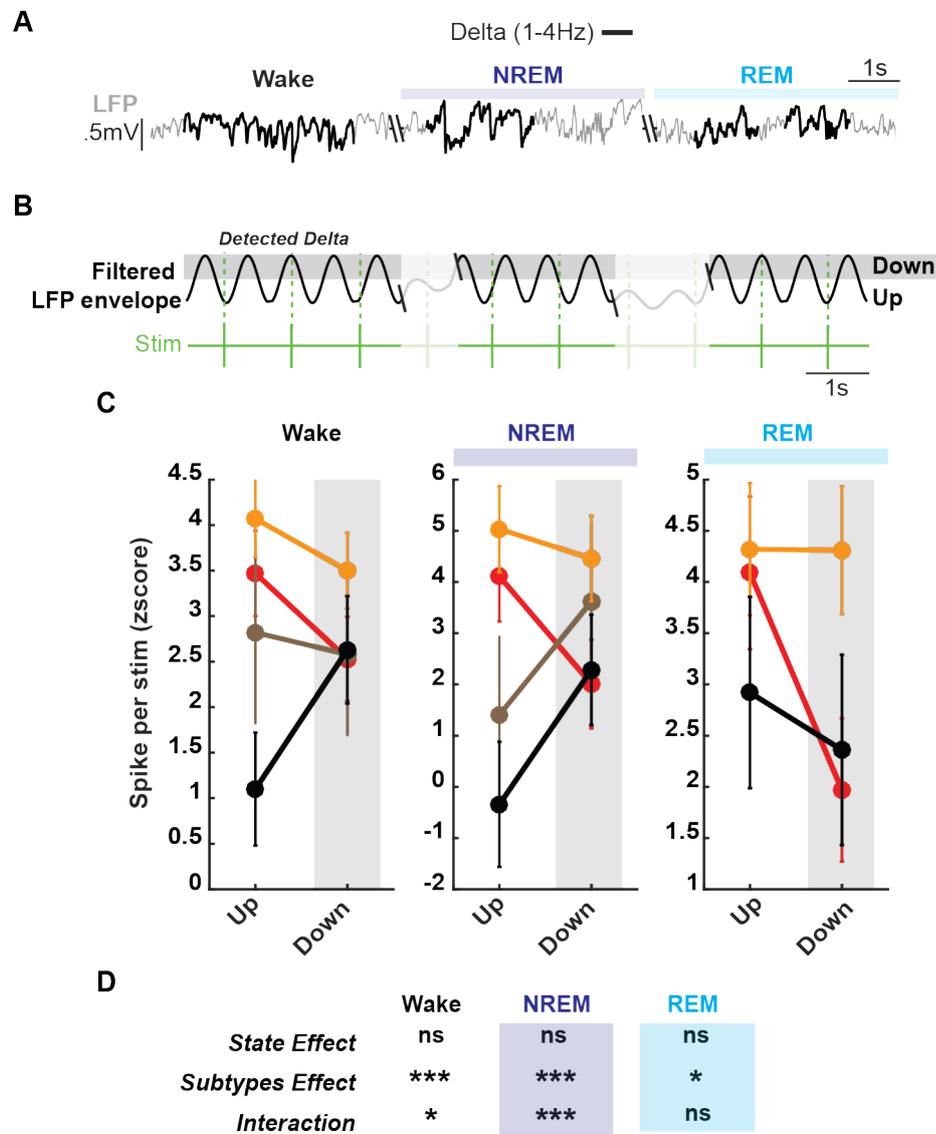


FIGURE 12: Evaluation of the cortical response to a whisker deflections occurring in the Up or in the Down phase of delta oscillation. **A.** Example of detected delta waves (1-4 Hz) on LFP recordings in Wake, NREM and REM sleep. **B.** Schema of detection of Up and Down phase of detected delta waves and the occurrence of whisker deflections. **C.** Estimated means of spike per stim according to the phase of delta waves and to the neurons subtypes in Wake, NREM and REM. **D.** Statistical results from *Satterthwaite's method*. In Wake, interneurons responded less to a deflection occurring in the Down phase of Delta oscillation while PYR cells tended to respond more. In NREM sleep, both PYR and SST cells are more responsive to a whisker deflection occurring in the Down phase of delta wave. Estimated means and standard error are represented in plot C. PV cells are in red, VIP cells in orange, SST in brown and PYR cells in black.

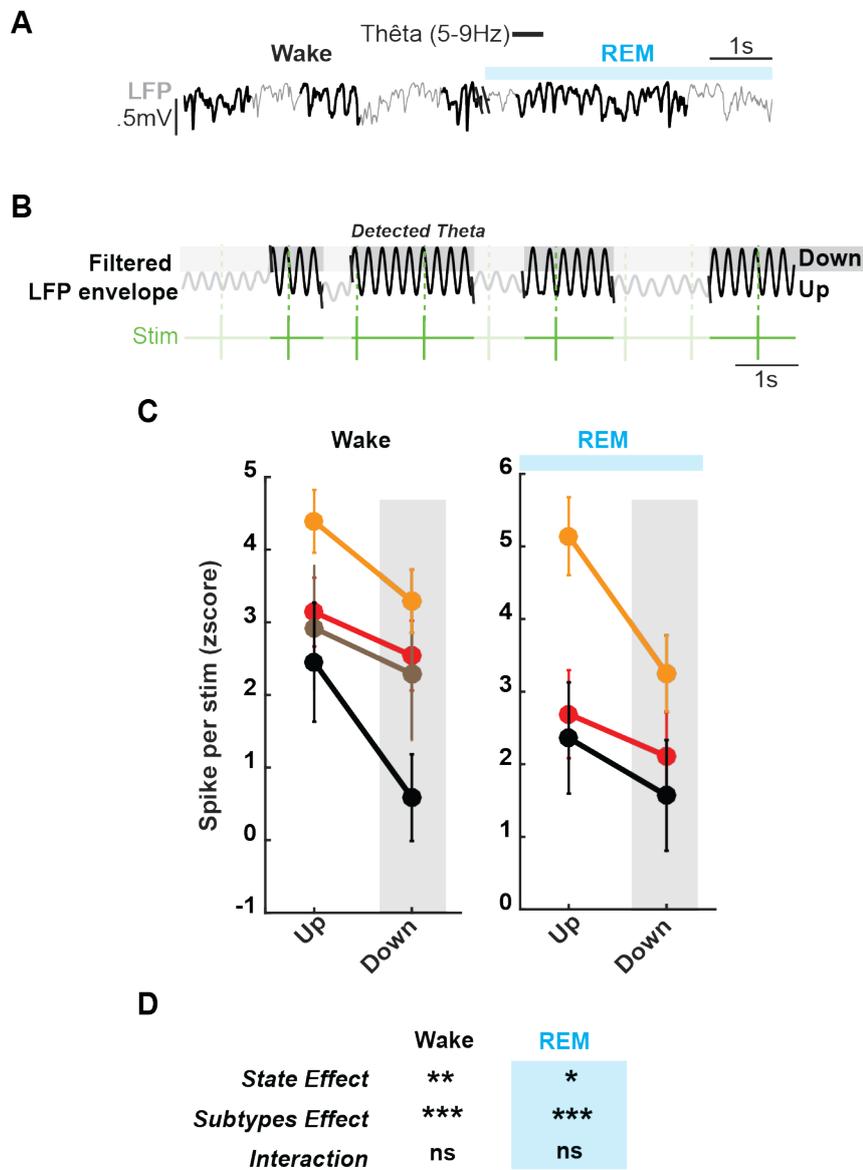


FIGURE 13: Evaluation of the cortical response to a whisker deflections occurring in the Up or in the Down phase of theta oscillation. **A.** Example of detected theta waves (5-9 Hz) on LFP recordings in Wake and REM sleep. **B.** Schema of detection of Up and Down phase of detected theta waves and the occurrence of whisker deflections. **C.** Estimated means of spike per stim according to the phase of theta waves and to the neurons subtypes in Wake and REM. **D.** Statistical results from *Satterthwaite's method*. In both Wake and REM, all cortical neurons fired less to a whisker deflection occurring in the Down phase of theta oscillation. Estimated means and standard error are represented in plot C. PV cells are in red, VIP cells in orange, SST in brown and PYR cells in black.

Discussion

Les trois états de vigilance principaux que sont l'éveil, le sommeil lent et le sommeil paradoxal présentent des activités corticales spontanées spécifiques qui sont un substrat cognitif déterminant, à la fois de notre capacité à intégrer de nouvelles informations sensorielles et à mémoriser, renforcer, ou oublier des informations acquises précédemment. Le but de cette thèse a été de démontrer qu'une activation différentielle des trois principaux acteurs de l'inhibition serait à même de profondément moduler les processus d'intégration de l'information sensorielle au cours du cycle veille-sommeil. Sachant que l'activité corticale spontanée influence l'intégration sensorielle (Férezou et Deneux, 2017), nous nous sommes donc intéressé dans un premier temps à la caractérisation de l'activité des neurones excitateurs et inhibiteurs au cours des différents états de vigilance.

Etude I

Alors que l'imagerie calcique permet l'enregistrement simultané de l'activité d'un nombre important de neurones pouvant être visuellement identifiés, l'enregistrement unitaire ciblé ou *targeted patch clamp* permet d'obtenir des informations essentielles sur les propriétés électrophysiologiques des neurones. La confrontation des résultats obtenus à l'aide de ces deux techniques complémentaires permet de s'assurer de la pertinence des observations.

Dans un premier temps, notre étude en imagerie calcique démontre que l'activité des PV et des VIP est modifiée par le cycle veille-sommeil alors qu'en moyenne les cellules pyramidales et les neurones SST ont un niveau d'activité semblable à celui de l'éveil. Les neurones PV sont activés en sommeil lent et le sont d'avantages en sommeil paradoxal. La fluorescence calcique des cellules VIP quant à elle, augmente spécifiquement en sommeil paradoxal. Nos travaux en enregistrement unitaire confirment ces résultats : nous avons observé une augmentation du taux de décharge des neurones PV en sommeil lent et sommeil paradoxal, ainsi qu'une augmentation de l'activité des cellules VIP en sommeil paradoxal et enfin une fréquence de décharge en moyenne stable pour les neurones SST et les neurones pyramidaux au cours du cycle veille-sommeil.

Les interneurons au cours du cycle veille sommeil

Les neurones PV

Les neurones PV représentent la plus grosse population d'interneurones GABAergiques corticale, et sont donc la source principale d'inhibition au sein du cortex (Rudy et collab., 2011). Une modification de leur comportement a donc un impact conséquent sur le réseau cortical.

Notre étude révèle que l'activité des neurones PV du cortex somatosensoriel primaire est fortement modulée à la hausse lors du sommeil. Ce résultat bien que robuste car répliqué par deux techniques d'enregistrement, ne semble pas avoir déjà été reporté aussi clairement dans la littérature. Niethard et collab. (2016) dans une étude similaire à la notre, rapportent une plus faible activité des neurones PV lors du sommeil lent. Pourtant, leur étude partage de nombreux points communs avec nos travaux : les mêmes lignées transgéniques de souris, la même technique d'enregistrement (imagerie calcique sous microscopie bi-photonique) ainsi que la même profondeur d'enregistrement (couches II/III). Nous pouvons toutefois rapporter que contrairement à notre étude qui a été réalisée dans le cortex somatosensoriel primaire (-2 mm caudal et -3.5 mm latéral à bregma), leurs résultats observés sur les interneurons PV ont été quant à eux obtenus dans le cortex moteur (1.1 mm caudal et 1-1.3 mm latéral par rapport à bregma). Malgré tout, il est important de noter que d'autres études faites chez des espèces différentes dans le même cortex ou non, observent également une diminution de l'activité des neurones *fast spiker*. Miyawaki et collab. (2019) à l'aide d'enregistrements multi-unitaires dans les couches profondes du cortex préfrontal de rats rapportent une diminution de l'activité des interneurons putatifs lors du sommeil lent. Dans le cortex somatosensoriel de rat, Vijayan et collab. (2010) décrivent également une fréquence de potentiel d'action des *fast spikers* plus réduite en sommeil lent en comparaison aux autres états de vigilance. De la même façon, dans une étude chez le chat, les interneurons *fast spiker* du cortex moteur et du cortex somatosensoriel ont une activité diminuée en sommeil lent (Steriade et collab., 2001). Nous n'excluons donc pas la possibilité que les interneurons pourraient avoir différents patterns d'activité lors du sommeil lent selon l'espèce et la région corticale étudiée. En particulier, le cortex somatosensoriel primaire est une des premières régions corticales recevant les informations liées aux stimulations sensorielles. Sachant que le sommeil est intimement lié à une diminution du seuil de réactivité au stimuli, l'inhibition corticale au sein de ce cortex pourrait être différente de celle des autres cortex. De plus, il peut exister des différences notables entre différentes régions corticales comme la morphologie ou le pattern de décharge observé dans les neurones (Neske et collab., 2015; Scala et collab., 2019).

Cette augmentation de l'activité des neurones PV que nous avons observée lors du sommeil lent pourrait s'expliquer par une activation du thalamus. Zucca et collab. (2019) proposent que les

périodes des silences observées au niveau du cortex lors du sommeil lent pourraient être dues à une forte activation des neurones PV par le noyau thalamique VPM. En effet sous anesthésie, la durée des *Down states* est raccourcie après l'inactivation du VPM. Cette inactivation induit également dans les neurones PV une diminution du taux de décharge dans les *Down states*. De plus il est dorénavant bien établi que les neurones PV sont intimement liés aux neurones thalamo-corticaux (Gabernet et collab., 2005; Bruno et Sakmann, 2006).

En sommeil paradoxal en revanche, plusieurs études rapportent, à l'instar de nos travaux, une augmentation de l'activité des neurones PV ou des neurones *fast spiker*. Chez le chat, les interneurones *fast spiker* du cortex moteur et du cortex somatosensoriel auraient une activité accrue en sommeil paradoxal (Steriade et collab., 2001). De même chez les macaques, les neurones *fast spiker* du cortex moteur primaire diminueraient leur taux de décharge lors d'un réveil (Steriade et Deschênes, 1973). Plus récemment, Miyawaki et collab. (2019) ont observé que l'activité des interneurones putatifs augmente lors du sommeil paradoxal dans les couches profondes du cortex préfrontal de rat.

Les neurones SST

Contrairement aux neurones PV, aucune différence d'activité des cellules SST n'a été retrouvée entre l'éveil, le sommeil lent et le sommeil paradoxal en imagerie calcique et en enregistrement unitaire. Peu d'études se sont pour l'heure intéressées à l'activité des neurones SST lors du sommeil. Dans le cortex moteur, Niethard et collab. (2016) montrent une diminution nette de la fluorescence des neurones SST lors du sommeil lent et du sommeil paradoxal par rapport à l'éveil. Funk et collab. (2017) ont également caractérisé l'activité de quelques neurones SST dans le cortex moteur secondaire. Ils rapportent que le taux de décharge est plus élevé en sommeil lent qu'en sommeil paradoxal pour deux des 3 cellules étudiées.

En revanche nos enregistrements ciblés en *patch clamp* ont pu révéler des différences plus subtiles dans leurs patterns de décharge : une augmentation nette de la proportion de *bursts* de haute fréquence (> 100 Hz) en sommeil lent spécifiquement, accompagné d'une diminution du mode de décharge tonique. Cette modification du pattern de décharge pourrait notamment participer à la génération d'ondes lentes. Chez le rat libre de ses mouvements, les neurones SST déchargeraient avant les périodes de silence *Down states* du sommeil lent, pour induire la période de silence (Funk et collab., 2016). L'activation chimogénétique des SST induirait une augmentation de la puissance des ondes lentes ainsi que des périodes de sommeil lent plus longues. A l'inverse, l'inhibition chimogénétique des SST diminuerait la puissance et la quantité d'ondes lentes (Funk et collab., 2016). Toutefois, l'étude détaillée de la phase des potentiels d'action sur les ondes lentes

dans la bande delta pendant le sommeil lent ne nous permet pas de reproduire ces résultats : les neurones SST déchargent en moyenne au creux de l'oscillation lente.

D'autres études soutiennent que les neurones SST seraient intimement liés aux oscillations lentes. Zielinski et collab. (2019) proposent que ce serait les neurones SST qui co-expriment la nNOs qui seraient impliqués dans la génération des ondes lentes et même dans les processus mnésiques. En effet les interneurons exprimant nNOs ont pendant longtemps été caractérisés comme des neurones activés lors du sommeil (Wisor et collab., 2011). Toutefois seulement 1 à 40% des neurones SST seraient capables de co-exprimer la nNOs (Yavorska et Wehr, 2016).

Les neurones VIP

Un des résultats majeur de notre étude est la découverte de l'augmentation de l'activité des neurones VIP lors du sommeil paradoxal. A notre connaissance, aucune étude n'a pour l'heure étudié de façon ciblée le taux de décharge de ce sous-type neuronal au cours des différents états de vigilance. Toutefois ce résultat semble tout à fait en accord avec la littérature. En effet, le sommeil paradoxal correspond à l'état de vigilance dans lequel la libération d'acétylcholine par les neurones du télencéphale basal serait la plus forte (Vazquez et Baghdoyan, 2000). En parallèle, plusieurs études ont par ailleurs déjà démontré que l'acétylcholine pouvait avoir un lien direct sur le taux de décharge des neurones VIP via les récepteurs nicotiques et muscariniques (Férézou et collab., 2002; Alitto et Dan, 2013; Prönncke et collab., 2019). De plus l'implication des neurones VIP a déjà été mise en évidence dans l'intégration des signaux provenant des fibres longues distances (Lee et collab., 2013). Cette augmentation de l'activité des neurones VIP pendant le sommeil paradoxal pourrait donc être directement en lien avec la libération d'acétylcholine, qui à l'instar du taux de décharge des neurones VIP est faible en sommeil lent et augmente en sommeil paradoxal (Vazquez et Baghdoyan, 2000).

Intégration des résultats au sein du réseau

L'ensemble de nos résultats peuvent s'intégrer dans la micro-circuiterie corticale préalablement établie dans la littérature. Dans la couche II/III, les neurones PV exercent principalement leur inhibition sur les neurones pyramidaux au niveau péri-somatique (Kawaguchi et Kubota, 1997), les neurones VIP inhibent préférentiellement les neurones SST (Lee et collab., 2013) et enfin les neurones SST ciblent en majorité les dendrites apicales des neurones pyramidaux (Atallah et collab., 2012). Les fibres monoaminergiques et les afférences cortico-corticales innervent l'ensemble des neurones et plus particulièrement les neurones pyramidaux et les neurones VIP (Férézou et collab., 2002; Lee et collab., 2013; Prönncke et collab., 2019). En parallèle les

afférences sensorielles en provenance du thalamus et relayées par la couche IV ciblent les neurones excitateurs dans leur région péri-somatique. Lorsque la fréquence de décharge des neurones PV est modérée, comme lors de l'éveil, les informations sensorielles sont intégrées par les neurones pyramidaux notamment via le motif d'inhibition anticipative *feed forward inhibition*, permettant une transmission efficace de l'information (Gabernet et collab., 2005) (Figure 1 à gauche).

Lors du sommeil lent, les neurones thalamo-corticaux présentent un pattern de décharge en bouffées (Llinás et Steriade, 2006). L'augmentation du taux de décharge des neurones PV et le passage d'un mode tonique à un mode en bouffées, pourrait être directement lié au changement de pattern des neurones thalamo-corticaux (Zucca et collab., 2019). En parallèle, la libération de monoamines dans le cortex chute (Brown et collab., 2012). Les neurones VIP tendent à diminuer leur fréquence de décharge et adoptent un pattern plus irrégulier. Enfin les neurones SST tout en gardant le même taux de décharge, présentent un plus grand nombre de *burst* de hautes fréquences. Ce changement de mode de pattern des neurones SST, qu'il soit lié ou non à la légère diminution d'activité des neurones VIP, pourrait profondément modifier le rythme des entrées synaptiques. En effet, les neurones SST, à l'instar des neurones PV (Packer et Yuste, 2011), innervent densément les neurones pyramidaux de la couche II/III (Fino et Yuste, 2011). Ce changement de pattern des interneurons pourrait être directement lié à l'apparition d'ondes lentes sur les enregistrements LFP et EEG, reflet des entrées synaptiques (Funk et collab., 2017). En outre, l'intégration des informations cortico-corticales se faisant également au niveau des dendrites distales, pourrait être court-circuitée par l'activité en bouffées des neurones SST et induirait une altération de la communication entre les cortex pendant le sommeil lent (Figure 1 au milieu).

En sommeil paradoxal, alors que la libération des neuromodulateurs dans le cortex est toujours absente, les neurones cholinergiques du télencéphale basal déchargent à haute fréquence et libèrent dans le cortex l'acétylcholine (Vazquez et Baghdoyan, 2000). Cette libération pourrait avoir un impact direct sur les neurones VIP (Férézou et collab., 2002; Alitto et Dan, 2013; Prönnke et collab., 2019), qui voient leur fréquence de décharge augmenter à leur tour. Cette augmentation du taux de décharge pourrait conduire au changement d'activité des neurones SST. En effet, alors que la proportion de *burst* de haute fréquence des neurones SST était élevée lors du sommeil lent, celle-ci diminue en sommeil paradoxal, pour revenir à un taux semblable à celui observé en éveil. La conséquence directe pourrait être la diminution de la puissance des ondes lentes en sommeil paradoxal, pour laisser place à une activation corticale similaire à celle de l'éveil. De même, les informations en provenance d'autres cortex pourraient alors être à nouveau intégrées par les neurones pyramidaux. En revanche, l'intégration des afférences sensorielles pourrait être

directement impactée par l'activité accrue des neurones PV en sommeil paradoxal. D'autant plus que les neurones PV, parce qu'ils exercent leur inhibition à des points centraux (Somogyi, 1977), ont une grande influence sur l'émission ou non de potentiel d'action des neurones pyramidaux (Figure 1 à droite).

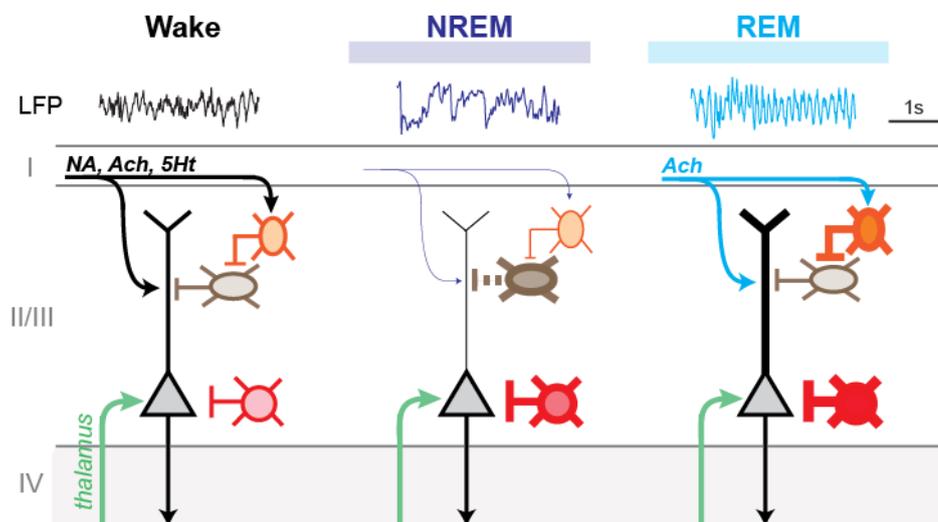


FIGURE 1: Schéma simplifié du circuit cortical au cours des états de vigilance. PV : en rouge; VIP : orange; SST : marron; PYR : noir. NA : noradréline; 5HT : sérotonine; Ach : Acétylcholine;

Les neurones pyramidaux au cours du cycle veille sommeil

Contrairement aux interneurones PV et VIP, à l'échelle de la population, les neurones pyramidaux ne modifient pas leur activité moyenne au cours des différents états de vigilance. Plusieurs études rapportent également cette absence de changement d'activité globale des neurones excitateurs corticaux. Hengen et collab. (2016) décrivent un taux de décharge moyen des *regular spiker* du cortex visuel primaire identique en éveil (actif ou silencieux), en sommeil lent et en sommeil paradoxal chez des rats libres de mouvements. De même, nos enregistrements unitaires démontrent que le mode de décharge des neurones pyramidaux reste stable au cours du cycle veille sommeil. La proportion de décharge en bouffés (> 100Hz) tend à augmenter en sommeil paradoxal, accompagnée également d'une diminution du mode décharge tonique (< 20Hz). De même l'irrégularité de la décharge des neurones excitateurs reste stable lors des différents états de vigilances cependant elle est globalement plus élevée que celle des interneurones.

Les neurones pyramidaux en sommeil lent

Il existe néanmoins, une quantité non négligeable de travaux rapportant une diminution de l'activité des neurones corticaux lors du sommeil lent. Dans le cortex somatosensoriel de rat, Vijayan et collab. (2010) et Vyazovskiy et collab. (2009) décrivent une fréquence de potentiel d'action plus réduite en sommeil lent en comparaison aux autres états de vigilance pour les *regular spiker*. De même, Niethard et collab. (2016) par une étude en *Wide-field imaging* et en imagerie calcique dans le cortex somatosensoriel primaire de la souris, démontrent que l'activité de l'ensemble de la population est diminuée lors du sommeil lent.

Senzai et collab. (2019) réconcilient une partie de la littérature en démontrant que la différence d'activité observée en éveil et en sommeil lent est liée à la profondeur des enregistrements. Dans les couches superficielles, la différence entre les deux stades de vigilances est quasi inexistante dans le cortex visuel primaire de souris libre de leurs mouvements. En revanche, dans les couches les plus profondes, l'activité en éveil devient plus forte que celle observée lors du sommeil lent.

En réalité les neurones pyramidaux pourraient contenir plusieurs sous populations de cellules différemment impactées par le cycle veille sommeil. Plusieurs études divisant les populations de neurones en fonction de leur activité en éveil ont démontré que le taux de décharge observé en éveil était anti-corrélé à l'activité observée en sommeil lent : le sommeil lent réduit l'activité des neurones pyramidaux de haute activité et augmente le taux de décharge des neurones de basse activité (Hobson et McCarley, 1971; Noda et Ross, 1973; Watson et collab., 2016).

Les neurones pyramidaux en sommeil paradoxal

Après une observation plus détaillée de l'activité calcique des neurones pyramidaux, nous avons observé une activité plus variable lors du sommeil paradoxal sur l'ensemble des neurones enregistrés. Ce phénomène a été reporté dans une autre étude récente : Miyawaki et collab. (2019) décrivent grâce à des enregistrements multi-unitaires dans les couches profondes du cortex préfrontal de rats, que la distribution des fréquences de décharge est plus large en sommeil paradoxal. Nous pouvons dès lors supposer que cette variabilité explique que de nombreuses études rapportent soit une augmentation du taux de décharges des neurones pyramidaux (Hobson et McCarley, 1971; Desiraju, 1972; Noda et Ross, 1973; Steriade et collab., 2001; Xu et collab., 2019), soit une diminution (Niethard et collab., 2016; Watson et collab., 2016), soit une absence de changement en sommeil paradoxal (Hengen et collab., 2016). Il apparaît alors plus pertinent de scinder la population des cellules pyramidales en fonction de leur activité en sommeil paradoxal plutôt qu'en éveil pour mieux caractériser leur comportement au cours du cycle veille sommeil.

Ainsi, après avoir divisé la population en fonction de leur taux d'activité en sommeil paradoxal, nous nous sommes aperçu que les cellules avec une plus forte activité lors du sommeil paradoxal émettent une fluorescence plus forte que celles qui ont un bas niveau d'activité en sommeil paradoxal. De plus, les neurones pyramidaux à haut niveau d'activité en sommeil paradoxal, ont une fluorescence plus élevée qu'en sommeil lent et qu'en éveil, alors que les neurones pyramidaux avec une faible activité en sommeil paradoxal, augmentent leur fluorescence lors du sommeil lent et de l'éveil. De même le comportement des cellules pyramidales enregistrées en imagerie calcique coïncide avec l'activité retrouvée lors des enregistrements en patch clamp. En particulier lors du sommeil paradoxal, les neurones avec une forte activité se distinguent très clairement des cellules de faible activité. De la même façon les cellules excitatrices de haute activité en sommeil paradoxal, possèdent une activité plus élevée en éveil et en sommeil lent que les neurones de faible activité.

Mais quels sont les mécanismes qui sous-tendent la formation de deux populations distinctes de neurones pyramidaux ? Plusieurs scénarios semblent possibles : soit les conductances excitatrices sont plus élevées pour les neurones pyramidaux ayant une grande activité en sommeil paradoxal, soit les conductances inhibitrices sont moins élevées chez ces mêmes neurones, ou bien une combinaison de ces deux phénomènes. Les fibres longues distances cortico-corticales et/ou les afférences sensorielles en provenance des couches inférieures et du thalamus pourraient effectivement cibler préférentiellement certains neurones pyramidaux et par conséquent induire une plus grande conductance excitatrice dans certains neurones. Dans tous les cas, sachant que la différence d'activité entre ces deux populations de neurones pyramidaux est exacerbée lors du sommeil paradoxal, les circuits impliqués devraient être d'autant plus actifs en sommeil paradoxal qu'en éveil et en sommeil lent.

Étant donné que notre étude rapporte que l'activité des neurones PV et VIP est plus forte lors du sommeil paradoxal qu'en éveil et en sommeil lent, nous pouvons supposer que les interneurones pourraient participer à la formation de deux populations distinctes de neurones pyramidaux. Mais alors comment expliquer que l'activité des cellules pyramidales en sommeil paradoxal ne soit pas homogène alors que l'activité des interneurones l'est ? Il faut tout d'abord prendre en compte qu'après avoir étudié la connectivité des neurones dans le cortex somatosensoriel des souris, Packer et Yuste (2011) démontrent que les neurones PV contactent indifféremment l'ensemble des neurones pyramidaux se situant à proximité. L'inhibition des neurones PV sur les neurones pyramidaux serait donc non-spécifique et systématique à partir du moment où les deux neurones sont proches. En revanche, nous pouvons imaginer que soit le nombre ou la force des connexions synaptiques pourrait être plus importante entre les neurones PV et les neurones pyramidaux avec une faible activité en sommeil paradoxal (Figure 2 A).

Par ailleurs, les neurones VIP pourraient également jouer un rôle. Impliqués dans un motif de désinhibition, les neurones VIP en ciblant préférentiellement les neurones SST pourraient avoir un impact indirect sur l'activité des neurones pyramidaux en sommeil paradoxal. Zhang et collab. (2014) démontrent que dans le cortex visuel, les fibres de longue distance organisées topographiquement pourraient activer de façon spécifique les neurones VIP. Cette activation spatialement restreinte conduirait alors à l'inhibition des SST et donc une levée d'inhibition des neurones pyramidaux ciblés par ces neurones SST. À l'inverse les neurones pyramidaux, ciblés par des cellules SST qui ne sont pas inhibés par des neurones VIP activés par les fibres longues distances, auraient un taux de décharge plus bas (Zhang et Bruno, 2019; Tremblay et collab., 2016). Cette modulation *top-down* serait à même de créer deux populations distinctes de neurones pyramidaux. Enfin l'activation accrue des neurones VIP lors du sommeil paradoxal pourrait alors exacerber les différences de taux de décharges observés entre les deux populations dans cet état de vigilances (Figure 2 B).

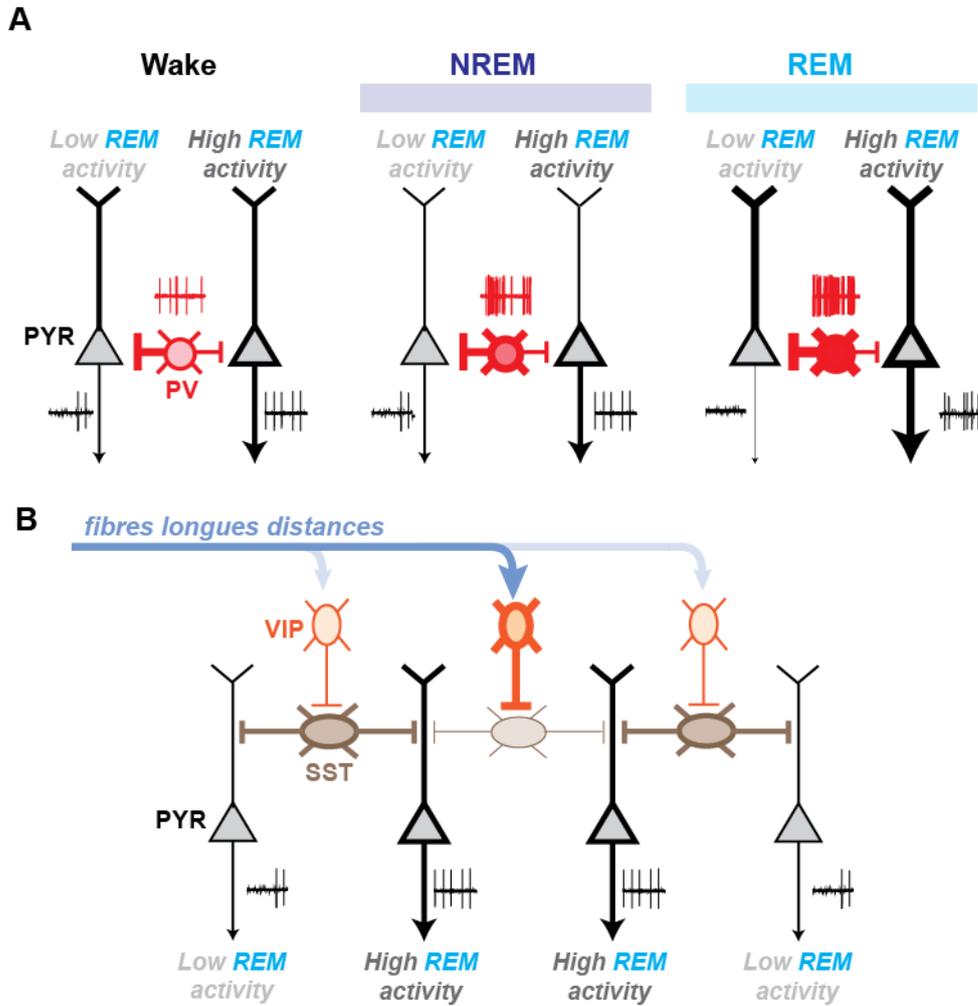


FIGURE 2: Différents modèles impliquant les interneurons dans la formation de deux populations distinctes de neurones pyramidaux. A. L'activité des neurones PV pourrait accroître la différence de taux de décharge observé au sein des neurones pyramidaux au cours des états de vigilances. **B.** Une modulation *top-down* impliquant les neurones VIP et SST pourrait également expliquer l'apparition de neurones pyramidaux avec une haute activité en REM et une basse activité en REM. Modifié de Tremblay et collab. (2016). PV : en rouge; VIP : orange; SST : marron; PYR : noir.

Les transitions

L'analyse de l'activité neuronale autour des transitions entre différents états de vigilance permet d'estimer dans quelles mesures les modulations observées au sein d'un état s'opèrent rapidement ou non. Certaines transitions au cours du cycle veille sommeil sont abruptes, comme les transitions sommeil lent à éveil ou sommeil paradoxal à éveil. D'autres transitions sont plus subtiles à identifier comme la transition sommeil lent à sommeil paradoxal. Dans notre étude nous sommes attachés d'une part à identifier les différents états de vigilances manuellement avec une grande résolution temporelle (100 ms), d'autre part les transitions ne pouvant pas être clairement définies ont été retirées de nos analyses.

Lors de notre étude en enregistrement unitaire, nous avons reporté une diminution rapide et brutale du taux de décharge des neurones pyramidaux et des neurones PV lors d'un réveil suite à un épisode de sommeil paradoxal ou de sommeil lent. Ces résultats rejoignent ceux d'une étude réalisée dans le néocortex de singes et d'hommes, stipulant que l'activité des neurones *regular spiker* était le miroir de l'activité des neurones *fast spiker* peu importe l'état de vigilance (Dehghani et collab., 2016). L'augmentation de l'activité des neurones excitateurs conduirait instantanément à l'augmentation du taux de décharge des neurones inhibiteurs et inversement. La balance excitation-inhibition serait donc dynamiquement maintenue tout au long du cycle veille sommeil.

Ces observations ont été confirmées par les résultats obtenus en imagerie calcique pour les neurones PV. De la même façon, dans une étude d'enregistrement multi-unitaires chez le rat, les neurones identifiés comme interneurones *fast spiker* voient leur taux de décharge chuter lors d'un réveil (Miyawaki et collab., 2019).

Cependant les résultats obtenus en imagerie calcique ne démontrent pas de diminution brusque de l'activité des neurones pyramidaux lors des transitions sommeil-éveil. Hengen et collab. (2016) ont également étudié le taux de décharge des neurones excitateurs lors des transitions entre le sommeil lent, le sommeil paradoxal et l'éveil lors d'enregistrements multi-unitaires chez le rat et n'ont pas détecté de changement d'activité significatif autour des états de transitions. Nous pouvons émettre l'hypothèse que lors de nos enregistrements unitaires, les neurones pyramidaux actifs en sommeil paradoxal ont particulièrement influencé l'activité moyenne enregistrée autour des états de transitions. Le nombre de cellules enregistrées étant bien plus conséquent lors de l'étude en imagerie calcique, nous pouvons supposer qu'à l'échelle de la population globale des neurones pyramidaux leur activité reste stables lors des transitions.

L'homéostasie du sommeil

Nos résultats supportent l'hypothèse qu'au sein des différents épisodes de sommeil lent et de sommeil paradoxal, le taux de décharge des neurones pyramidaux reste stable. A l'inverse, lors des épisodes d'éveil, nous avons observé une forte augmentation du taux de décharge des neurones pyramidaux entre le premier tiers de l'épisode d'éveil et le dernier tiers. Hengen et collab. (2016) ont obtenu des résultats similaires dans le cortex visuel : une activité stable des neurones corticaux au cours du sommeil alors qu'en éveil, une augmentation du taux de décharge a été observée. Toutefois ces résultats ont été obtenus lors d'un protocole de déprivation monoculaire, les neurones excitateurs controlatéral à la déprivation ont été enregistrés en continue avant et pendant la déprivation visuelle. En revanche, l'enregistrement des neurones en ipsilatéral (condition contrôle), n'a révélé aucune différence d'activité entre le début et la fin d'un épisode d'éveil (Hengen et collab., 2016). Étant donné que dans notre protocole, nous avons enregistré les neurones de la colonne corticale associés à la vibrisse C2, et que toutes les vibrisses excepté la vibrisse C2 ont été coupées, nous n'avons aucune raison de penser que l'activité de nos cellules ait été perturbée par une déprivation sensorielle. Dans une étude multi-unitaire chez le rat libre de ses mouvements, Vyazovskiy et collab. (2009) ont rapporté que le taux de décharge en éveil était différent selon la pression de sommeil. Le taux de décharge moyen en éveil a été rapporté comme plus faible après un épisode de sommeil lent, en comparaison avec l'activité observée après un épisode de sommeil, peu importe la durée du sommeil. Ces observations ont été faites sur des neurones caractérisés de *regular spiker* mais aussi sur des neurones *fast spiker*. De la même façon dans notre étude, tous les interneurones augmentent leur taux de décharge au cours d'un même épisode d'éveil. L'activité de l'ensemble des interneurones serait donc également influencée par la pression de sommeil.

L'activité corticale lors du mouvement des vibrisses

Lors de l'éveil

L'état d'éveil n'est pas homogène, il est possible de distinguer l'éveil calme avec une déactivation corticale (ou synchronisation) de l'éveil actif avec une activation corticale (Poulet et Crochet, 2019). Nous nous sommes donc attaché à différencier l'éveil calme de l'éveil actif dans nos travaux, afin de mieux caractériser l'activité de neurones corticaux. Chez les rongeurs, il est communément admis que l'éveil actif est associé à la présence de mouvement des vibrisses, c'est pourquoi nous avons monitoré l'activité des vibrisses lors de nos expérimentations. Dans un premier temps nos résultats répliquent ceux présents dans la littérature : une augmentation

de l'activité des cellules VIP et une diminution du taux de décharge des neurones SST (Gentet et collab., 2010; Lee et collab., 2013; Muñoz et Rudy, 2014; Yu et collab., 2019).

Cette modification de l'activité corticale lors des mouvements des vibrisses est contrôlée par un état interne (Poulet et collab., 2012). La section des nerfs infra-orbitaux, faisant le pont entre les récepteurs sensoriels des follicules des vibrisses et le tronc cérébral, ne modifie pas la désynchronisation corticale observée lors des mouvements des vibrisses, signifiant que l'activation du néocortex est générée de façon centrale (Poulet et Petersen, 2008). C'est en 2012 que Poulet et collab. découvrent le rôle clé du thalamus dans la modulation de l'état cortical observé en éveil actif. En effet l'activation optogénétique du thalamus conduit alors à une désynchronisation des potentiels de membrane des neurones corticaux en l'absence de mouvement des vibrisses (Poulet et collab., 2012). En revanche, l'inactivation du thalamus ne permet pas d'empêcher l'absence de fluctuations lentes dans les potentiels de membrane des cellules lors des mouvements des vibrisses, suggérant que d'autres processus centraux sont mis en jeu. Eggermann et collab. (2014) mettent alors en évidence l'importance du système cholinergique dans l'activation corticale induite en éveil actif. En effet, le blocage des récepteurs à l'acétylcholine dans le cortex somatosensoriel primaire des vibrisses empêche totalement la désynchronisation des potentiels de membranes des neurones. De la même façon, l'activation optogénétique des neurones cholinergiques induit une désynchronisation des potentiels de membrane en absence de mouvement des vibrisses (Eggermann et collab., 2014).

De façon intéressante, l'acétylcholine peut avoir des effets excitateurs ou inhibiteurs sur les différentes populations neuronales. Alitto et Dan (2013) décrivent qu'une activité modérée du télencéphale basal induit une activation des neurones pyramidaux ainsi que des neurones PV et des cellules VIP. En revanche, une activation élevée de ce noyau engendre une diminution de l'activité des neurones PV et pyramidaux. Les neurones VIP à l'inverse, sont d'avantages activés par l'augmentation de la libération d'acétylcholine (Alitto et Dan, 2013). Au sein du réseau cortical, l'activation des fibres cholinergiques lors du mouvement des vibrisses expliquerait donc l'augmentation du taux de décharge des neurones VIP observée dans notre étude, et l'absence de réponse en moyenne des neurones pyramidaux et de cellules PV. La fréquence de décharge des neurones SST quant à eux, fortement inhibés par les neurones VIP, diminuent alors.

En parallèle, Lee et collab. (2013) démontrent que l'activité des neurones VIP et SST liée aux mouvements des vibrisses était également dépendante du cortex moteur primaire des vibrisses. L'inactivation spécifique de ce cortex, empêche l'augmentation et la diminution respective du taux de décharge des neurones VIP et SST. Ces études révèlent donc que plusieurs acteurs sont nécessaires dans l'émergence de l'éveil actif, l'activation des neurones thalamiques, des neurones cholinergiques et neurones du cortex moteur primaire. Toutefois les interneurones, et

en particulier les neurones VIP et SST, semblent être les derniers acteurs du circuit induisant l'activation corticale lors de l'éveil actif.

Lors du sommeil paradoxal

De façon surprenante, une quantité non négligeable de mouvements de vibrisses ont été identifiés en dehors des périodes d'éveil et plus précisément pendant les épisodes de sommeil paradoxal. A notre connaissance, une seule étude chez des rats nouveau-nés rapporte avoir observé des mouvements de vibrisses lors du sommeil paradoxal (Tiriac et collab., 2012). Toutefois ces mouvements sont définis comme des *twitches* ou spasmes musculaires et non pas comme *whisking*. Dans notre étude réalisée chez des souris adultes, les mouvements de vibrisses observés pendant le sommeil paradoxal ont une durée similaire à ceux observés pendant l'éveil. En revanche, les vibrisses oscillent en moyenne à une fréquence différente, environ 15 Hz contre environ 8 Hz en éveil, et sont de plus faible amplitude.

Chez les rongeurs, les mouvements des vibrisses se produisant lors de l'exploration sont de large amplitude, avec une oscillation des vibrisses comprise entre 5 et 15 Hz (Berg et Kleinfeld, 2003). Un deuxième type de mouvement des vibrisses a toutefois déjà été répertorié, c'est le *whisking* fovéal. Dans ce cas, les vibrisses sont densément positionnées en avant de la tête et des mouvements plus rapides entre 15 et 25 Hz et d'une plus petite amplitude sont alors observés. Les mouvements de vibrisses dit exploratoires, serviraient à scanner avec une faible résolution des objets de gros volumes, alors que les mouvements de vibrisses fovéal permettraient d'analyser de plus petits objets, avec une meilleure précision. Au vue de la littérature et des observations que nous avons effectuées, nous pouvons déduire que les mouvements de vibrisses observés lors du sommeil paradoxal ont plus de similarité avec un mode fovéal plutôt qu'un mode exploratoire.

A l'instar des mouvements des vibrisses en éveil, ce phénomène semble lié à une modifications de l'activité des différents neurones corticaux. Les neurones VIP augmentent leur taux de décharge, et les neurones SST tendent à décroître leur activité. Les mouvements des vibrisses apparaissant lors du sommeil paradoxal déclenchent toutefois moins de changement dans l'activité que lorsqu'ils apparaissent lors de l'éveil. De même, les enregistrements en cellules entières et en LFP, mettent en évidence que contrairement à l'éveil, les mouvements des vibrisses n'induisent pas une activation corticale, avec une réduction des oscillations de faible fréquence.

Alors que lors des mouvements de vibrisses exploratoires, les muscles intrinsèques et extrinsèques liés respectivement à la protraction et à la rétraction sont tous les deux recrutés, lors de mouvements de vibrisses fovéal seuls les muscles intrinsèques sont recrutés (Berg et Kleinfeld, 2003). Or le cortex somatosensoriel primaire de vibrisses aurait un rôle clef dans les mouvements

de rétractation alors que le cortex moteur primaire des vibrisses contribuerait plus grandement à la protraction des vibrisses (Matyas et collab., 2010). Il se pourrait donc que l'activité des neurones du cortex moteur soit plus amplement sollicitée lors des mouvements des vibrisses observés pendant le sommeil paradoxal. Des études complémentaires sont à mener pour mieux comprendre comment ces mouvements musculaires peuvent apparaître dans un état de vigilance où l'atonie domine. De même, le rôle de ces mouvements de vibrisses lors du sommeil paradoxal reste encore à déterminer.

Les oscillations du cycle veille sommeil

Les oscillations corticales représentent une mesure complexe de l'activité sous-jacente des réseaux neuronaux (Buzsáki et collab., 2016). Or, les interneurons corticaux semblent jouer un rôle-clé dans la genèse et le maintien de certaines ondes physiologiques (Cardin et collab., 2008; Siegle et collab., 2014). Cependant, leurs implications dans la régulation ou la transmission des oscillations observées en sommeil restent peu étudiées.

Le thêta

Le rythme thêta permet de synchroniser les potentiels d'action des neurones excitateurs et facilite la plasticité synaptique. Cette plasticité est essentielle pour encoder la navigation spatiale et la mémoire épisodique (Liebe et collab., 2012). L'étude de la phase des décharges neuronales sur les ondes thêta ont mis en évidence plusieurs phénomènes intéressants. De façon générale, les neurones corticaux, excitateurs et inhibiteurs, sont plus nombreux à être modulés par la phase de l'oscillation thêta en éveil qu'en sommeil paradoxal. De plus, sur l'ensemble de la population modulée, nous observons un léger décalage de la phase à laquelle décharge les neurones en sommeil paradoxal par rapport à l'éveil. Lors de l'éveil, les interneurons tendent à décharger avant le creux de l'onde thêta alors que les neurones pyramidaux déchargent légèrement après le creux de l'onde. À l'inverse, lors du sommeil paradoxal, les neurones pyramidaux déchargent en moyenne avant les interneurons et le creux du thêta. L'ensemble de ces observations nous laisse penser que comme le suggèrent Montgomery et collab. (2008), le thêta de l'éveil pourrait être différent du thêta observés lors du sommeil paradoxal. De plus dans notre paradigme, les animaux n'étaient pas libres de leurs mouvements, par conséquent le thêta observé lors de l'éveil n'était donc pas exploratoire. Enfin il existe de plus en plus de preuves démontrant que l'hippocampe ne serait pas le seul générateur de thêta et que le néocortex serait aussi capable de produire son propre rythme thêta (Cantero et collab., 2003). Sachant que l'enregistrement des ondes thêta dans notre étude a été réalisé en local grâce aux enregistrements de potentiel de

champ locaux et que nous observons une plus grande modulation par la phase des neurones corticaux en éveil, nous pouvons émettre l'hypothèse que le thêta enregistré lors de l'éveil -non associé à l'exploration- pourrait en partie être généré localement par le néocortex. De même, une étude récente suggère que l'oscillation thêta du sommeil paradoxal réduirait la synchronie des neurones de l'hippocampe et du cortex entorhinal (Mizuseki et Buzsaki, 2014). Ces résultats peuvent être mis en relation avec notre étude qui démontrent une plus faible modulation des neurones corticaux au thêta lors du sommeil paradoxal. Toutefois ces observations pourraient être dépendant du cortex étudié : Koike et collab. (2017) démontrent que contrairement au cortex cingulaire antérieur, les neurones du cortex rétrospineale sont particulièrement modulés par la phase du thêta hippocampique en sommeil paradoxal.

Le delta

Les ondes lentes du sommeil sont représentatives des stades les plus profonds du sommeil lent et sont générées par la boucle thalamo-cortico-thalamique (Steriade et collab., 1993a). Observées également lors de l'éveil calme (Fernandez et collab., 2017), de récentes études ont démontré que des ondes lentes locales appartenant à la bande de fréquence delta pouvaient également se produire lors du sommeil paradoxal (Funk et collab., 2016; Bernardi et collab., 2019). Nous avons donc étudié la synchronie des décharges des neurones pyramidaux et GABAergiques lors des oscillations lentes de la bande delta (1-4Hz) lors de l'éveil, le sommeil lent et le sommeil paradoxal. Nos résultats démontrent que l'ensemble des neurones corticaux modulés semblent décharger au creux de l'onde delta. De plus, la proportion de neurones modulés par la phase de l'oscillation delta est sensiblement indépendante de l'état de vigilance. Toutefois nous pouvons noter que les neurones SST forment la population neuronale la moins modulée par les ondes lentes, ce qui est en accord avec une étude précédente (Gentet et collab., 2012) et notre étude I qui démontrent que les potentiels de membrane des cellules SST présenteraient moins de fluctuations lentes que les autres neurones corticaux. En revanche, selon Funk et collab. (2016) les neurones SST déchargeraient avant les périodes de silence *Down states* du sommeil lent, et seraient responsables de la période de silence qui s'en suit. Ces observations n'ont cependant pas été répliquées dans notre étude.

Les fuseaux du sommeil et les delta event

Les fuseaux du sommeil apparaissant exclusivement lors du sommeil lent, peuvent être accompagnés d'autres oscillations. De plus, en fonction de l'onde par laquelle ils sont portés, les fuseaux du sommeil pourraient ne pas avoir le même impact sur la consolidation mnésique

(Kim et collab., 2019). Une étude récente a mis en évidence l'implication des neurones PV, SST et pyramidaux dans les oscillations lentes et les fuseaux du sommeil en sommeil lent (Niethard et collab., 2018). Selon leur travaux, les neurones SST voient leur activité décroître lors des fuseaux du sommeil, contrairement aux neurones PV et aux neurones pyramidaux. Toutefois ils observent que lorsque les fuseaux du sommeil sont nichés dans une oscillation lente, l'inhibition des neurones SST est moins forte, et l'activité des neurones pyramidaux et PV devient plus grande que lorsque les fuseaux du sommeil ne sont pas accompagné de l'oscillation lente (Niethard et collab., 2018). L'oscillation lente aurait donc pour but de potentialiser les effets des fuseaux du sommeil. De façon similaire, chez le rat, la synchronisation des décharges des neurones corticaux du cortex moteur primaire est augmentée pendant les fuseaux du sommeil si ceux ci sont précédés dans une onde lente (Silversmith et collab., 2020). De plus, après avoir pratiqué une nouvelle tâche motrice, les auteurs décrivent un plus grandes quantité de fuseaux du sommeil précédé d'une onde lente. Ces résultats renforcent l'hypothèse selon la quelle les *delta event* précédant les fuseaux du sommeil sont important dans la consolidation mnésique.

De façon intéressante, nos résultats confortent ces observations et permet d'apporter de nouvelles pistes pour mieux comprendre comment ces *delta event* pourrait modifier le réseau cortical. Dans un premier temps, à l'instar de Niethard et collab. (2018), nous retrouvons lors des fuseaux du sommeil, une activation des neurones pyramidaux et PV, et une diminution de l'activité des neurones SST. Les neurones VIP, qui à notre connaissance n'avaient pas été étudiés pendant les fuseaux du sommeil, ne modifient pas leur taux de décharge lors des fuseaux du sommeil. En revanche, lorsque les fuseaux du sommeil sont précédé d'un *delta event*, nous observons une augmentation du taux de décharge de l'ensemble des sous-types neuronaux, à l'exception des cellules SST, à l'intérieur des fuseaux du sommeil. Une analyse plus précise nous a permis de mettre en évidence une augmentation de l'activité des neurones VIP entre la fin du *delta event* et le début des fuseaux du sommeil. Ce rebond d'activité spécifique aux cellules VIP pourrait induire un levée d'inhibition des neurones excitateurs et pourrait permettre alors une transmission plus efficace du signal lors des fuseaux du sommeil précédé d'un *delta event*.

Etude II

Dans notre première étude nous avons mis en évidence que l'activité spontanée de l'ensemble des acteurs de la balance excitation-inhibition est modulée au cours du cycle veille-sommeil. En particulier, l'inhibition exercée au niveau distal et péri-somatique des neurones pyramidaux est hautement modifiée lors du sommeil lent et du sommeil paradoxal. Toutefois, nous ne connaissons pas l'impact de cette inhibition sur l'intégration des différents signaux. Il est par ailleurs reconnu que l'activité spontanée influence directement la réponse évoquée par un

stimulus sensoriel (Férezou et Deneux, 2017). Nous nous sommes alors demandé comment ces différents sous-types neuronaux participent à une réponse sensorielle évoquée lors du sommeil. Des stimulations sensorielles n'induisant pas de réveil ont été appliquées tout au long du cycle veille sommeil, et la réponse évoquée des neurones inhibiteurs et excitateurs a été mesurée.

Une réponse évoquée plus forte chez les interneurons

Indépendamment des états de vigilances, notre étude démontre que les interneurons PV et VIP sont plus nombreux à répondre de façon supraliminaire à une stimulation sensorielle que les neurones SST et pyramidaux. De plus les neurones PV et VIP répondent individuellement plus fortement à une stimulation sensorielle que les neurones excitateurs. Ce recrutement des interneurons a notamment déjà été mis en évidence lors de déflexions passives réalisées lors de l'éveil (Cardin et collab., 2008; Gentet et collab., 2012; Reyes-Puerta et collab., 2015) mais également lors de contacts actifs (Gentet et collab., 2012; Yu et collab., 2019). De façon intéressante, Haider et collab. (2013) ont mis en évidence grâce à des enregistrements *in vivo* dans le cortex visuel, que la réponse corticale à un stimulus visuel est dominée par les conductances inhibitrices. Ces observations sont en accord avec nos résultats qui démontrent que les interneurons répondent plus fortement à un stimulus sensoriel que les neurones excitateurs.

Cependant notre protocole n'a pas permis d'induire une diminution du taux de décharge des neurones SST en éveil comme attendu (Gentet et collab., 2012). Il faut toutefois noter que nos stimulations étaient volontairement de faible amplitude et de courte durée afin de ne pas réveiller l'animal. Il se pourrait donc que contrairement aux autres neurones, les interneurons SST ne s'engagent dans une réponse sensorielle uniquement pour des stimulations de plus forte amplitude. Par ailleurs, une inhibition supraliminaire reste plus compliquée à mettre en évidence lorsque les sous-types neuronaux possèdent un taux de décharge peu élevé.

Une réponse évoquée corticale plus forte en sommeil lent

Nos résultats démontrent que tous les neurones corticaux répondent plus amplement et plus rapidement à une stimulation évoquée lors du sommeil lent. Ces observations ont par ailleurs déjà été effectuées dans de nombreuses études chez l'homme et l'animal en mesurant le potentiel évoqué en EEG ou LFP (Hutrenlocher, 1959; Van Luijtelaaar et collab., 1998; Nir et collab., 2015, pour revue Velluti 1997; Rector et collab. 2009).

Dans la plupart des modalités sensorielles, les informations externes sont relayées par le thalamus avant de rejoindre le cortex. Le thalamus est donc assimilé à une porte d'entrée des afférences sensorielles. Or pendant longtemps, cette porte était considérée comme fermée lors du sommeil

lent, empêchant la transmission de signaux au cortex, ce qui expliquerait l'augmentation du seuil de perception (Rechtschaffen et collab., 1966). En effet le pattern de décharge tonique des neurones thalamo-corticaux observé pendant l'éveil et le sommeil paradoxal serait propice à une transmission efficace des signaux, contrairement au mode de décharge en bouffées dominant lors du sommeil lent (Steriade et Deschênes, 1973). Un autre point de vue est celui selon lequel ces deux modes de décharges modifieraient la qualité de l'information : un mode de décharge tonique permettrait de transmettre de façon plus "juste" le signal, alors qu'un mode de décharge en bouffées permettrait d'avoir une meilleure détectabilité des signaux (Sherman, 2001). De même il a été démontré que les *bursts* des hautes fréquences (< 100Hz) modèleraient fortement l'intégration synaptique et pourraient augmenter l'efficacité de la transmission (Lisman, 1997). Ainsi les neurones thalamo-corticaux seraient toujours capable de transmettre l'information sensorielle au cortex lors du sommeil lent. Toutefois le sommeil lent n'est pas uniforme et des oscillations spécifiques le composent. Nous avons donc décidé dans un second temps, d'analyser la réponse évoquée en fonction de la phase active ou silencieuse des différentes oscillations retrouvées au cours du cycle veille sommeil.

Une modulation par les phases actives et silencieuses des oscillations

La présence d'une réponse évoquée plus ample lors du sommeil lent pourrait s'expliquer par le fait que le sommeil lent est composé d'ondes lentes, faites de périodes d'activités *Up* et de périodes silencieuses *Down*, où les neurones corticaux sont respectivement dépolarisés ou hyperpolarisés. Plusieurs études suggèrent que l'augmentation de l'amplitude de la réponse évoquée en sommeil lent est la conséquence de l'activation des neurones corticaux dans leurs phases hyperpolarisées (Rector et collab., 2009; Jellema et collab., 2004).

Nous avons donc en mis en relation la réponse corticale des différents sous-types neuronaux avec les phases observées en LFP de *Up* et de *Down states*. Pour cela nous avons détecté sur les enregistrements de potentiel de champ locaux les périodes de bouffées de delta (1-4Hz) lors du sommeil lent. De façon surprenante, en sommeil lent, nos résultats indiquent que l'intensité de la réponse évoquée est différemment modulée par la phase de l'oscillation delta selon la nature du neurone concerné. En effet, d'un côté les neurones pyramidaux répondent plus amplement à un stimulus apparaissant dans la phase hyperpolarisée ou *Down* du delta, alors que les interneurones se comportent de la façon inverse.

Enfin nous avons répété l'opération sur les oscillations thêta (5-9Hz), oscillation majeure du sommeil paradoxal et de l'éveil. A l'inverse, lors des bouffées de thêta l'ensemble des neurones corticaux, inhibiteurs ou excitateurs répondent plus faiblement à une stimulation si cette dernière

est localisée dans le *Down* de l'onde thêta. De plus, ces résultats ont été observés pour les ondes thêta de l'éveil mais aussi du sommeil paradoxal.

Il semblerait donc que l'impact de la phase sur la réponse évoquée ne soit pas la même selon la nature de l'oscillation considérée.

Une modulation par les fuseaux du sommeil

Les fuseaux du sommeil ont longtemps été décrits comme inhibant la réponse évoquée corticale (Steriade, 1991). Une étude en IRM fonctionnel chez l'homme soutient ce point de vue en démontrant l'absence d'activité cérébrale évoquée par un stimulus acoustique lors des fuseaux du sommeil (Schabus et collab., 2012). De la même façon lors de notre étude, la réponse évoquée de l'ensemble de nos neurones corticaux se retrouve diminuée lorsqu'une stimulation se produit à l'intérieur des fuseaux du sommeil. L'absence de réponse des neurones inhibiteurs laisse à penser que le flux d'information serait déjà réduit lorsqu'il est transmis aux neurones du néocortex. Le thalamus pourrait être à l'origine de cette altération de la transmission de l'influx sensoriel au cortex lors des fuseaux du sommeil. En effet, comme vu dans le chapitre II, les neurones thalamiques adoptent un pattern de décharge en bouffées qui empêcherait une transmission efficace du signal aux neurones corticaux (McCormick et Bal, 1994). Il serait alors intéressant de mesurer la réponse des neurones thalamiques lors d'une stimulation sensorielle lors du sommeil lent notamment lors des fuseaux du sommeil afin de mieux appréhender les mécanismes mis en jeu.

Perspectives

Pour conclure, l'ensemble de ces résultats mettent en lumière une réorganisation du réseau cortical pendant le cycle veille sommeil avec notamment, une activation différentielle des neurones inhibiteurs GABAergiques. Cette thèse met également en évidence l'importance de considérer les différents sous-types d'interneurones GABAergiques. Enfin dans son ensemble ces travaux permettent de mieux comprendre comment la balance entre excitation et inhibition peut être maintenue dans des états de vigilances fondamentalement différents tout en leur conférant des propriétés physiologiques spécifiques. Des investigations supplémentaires pourraient permettre de mettre en avant les conséquences fonctionnelles de l'activation différentielle des neurones inhibiteurs GABAergiques au cours des différents états de vigilances dans les processus synaptiques ou encore dans la consolidation mnésique.

Bibliographie

- Aeschbach, D., J. R. Matthews, T. T. Postolache, M. A. Jackson, H. A. Giesen, and T. A. Wehr (1997). Dynamics of the human EEG during prolonged wakefulness : Evidence for frequency-specific circadian and homeostatic influences. *Neuroscience Letters* 239(2-3), 121–124.
- Alitto, H. J. and Y. Dan (2013). Cell-type-specific modulation of neocortical activity by basal forebrain input. *Frontiers in Systems Neuroscience* 6, 1–12.
- Anafi, R. C., M. S. Kayser, and D. M. Raizen (2019). Exploring phylogeny to find the function of sleep. *Nature Reviews Neuroscience* 20(2), 109–116.
- Ascoli, G. A., L. Alonso-Nanclares, S. A. Anderson, G. Barrionuevo, R. Benavides-Piccione, A. Burkhalter, G. Buzsáki, B. Cauli, J. DeFelipe, A. Fairén, D. Feldmeyer, G. Fishell, Y. Fregnac, T. F. Freund, D. Gardner, E. P. Gardner, J. H. Goldberg, M. Helmstaedter, S. Hestrin, F. Karube, Z. F. Kisvárdy, B. Lambolez, D. A. Lewis, O. Marin, H. Markram, A. Muñoz, A. Packer, C. C. H. Petersen, K. S. Rockland, J. Rossier, B. Rudy, P. Somogyi, J. F. Staiger, G. Tamas, A. M. Thomson, M. Toledo-Rodriguez, Y. Wang, D. C. West, R. Yuste., and Our (2008). Petilla terminology : nomenclature of features of GABAergic interneurons of the cerebral cortex The Petilla Interneuron Nomenclature Group (PING)*. *Nat Rev Neurosci* 9(7), 557–568.
- Atallah, B. V., W. Bruns, M. Carandini, and M. Scanziani (2012). Parvalbumin-Expressing Interneurons Linearly Transform Cortical Responses to Visual Stimuli. *Neuron* 73(1), 159–170.
- Barthó, P., H. Hirase, L. Monconduit, M. Zugaro, K. D. Harris, and G. Buzsáki (2004). Characterization of Neocortical Principal Cells and Interneurons by Network Interactions and Extracellular Features. *J Neurophysiol* 92, 600–608.
- Bastuji, H. and L. García-Larrea (1999). Evoked potentials as a tool for the investigation of human sleep. *Sleep Medicine Reviews* 3(1), 23–45.
- Batista-Brito, R., E. Zagha, J. M. Ratliff, and M. Vinck (2018). Modulation of cortical circuits by top-down processing and arousal state in health and disease. *Current Opinion in Neurobiology* 52, 172–181.
- Berg, R. W. and D. Kleinfeld (2003). Rhythmic whisking by rat : Retraction as well as protraction of the vibrissae is under active muscular control. *Journal of Neurophysiology* 89(1), 104–117.
- Bernardi, G., M. Betta, E. Ricciardi, P. Pietrini, G. Tononi, and F. Siclari (2019). Regional delta waves in human rapid eye movement sleep. *Journal of Neuroscience* 39(14), 2686–2697.
- Bienenstock, E. L., L. Cooper, and P. W. Munro (1982). Theory for the development of neuron selectivity : orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *Journal of Neuroscience* 2(1), 32–48.
- Boldog, E., T. Bakken, R. Hodge, M. Novotny, B. Aevermann, J. Baka, S. Bordé, J. Close, F. Diez-Fuertes, S.-L. Ding, N. Faragó, Á. Kocsis, B. Kovács, J. McCorrison, J. Miller, G. Molnár, G. Oláh, A. Ozsvár, M. Rózsa, S. Shehata, K. Smith, S. Sunkin, D. Tran, P. Venepally, A. Wall, L. Puskás, P. Barzó, F. Steemers, N. Schork, R. Scheuermann, R. Lasken, E. Lein, and G. Tamás (2017). Transcriptomic and morphophysiological evidence for a specialized human cortical GABAergic cell type. *bioRxiv*, 216085.
- Borg-Graham, L. J., C. Monier, and Y. Fregnac (1998). Visual input evokes transient and strong shunting inhibition in visual cortical neurons. *Nature* 393(6683), 369–373.
- Born, J., B. Rasch, and S. Gais (2006). Sleep to remember. *Neuroscientist* 12(5), 410–424.

-
- Boyce, R., S. D. Glasgow, and S. Williams (2016). Causal evidence for the role of REM sleep theta rhythm in contextual memory consolidation. *Sleep* 23(2013).
- Brown, R. E., R. Basheer, J. T. McKenna, R. E. Strecker, and R. W. McCarley (2012). Control of Sleep and Wakefulness. *Physiol Rev* 92, 1087–1187.
- Bruno, R. M. and B. Sakmann (2006). Cortex is driven by weak but synchronously active thalamocortical synapses. *Science* 312(5780), 1622–1627.
- Buzsáki, G., C. A. Anastassiou, and C. Koch (2016). The origin of extracellular fields and currents — EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature Reviews Neuroscience* 13(6), 407–420.
- Cantero, J. L., M. Atienza, R. Stickgold, M. J. Kahana, J. R. Madsen, and B. Kocsis (2003). Sleep-Dependent θ Oscillations in the Human Hippocampus and Neocortex. *Journal of Neuroscience* 23(34), 10897–10903.
- Cardin, J. A., M. Carlén, K. Meletis, U. Knoblich, F. Zhang, K. Deisseroth, L.-H. Tsai, and C. I. Moore (2008). Driving fast-spiking cells induces gamma rhythm and controls sensory responses. *Nature* 23(1), 1–7.
- Casale, A. E., A. J. Foust, T. Bal, and D. A. McCormick (2015). Cortical interneuron subtypes vary in their axonal action potential properties. *Journal of Neuroscience* 35(47), 15555–15567.
- Chen, J. Y., S. Chauvette, S. Skorheim, I. Timofeev, and M. Bazhenov (2012). Interneuron-mediated inhibition synchronizes neuronal activity during slow oscillation. *Journal of Physiology* 590(16), 3987–4010.
- Civillico, E. F. and D. Contreras (2012). Spatiotemporal properties of sensory responses in vivo are strongly dependent on network context. *Frontiers in Systems Neuroscience* 6, 1–20.
- Claude, L., F. Chouchou, G. Prados, M. Castro, B. De Blay, C. Perchet, L. García-Larrea, S. Mazza, and H. Bastuji (2015). Sleep spindles and human cortical nociception : A surface and intracerebral electrophysiological study. *Journal of Physiology* 593(22), 4995–5008.
- Cohen, L., N. Koffman, H. Meiri, Y. Yarom, I. Lampl, and A. Mizrahi (2013). Time-lapse electrical recordings of single neurons from the mouse neocortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(14), 5665–5670.
- Cotel, F., L. N. Fletcher, S. Kalita-De Croft, J. Apergis-Schoute, and S. R. Williams (2018). Cell Class-Dependent Intracortical Connectivity and Output Dynamics of Layer 6 Projection Neurons of the Rat Primary Visual Cortex. *Cerebral Cortex* 28, 2340–2350.
- Crochet, S., P. Fuentealba, Y. Cissé, I. Timofeev, and M. Steriade (2006). Synaptic plasticity in local cortical network in vivo and its modulation by the level of neuronal activity. *Cerebral Cortex* 16(5), 618–631.
- Crochet, S. and C. C. Petersen (2006). Correlating whisker behavior with membrane potential in barrel cortex of awake mice. *Nature Neuroscience* 9(5), 608–610.
- Crochet, S., J. F. Poulet, Y. Kremer, and C. C. Petersen (2011). Synaptic mechanisms underlying sparse coding of active touch. *Neuron* 69(6), 1160–1175.
- da Costa, N. M. and K. A. Martin (2010). Whose cortical column would that be? *Frontiers in Neuroanatomy* 4, 1–10.
- Dang-Vu, T. T., S. M. McKinney, O. M. Buxton, J. M. Solet, and J. M. Ellenbogen (2010). Spontaneous brain rhythms predict sleep stability in the face of noise. *Current Biology* 20(15), 626–627.

- Defelipe, J., L. Alonso-Nanclares, and I. Cajal (2002). Microstructure of the neocortex : Comparative aspects. *Journal of Neurocytology* 31, 299–316.
- Dehghani, N., A. Peyrache, B. Telenczuk, M. Le Van Quyen, E. Halgren, S. S. Cash, N. G. Hatsopoulos, and A. Destexhe (2016). Dynamic balance of excitation and inhibition in human and monkey neocortex. *Scientific Reports* 6, 1–12.
- Dement, W. (1958). The occurrence of low voltage, fast, electroencephalogram patterns during behavioral sleep in the cat. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 10(2), 291–296.
- Dement, W. and N. Kleitman (1957). Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements body motility and dreaming. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 9(4).
- Desiraju, T. (1972). Discharge Properties of Neurons of the Parietal. 47, 69–75.
- Diamond, M. E., M. Armstrong-James, M. J. Budway, and F. F. Ebner (1992). Somatic sensory responses in the rostral sector of the posterior group (POm) and in the ventral posterior medial nucleus (VPM) of the rat thalamus : Dependence on the barrel field cortex. *Journal of Comparative Neurology* 319(1), 66–84.
- Durán, E., C. N. Oyanedel, N. Niethard, M. Inostroza, and J. Born (2018). Sleep stage dynamics in neocortex and hippocampus. *SLEEP* 41(6), 1–11.
- Egger, R., A. S. Schmitt, D. J. Wallace, B. Sakmann, M. Oberlaender, and J. N. Kerr (2015). Robustness of sensory-evoked excitation is increased by inhibitory inputs to distal apical tuft dendrites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112(45), 14072–14077.
- Eggermann, E., Y. Kremer, S. Crochet, and C. C. Petersen (2014). Cholinergic Signals in Mouse Barrel Cortex during Active Whisker Sensing. *Cell Reports* 9(5), 1654–1660.
- Eschenko, O., W. Ramadan, M. Mölle, J. Born, and S. J. Sara (2008). Sustained increase in hippocampal sharp-wave ripple activity during slow-wave sleep after learning. *Learning and Memory* 15(4), 222–228.
- Estebanez, L., I. Férézou, V. Ego-Stengel, and D. E. Shulz (2018). Representation of tactile scenes in the rodent barrel cortex. *Neuroscience* 368, 81–94.
- Eyal, G., M. B. Verhoog, G. Testa-Silva, Y. Deitcher, J. C. Lodder, R. Benavides-Piccione, J. Morales, J. Defelipe, C. P. de Kock, H. D. Mansvelder, and I. Segev (2016). Unique membrane properties and enhanced signal processing in human neocortical neurons. *eLife* 5, 1–18.
- Feldmeyer, D., J. Lübke, R. A. Silver, and B. Sakmann (2002). Synaptic connections between layer 4 spiny neurone-layer 2/3 pyramidal cell pairs in juvenile rat barrel cortex : Physiology and anatomy of interlaminar signalling within a cortical column. *Journal of Physiology* 538(3), 803–822.
- Feldmeyer, D., G. Qi, V. Emmenegger, and J. F. Staiger (2018). Inhibitory interneurons and their circuit motifs in the many layers of the barrel cortex. *Neuroscience* 368, 132–151.
- Férézou, I., S. Bolea, and C. C. Petersen (2006). Visualizing the Cortical Representation of Whisker Touch : Voltage-Sensitive Dye Imaging in Freely Moving Mice. *Neuron* 50(4), 617–629.
- Férézou, I., B. Cauli, E. L. Hill, J. Rossier, E. Hamel, and B. Lambolez (2002). 5-HT₃ Receptors Mediate Serotonergic Fast Synaptic Excitation of Neocortical Vasoactive Intestinal Peptide/Cholecystokinin Interneurons. *Journal of Neuroscience* 22(17).
- Férézou, I. and T. Deneux (2017). Review : How do spontaneous and sensory-evoked activities interact? *Neurophotonics* 4(3), 031221.

-
- Férezou, I., F. Haiss, L. J. Gentet, R. Aronoff, B. Weber, and C. C. Petersen (2007). Spatiotemporal Dynamics of Cortical Sensorimotor Integration in Behaving Mice. *Neuron* 56(5), 907–923.
- Fernandez, F. R., B. Rahsepar, and J. A. White (2018). Differences in the electrophysiological properties of mouse somatosensory layer 2/3 neurons In vivo and slice stem from intrinsic sources rather than a network-generated high conductance state. *eNeuro* 5(2).
- Fernandez, L. M., J. C. Comte, P. Le Merre, J. S. Lin, P. A. Salin, and S. Crochet (2017). Highly Dynamic Spatiotemporal Organization of Low-Frequency Activities During Behavioral States in the Mouse Cerebral Cortex. *Cerebral cortex* 27(12), 5444–5462.
- Fernandez, L. M. J. and A. Lüthi (2019). Sleep spindles : mechanisms and functions. *Physiological Reviews*.
- Fino, E. and R. Yuste (2011). Dense inhibitory connectivity in neocortex. *Neuron* 69(6), 1188–1203.
- Flesher, S. N., J. L. Collinger, S. T. Foldes, J. M. Weiss, J. E. Downey, E. C. Tyler-Kabara, S. J. Bensaïmaia, A. B. Schwartz, M. L. Boninger, and R. A. Gaunt (2016). Intracortical microstimulation of human somatosensory cortex. *Science Translational Medicine* 8(361), 1–11.
- Frandolig, J. E., C. J. Matney, K. Lee, J. Kim, M. Chevée, S. J. Kim, A. A. Bickert, and S. P. Brown (2019, sep). The Synaptic Organization of Layer 6 Circuits Reveals Inhibition as a Major Output of a Neocortical Sublamina. *Cell Reports* 28(12), 3131–3143.
- Frangeul, L., C. Porrero, M. Garcia-Amado, B. Maimone, M. Maniglier, F. Clascá, and D. Jabaudon (2014). Specific activation of the paralemniscal pathway during nociception. *European Journal of Neuroscience* 39(9), 1455–1464.
- Fries, P. (2015, oct). Rhythms for Cognition : Communication through Coherence. *Neuron* 88(1), 220–235.
- Funk, C. M., S. Honjoh, A. V. Rodriguez, C. Cirelli, and G. Tononi (2016). Local slow waves in superficial layers of primary cortical areas during REM sleep. *Current Biology* 26(3), 139–148.
- Funk, C. M., K. Peelman, M. Bellesi, W. Marshall, C. Cirelli, and G. Tononi (2017). Role of somatostatin-positive cortical interneurons in the generation of sleep slow waves. *Journal of Neuroscience* 37(38), 9132–9148.
- Gabernet, L., S. P. Jadhav, D. E. Feldman, M. Carandini, and M. Scanziani (2005). Somatosensory integration controlled by dynamic thalamocortical feed-forward inhibition. *Neuron* 48(2), 315–327.
- Galarreta, M. and S. Hestrin (2002). Electrical and chemical synapses among parvalbumin fast-spiking GABAergic interneurons in adult mouse neocortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99(19), 12438–12443.
- Gelman, D. M. and O. Marín (2010). Generation of interneuron diversity in the mouse cerebral cortex. *European Journal of Neuroscience* 31(12), 2136–2141.
- Gentet, L. J. (2012). Functional diversity of supragranular GABAergic neurons in the barrel cortex. *Frontiers in Neural Circuits* 6, 1–13.
- Gentet, L. J., M. Avermann, F. Matyas, J. F. Staiger, and C. C. Petersen (2010). Membrane Potential Dynamics of GABAergic Neurons in the Barrel Cortex of Behaving Mice. *Neuron* 65(3), 422–435.
- Gentet, L. J., Y. Kremer, H. Taniguchi, Z. J. Huang, J. F. Staiger, and C. C. Petersen (2012). Unique functional properties of somatostatin-expressing GABAergic neurons in mouse barrel cortex. *Nature Neuroscience* 15(4), 607–612.

- Genzel, L., M. C. Kroes, M. Dresler, and F. P. Battaglia (2014). Light sleep versus slow wave sleep in memory consolidation : A question of global versus local processes? *Trends in Neurosciences* 37(1), 10–19.
- Gilman, J. P., M. Medalla, and J. I. Luebke (2016). Area-Specific Features of Pyramidal Neurons-a Comparative Study in Mouse and Rhesus Monkey. *Cerebral Cortex* 27, 2078–2094.
- Girardeau, G., K. Benchenane, S. I. Wiener, G. Buzsáki, and M. B. Zugaro (2009). Selective suppression of hippocampal ripples impairs spatial memory. *Nature Neuroscience* 12(10), 1222–1223.
- Grilli, M., L. Raiteri, and A. Pittaluga (2004). Somatostatin inhibits glutamate release from mouse cerebrocortical nerve endings through presynaptic sst2 receptors linked to the adenylyl cyclase-protein kinase a pathway. *Neuropharmacology* 46(3), 388–396.
- Haider, B., A. Duque, A. R. Hasenstaub, and D. A. McCormick (2006). Neocortical network activity in vivo is generated through a dynamic balance of excitation and inhibition. *Journal of Neuroscience* 26(17), 4535–4545.
- Haider, B., M. Häusser, and M. Carandini (2013). Inhibition dominates sensory responses in the awake cortex. *Nature* 493(7430), 97–102.
- Halassa, M., J. H. Siegle, J. T. Ritt, J. T. Ting, G. Feng, and C. I. Moore (2017). Selective optical drive of thalamic reticular nucleus generates thalamic bursts & cortical spindles. *Physiology & behavior* 176(3), 139–148.
- Harris, K. D., G. M. G. Shepherd, and . Kenneth (2015). The neocortical circuit : themes and variations. *Nature Neuroscience* 18(2).
- Hasselmo M. E. (1999). Neuromodulation : acetylcholine and memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences* 101(9), 162–183.
- Helmstaedter, M., J. F. Staiger, B. Sakmann, and D. Feldmeyer (2008). Efficient recruitment of layer 2/3 interneurons by layer 4 input in single columns of rat somatosensory cortex. *Journal of Neuroscience* 28(33), 8273–8284.
- Hendry, S. H. C., H. D. Schwark, E. G. Jones, and J. Yan (1987). Numbers and Proportions of GABA-Immunoreactive Neurons in Different Areas of Monkey Cerebral Cortex. *The Journal of Neuroscience* 7(5), 1503–519.
- Hengen, K. B., A. Torrado Pacheco, J. N. McGregor, S. D. Van Hooser, and G. G. Turrigiano (2016). Neuronal Firing Rate Homeostasis Is Inhibited by Sleep and Promoted by Wake. *Cell* 165(1), 180–191.
- Hobson, J. A. and R. W. McCarley (1971). Cortical unit activity in sleep and waking. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 30(2), 97–112.
- Hodge, R. D., T. E. Bakken, J. A. Miller, K. A. Smith, E. R. Barkan, L. T. Graybuck, J. L. Close, B. Long, N. Johansen, O. Penn, Z. Yao, J. Eggermont, T. Hollt, B. P. Levi, S. I. Shehata, B. Aevermann, A. Beller, D. Bertagnolli, K. Brouner, T. Casper, C. Cobbs, R. Dalley, N. Dee, S.-L. Ding, R. G. Ellenbogen, O. Fong, E. Garren, J. Goldy, R. P. Gwinn, D. Hirschstein, C. D. Keene, M. Keshk, A. L. Ko, K. Lathia, A. Mahfouz, Z. Maltzer, M. McGraw, T. N. Nguyen, J. Nyhus, J. G. Ojemann, A. Oldre, S. Parry, S. Reynolds, C. Rimorin, N. V. Shapovalova, S. Somasundaram, A. Szafer, E. R. Thomsen, M. Tieu, G. Quon, R. H. Scheuermann, R. Yuste, S. M. Sunkin, B. Lelieveldt, D. Feng, L. Ng, A. Bernard, M. Hawrylycz, and J. W. (2019). Conserved cell types with divergent features in human versus mouse cortex. *Physiology & behavior* 176(1), 139–148.

-
- Hoffmann, J. H., H. S. Meyer, A. C. Schmitt, J. Straehle, T. Weitbrecht, B. Sakmann, and M. Helmstaedter (2015). Synaptic conductance estimates of the connection between local inhibitor interneurons and pyramidal neurons in layer 2/3 of a cortical column. *Cerebral Cortex* 25(11), 4415–4429.
- Hutchison, I. C. and S. Rathore (2015). The role of REM sleep theta activity in emotional memory. *Front. Psychol* 6(1439).
- Huttenlocher, P. R. (1959). Effect of state of arousal on click response in the mesencephalic reticular formation. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*.
- Hutsler, J. J., D. G. Lee, and K. K. Porter (2005). Comparative analysis of cortical layering and supragranular layer enlargement in rodent carnivore and primate species. *Brain Research* 1052(1), 71–81.
- Iascone, D. M., Y. Li, U. Sümbül, M. Doron, H. Chen, V. Andreu, F. Goudy, H. Blockus, L. F. Abbott, I. Segev, H. Peng, and F. Polleux (2020). Whole-Neuron Synaptic Mapping Reveals Spatially Precise Excitatory/Inhibitory Balance Limiting Dendritic and Somatic Spiking. *Neuron* 106(4), 566–578.
- Iber, C., S. Ancoli-Israel, A. L. Chesson, and S. F. Quan (2007). The new sleep scoring manual - The evidence behind the rules. *Journal of Clinical Sleep Medicine* 3(2), 107.
- Inan, M. and S. Anderson (2014). The chandelier cell, form and function. *Current Opinion in Neurobiology* 26, 142–148.
- Jacobs, J. (2014). Hippocampal theta oscillations are slower in humans than in rodents : Implications for models of spatial navigation and memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences* 369(1635).
- Jellema, T., C. H. Brunia, and W. J. Wadman (2004). Sequential activation of microcircuits underlying somatosensory-evoked potentials in rat neocortex. *Neuroscience* 129(2), 283–295.
- Jiang, X., M. Lachance, and E. Rossignol (2016). Involvement of cortical fast-spiking parvalbumin-positive basket cells in epilepsy. *Progress in Brain Research* 226, 81–126.
- Jones, B. E. (2016). Neuroscience : What Are Cortical Neurons Doing during Sleep? *Current Biology* 26(21), 1147–1150.
- Jouvet, M. (1967). Neurophysiology of the States of Sleep. *The American Physiology Society* 47(2).
- Kanari, L., S. Ramaswamy, Y. Shi, S. Morand, J. Meystre, R. Perin, M. Abdallah, Y. Wang, K. Hess, and H. Markram (2019). Objective Morphological Classification of Neocortical Pyramidal Cells. *Cerebral Cortex* 29, 1719–1735.
- Karimi, A., J. Odenthal, F. Drawitsch, K. M. Boergens, and M. Helmstaedter (2020). Cell-type specific innervation of cortical pyramidal cells at their apical dendrites. *eLife* 9, 1–23.
- Katz, Y., J. E. Heiss, and I. Lampl (2006). Cross-whisker adaptation of neurons in the rat barrel cortex. *Journal of Neuroscience* 26(51), 13363–13372.
- Kawaguchi, Y. and Y. Kubota (1997). GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cerebral Cortex* 7(6), 476–486.
- Kerr, J. N., C. P. De Kock, D. S. Greenberg, R. M. Bruno, B. Sakmann, and F. Helmchen (2007). Spatial organization of neuronal population responses in layer 2/3 of rat barrel cortex. *Journal of Neuroscience* 27(48), 13316–13328.
- Kim, J., T. Gulati, and K. Ganguly (2019). Competing Roles of Slow Oscillations and Delta Waves in Memory Consolidation versus Forgetting. *Cell* 179(2).

- Koelbl, C., M. Helmstaedter, J. L'bke, and D. Feldmeyer (2015). A barrel-related interneuron in layer 4 of rat somatosensory cortex with a high intrabarrel connectivity. *Cerebral Cortex* 25(3), 713–725.
- Koike, B. D. V., K. S. Farias, F. Billwiller, D. Almeida-Filho, P. A. Libourel, A. Tiran-Cappello, R. Parmentier, W. Blanco, S. Ribeiro, P. H. Luppi, and C. M. Queiroz (2017). Electrophysiological evidence that the retrosplenial cortex displays a strong and specific activation phased with hippocampal theta during paradoxical (REM) sleep. *Journal of Neuroscience* 37(33), 8003–8013.
- Kramis, R., C. H. Vanderwolf, and B. H. Bland (1975). Two types of hippocampal rhythmical slow activity in both the rabbit and the rat : Relations to behavior and effects of atropine, diethyl ether, urethane, and pentobarbital. *Experimental Neurology* 49(1), 58–85.
- Kuki, T., K. Fujihara, H. Miwa, N. Tamamaki, Y. Yanagawa, and H. Mushiake (2015). Contribution of parvalbumin and somatostatin-expressing gabaergic neurons to slow oscillations and the balance in beta-gamma oscillations across cortical layers. *Frontiers in Neural Circuits* 9, 1–12.
- Kwan, A. C. and Y. Dan (2012). Dissection of cortical microcircuits by single-neuron stimulation in vivo. *Current Biology* 22(16), 1459–1467.
- Lacroix, M. M., G. de Lavilléon, J. Lefort, K. El Kanbi, S. Bagur, S. Laventure, Y. Dauvilliers, C. Peyron, and K. Benchenane (2018). Improved sleep scoring in mice reveals human-like stages. *Hyper Article en Ligne - Sciences de l'Homme et de la Société*.
- Lavallée, P., N. Urbain, C. Dufresne, H. Bokor, L. Acsády, and M. Deschênes (2005). Feedforward inhibitory control of sensory information in higher-order thalamic nuclei. *Journal of Neuroscience* 25(33), 7489–7498.
- Lavzin, M., S. Rapoport, A. Polsky, L. Garion, and J. Schiller (2012). Nonlinear dendritic processing determines angular tuning of barrel cortex neurons in vivo. *Nature* 490(7420), 397–401.
- Lecci, S., L. M. J. Fernandez, F. D. Weber, R. Cardis, J.-Y. Chatton, J. Born, and A. Lüthi (2017). Coordinated infraslow neural and cardiac oscillations mark fragility and offline periods in mammalian sleep. *Science Advances* 3.
- Lee, S., I. Kruglikov, Z. J. Huang, G. Fishell, and B. Rudy (2013). A disinhibitory circuit mediates motor integration in the somatosensory cortex. *Nature Neuroscience* 16(11), 1662–1670.
- Lee, S. H., J. Hjerling-Leffler, E. Zagha, G. Fishell, and B. Rudy (2010). The largest group of superficial neocortical GABAergic interneurons expresses ionotropic serotonin receptors. *Journal of Neuroscience* 30(50), 16796–16808.
- Lefort, S., C. Tomm, J. C. Floyd Sarria, and C. C. Petersen (2009, jan). The Excitatory Neuronal Network of the C2 Barrel Column in Mouse Primary Somatosensory Cortex. *Neuron* 61(2), 301–316.
- Letzkus, J. J., S. B. Wolff, and A. Lüthi (2015, oct). Disinhibition, a Circuit Mechanism for Associative Learning and Memory. *Neuron* 88(2), 264–276.
- Li, W., L. Ma, G. Yang, and W. B. Gan (2017). REM sleep selectively prunes and maintains new synapses in development and learning. *Nature Neuroscience* 20(3), 427–437.
- Liebe, S., G. M. Hoerzer, N. K. Logothetis, and G. Rainer (2012). Theta coupling between V4 and prefrontal cortex predicts visual short-term memory performance. *Nature Neuroscience* 15(3), 456–462.
- Lisman, J. E. (1997). Bursts as a unit of neural information : Making unreliable synapses reliable. *Trends in Neurosciences* 20(1), 38–43.

-
- Llinás, R. R. and M. Steriade (2006). Bursting of thalamic neurons and states of vigilance. *Journal of Neurophysiology* 95(6), 3297–3308.
- Loomis, A. L., E. N. Harvey, and G. A. Hobart (1937). Cerebral states during sleep, as studied by human brain potentials. *Journal of Experimental Psychology : Animal Behavior Processes* 29(3).
- Lourenço, J. and A. Bacci (2017). Human-Specific Cortical Synaptic Connections and Their Plasticity : Is That What Makes Us Human? *PLoS Biology* 15(1), 1–5.
- Luppi, P. H., D. Gervasoni, L. Verret, R. Goutagny, C. Peyron, D. Salvert, L. Leger, and P. Fort (2006). Paradoxical (REM) sleep genesis : The switch from an aminergic-cholinergic to a GABAergic-glutamatergic hypothesis. *Journal of Physiology Paris* 100(5-6), 271–283.
- Ma, Y., H. Hu, A. S. Berrebi, P. H. Mathers, and A. Agmon (2006, may). Distinct subtypes of somatostatin-containing neocortical interneurons revealed in transgenic mice. *Journal of Neuroscience* 26(19), 5069–5082.
- Magistretti, P. J. and J. H. Morrison (1985, jan). VIP neurons in the neocortex. *Trends in Neurosciences* 8, 7–8.
- Magnin, M., M. Rey, H. Bastuji, P. Guillemant, F. Mauguière, and L. Garcia-Larrea (2010). Thalamic deactivation at sleep onset precedes that of the cerebral cortex in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(8), 3829–3833.
- Markram, H., M. Toledo-Rodriguez, Y. Wang, A. Gupta, G. Silberberg, and C. Wu (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature Reviews Neuroscience* 5(10), 793–807.
- Marks, G. A., J. P. Shaffery, A. Oksenberg, S. G. Speciale, and H. P. Roffwarg (1995). A functional role for REM sleep in brain maturation. *Behavioural Brain Research* 69(1-2), 1–11.
- Massimini, M., M. Rosanova, and M. Mariotti (2003). EEG slow (1 Hz) waves are associated with nonstationarity of thalamo-cortical sensory processing in the sleeping human. *Journal of Neurophysiology* 89(3), 1205–1213.
- Matyas, F., V. Sreenivasan, F. Marbach, C. Wacongne, B. Barse, C. Mateo, R. Aronoff, and C. C. Petersen (2010). Motor control by sensory cortex. *Science* 330(6008), 1240–1243.
- McCormick, D. A. and T. Bal (1994). Sensory gating mechanisms of the thalamus. *Current Opinion in Neurobiology* 4(4), 550–556.
- McCormick, D. A., B. W. Connors, J. W. Lighthall, and D. A. Prince (1985). Comparative Electrophysiology of Pyramidal and Sparsely Spiny Stellate Neurons of the Neocortex. *Journal of Neurophysiology* 54.
- Mease, R. A., M. Metz, and A. Groh (2016). Cortical Sensory Responses Are Enhanced by the Higher-Order Thalamus. *Cell Reports* 14(2), 208–215.
- Mellman, T. A., V. Bustamante, A. I. Fins, W. R. Pigeon, and B. Nolan (2002). REM sleep and the early development of posttraumatic stress disorder. *American Journal of Psychiatry* 159(10), 1696–1701.
- Miyawaki, H., B. O. Watson, and K. Diba (2019). Neuronal firing rates diverge during REM and homogenize during non-REM OPEN. *Scientific Reports* 9.
- Mizuseki, K. and G. Buzsáki (2014). Theta oscillations decrease spike synchrony in the hippocampus and entorhinal cortex. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences* 369(1635).
- Montgomery, S. M., A. Sirota, and G. Buzsáki (2008). Theta and gamma coordination of hippocampal networks during waking and rapid eye movement sleep. *Journal of Neuroscience* 28(26), 6731–6741.

- Moore, J. D., N. Mercer Lindsay, M. Deschênes, and D. Kleinfeld (2015, sep). Vibrissa Self-Motion and Touch Are Reliably Encoded along the Same Somatosensory Pathway from Brainstem through Thalamus. *PLoS Biology* 13(9), e1002253.
- Mountcastle, V. B. (1956). Modality and topography proprieties of single neurons of cat's somatic sensory cortex. *Journal of Physiology*.
- Muñoz, W. and B. Rudy (2014). Spatiotemporal specificity in cholinergic control of neocortical function. *Current Biology* 26, 149–160.
- Muñoz, W., R. Tremblay, D. Levenstein, and B. Rudy (2017). Layer-specific modulation of neocortical dendritic inhibition during active wakefulness. *Science* 355, 954.
- Murayama, M. and M. E. Larkum (2009). Enhanced dendritic activity in awake rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(48), 20482–20486.
- Naka, A. and H. Adesnik (2016). Inhibitory circuits in cortical layer. *Frontiers in Neural Circuits* 10, 1–16.
- Nakazawa, K., V. Zsiros, Z. Jiang, K. Nakao, S. Kolata, S. Zhang, and J. E. Belforte (2012). GABAergic interneuron origin of schizophrenia pathophysiology. *Neuropharmacology* 62(3), 1574–1583.
- Narikiyo, K., R. Mizuguchi, A. Ajima, S. Mitsui, M. Shiozaki, H. Hamanaka, J. P. Johansen, K. Mori, and Y. Yoshihara (2020). The Claustrum Coordinates Cortical Slow-Wave Activity. *Nature Neuroscience*, 1–38.
- Neske, G. T., S. L. Patrick, and B. W. Connors (2015). Contributions of diverse excitatory and inhibitory neurons to recurrent network activity in cerebral cortex. *Journal of Neuroscience* 35(3), 1089–1105.
- Niethard, N., M. Hasegawa, T. Itokazu, C. N. Oyanedel, J. Born, and T. R. Sato (2016, oct). Sleep-Stage-Specific Regulation of Cortical Excitation and Inhibition. *Current Biology* 26(20), 2739–2749.
- Niethard, N., H.-V. V. Ngo, I. Ehrlich, J. Born, and D. Hertie (2018). Cortical circuit activity underlying sleep slow oscillations and spindles. *PNAS* 115(39).
- Nigro, M. J., Y. Hashikawa-Yamasaki, and B. Rudy (2018). Diversity and connectivity of layer 5 somatostatin-expressing interneurons in the mouse barrel cortex. *Journal of Neuroscience* 38(7), 1622–1633.
- Nir, Y., R. J. Staba, T. Andrillon, V. V. Vyazovskiy, C. Cirelli, I. Fried, and G. Tononi (2011). Regional Slow Waves and Spindles in Human Sleep. *Neuron* 70(1), 153–169.
- Nir, Y., V. V. Vyazovskiy, C. Cirelli, M. I. Banks, and G. Tononi (2015). Auditory responses and stimulus-specific adaptation in rat auditory cortex are preserved across NREM and REM sleep. *Cerebral Cortex* 25(5), 1362–1378.
- Noda, H. and A. Ross (1973). Neuronal Activity in the Association Cortex of the Cat. *54*, 243–259.
- O'Connor, D. H., S. P. Peron, D. Huber, and K. Svoboda (2010). Neural activity in barrel cortex underlying vibrissa-based object localization in mice. *Neuron* 67(6), 1048–1061.
- Ohayon, M. M., M. A. Carskadon, C. Guilleminault, and M. V. Vitiello (2004). Meta-analysis of quantitative sleep parameters from childhood to old age in healthy individuals : Developing normative sleep values across the human lifespan. *Sleep* 27(7), 1255–1273.
- Packer, A. M. and R. Yuste (2011). Dense, unspecific connectivity of neocortical parvalbumin-positive interneurons : A canonical microcircuit for inhibition ? *Journal of Neuroscience* 31(37), 13260–13271.

-
- Pala, A. and C. C. Petersen (2015). InVivo Measurement of Cell-Type-Specific Synaptic Connectivity and Synaptic Transmission in Layer 2/3 Mouse Barrel Cortex. *Neuron* 85(1), 68–75.
- Pala, A. and C. C. H. Petersen (2018). Membrane Potential Dynamics and Unitary Synaptic Inputs in Awake Mice. *eLife* 7.
- Palmer, L. M., J. M. Schulz, S. C. Murphy, D. Ledergerber, M. Murayama, and M. E. Larkum (2012). The cellular basis of GABAB-mediated interhemispheric inhibition. *Science* 335(6071), 989–993.
- Perrenoud, Q., J. Rossier, I. Férézou, H. Geoffroy, T. Gallopin, T. Vitalis, A. Rancillac, and K. S. Rockland (2012). Activation of cortical 5-HT 3 receptor-expressing interneurons induces NO mediated vasodilatations and NPY mediated vasoconstrictions. *Frontiers in Neural Circuits* 6(50).
- Petersen, C. C. (2014). Cortical control of whisker movement. *Annual Review of Neuroscience* 37, 183–203.
- Petersen, C. C. (2019). Sensorimotor processing in the rodent barrel cortex. *Nature Reviews Neuroscience* 20(9), 533–546.
- Petersen, C. C., T. T. Hahn, M. Mehta, A. Grinvald, and B. Sakmann (2003). Interaction of sensory responses with spontaneous depolarization in layer 2/3 barrel cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(23), 13638–13643.
- Peyrache, A. and A. Destexhe (2019). Electrophysiological monitoring of inhibition in mammalian species, from rodents to humans. *Neurobiology of Disease* 130.
- Pi, H. J., B. Hangya, D. Kvitsiani, J. I. Sanders, Z. J. Huang, and A. Kepecs (2013). Cortical interneurons that specialize in disinhibitory control. *Nature* 503(7477), 521–524.
- Porter, J. T., C. K. Johnson, and A. Agmon (2001). Diverse Types of Interneurons Generate Thalamus-Evoked Feedforward Inhibition in the Mouse Barrel Cortex. *Journal of Neurophysiology* 21(8).
- Poulet, J. F. and S. Crochet (2019). The cortical states of wakefulness. *Frontiers in Systems Neuroscience* 12(64), 1–18.
- Poulet, J. F., L. M. Fernandez, S. Crochet, and C. C. Petersen (2012). Thalamic control of cortical states. *Nature Neuroscience* 15(3), 370–372.
- Poulet, J. F. and C. C. Petersen (2008). Internal brain state regulates membrane potential synchrony in barrel cortex of behaving mice. *Nature* 454(7206), 881–885.
- Povysheva, N. V., A. V. Zaitsev, G. Gonzalez-Burgos, and D. A. Lewis (2013). Electrophysiological Heterogeneity of Fast-Spiking Interneurons : Chandelier versus Basket Cells. *PLoS ONE* 8(8).
- Prönneke, A., B. Scheuer, R. J. Wagener, M. Möck, M. Witte, and J. F. Staiger (2015). Characterizing VIP neurons in the barrel cortex of VIPcre/tdTomato mice reveals layer-specific differences. *Cerebral Cortex* 25(12), 4854–4868.
- Prönneke, A., M. Witte, M. Möck, and J. F. Staiger (2019). Neuromodulation leads to a burst-tonic switch in a subset of VIP neurons in mouse primary somatosensory (Barrel) cortex. *Cerebral Cortex* 30(2), 488–504.
- Rechtschaffen, A., P. Hauri, and M. Zeitlin (1966). Auditory awakening thresholds in REM and NREM sleep stages. *Perceptual and motor skills* 22(3), 927–942.
- Rector, D. M., J. L. Schei, H. P. Van Dongen, G. Belenky, and J. M. Krueger (2009). Physiological markers of local sleep. *European Journal of Neuroscience* 29(9), 1771–1778.

- Reyes-Puerta, V., S. Kim, J. J. Sun, B. Imbrosci, W. Kilb, and H. J. Luhmann (2015). High Stimulus-Related Information in Barrel Cortex Inhibitory Interneurons. *PLoS Computational Biology* 11(6), 1–32.
- Rudolph, M., M. Pospischil, I. Timofeev, and A. Destexhe (2007). Inhibition Determines Membrane Potential Dynamics and Controls Action Potential Generation in Awake and Sleeping Cat Cortex. *Journal of Neurophysiology* 27(20).
- Rudy, B., G. Fishell, S. H. Lee, and J. Hjerling-Leffler (2011). Three groups of interneurons account for nearly 100% of neocortical GABAergic neurons. *Developmental Neurobiology* 71(1), 45–61.
- S. Sermet, B., P. Truschow, M. Feyerabend, J. M. Mayrhofer, T. B. Oram, O. Yizhar, J. F. Staiger, and C. C. Petersen (2019). Pathway-, layer- and cell-type-specific thalamic input to mouse barrel cortex. *eLife*.
- Sakata, S. and K. D. Harris (2012). Laminar-dependent effects of cortical state on auditory cortical spontaneous activity. *Frontiers in Neural Circuits* 6, 1–10.
- Sanchez-Vives, M. V., A. Barbero-Castillo, M. Perez-Zabalza, and R. Reig (2020). GABAB receptors modulation of thalamocortical dynamics and synaptic plasticity. *Neuroscience*, 1–12.
- Scala, F., D. Kobak, S. Shan, Y. Bernaerts, S. Lathunus, C. R. Cadwell, L. Hartmanis, E. Froudarakis, J. R. Castro, Z. H. Tan, S. Papadopoulos, S. S. Patel, R. Sandberg, P. Berens, X. Jiang, and A. S. Tolias (2019). Layer 4 of mouse neocortex differs in cell types and circuit organization between sensory areas. *Nature Communications* 10(1).
- Scammell, T. E., E. Arrigoni, and J. Lipton (2017). Neural Circuitry of Wakefulness and Sleep. *Neuron* 93.
- Schabus, M., T. Dang-Vu, D. Philip, J. Heib, M. Boly, M. Desseilles, G. Vandewalle, C. Schmidt, G. Albouy, A. Darsaud, S. Gais, C. Degueldre, E. Baletau, C. Phillips, A. Luxen, P. Maquet, and M. Czisch (2012). The fate of incoming stimuli during NREM sleep is determined by spindles and the phase of the slow oscillation. *frontiers in neurology* 3(40).
- Sela, Y., V. V. Vyazovskiy, C. Cirelli, G. Tononi, and Y. Nir (2016). Responses in rat core auditory cortex are preserved during sleep spindle oscillations. *Sleep* 39(5), 1069–1082.
- Senzai, Y., A. Fernandez-Ruiz, and G. Buzsáki (2019). Layer-Specific Physiological Features and Interlaminar Interactions in the Primary Visual Cortex of the Mouse. *Neuron* 101(3), 500–513.e5.
- Shea, J. L., T. Mochizuki, V. Sagvaag, T. Aspevik, A. A. Bjorkum, and S. Datta (2008). Rapid eye movement (REM) sleep homeostatic regulatory processes in the rat : Changes in the sleep-wake stages and electroencephalographic power spectra. *Brain Research* 1213, 48–56.
- Sherman, S. M. (2001). Tonic and burst firing : dual modes of thalamocortical relay. *Trends in neurosciences* 24(2), 122–6.
- Shlosberg, D., Y. Amitai, and R. Azouz (2006). Time-dependent, layer-specific modulation of sensory responses mediated by neocortical layer 1. *Journal of Neurophysiology* 96(6), 3170–3182.
- Siclari, F., B. Baird, L. Perogamvros, G. Bernardi, J. J. Larocque, B. Riedner, M. Boly, B. R. Postle, G. Tononi, and G. Tononi (2017). The neural correlates of dreaming HHS Public Access. 20(6), 872–878.
- Siegle, J. H., D. L. Pritchett, and C. I. Moore (2014). Gamma-range synchronization of fast-spiking interneurons can enhance detection of tactile stimuli. *Nature Neuroscience* 17(10), 1371–1379.
- Silberberg, G. and H. Markram (2007). Disynaptic Inhibition between Neocortical Pyramidal Cells Mediated by Martinotti Cells. *Neuron* 53(5), 735–746.

-
- Silversmith, D. B., S. M. Lemke, D. Egert, J. D. Berke, and K. Ganguly (2020). The Degree of Nesting between Spindles and Slow Oscillations Modulates Neural Synchrony. *Journal of Neuroscience* 40(24), 4673–4684.
- Soltani, S., S. Chauvette, O. Bukhtiyarova, J. M. Lina, J. Dubé, J. Seigneur, J. Carrier, and I. Timofeev (2019). Sleep–Wake Cycle in Young and Older Mice. *Frontiers in Systems Neuroscience* 13, 1–14.
- Somogyi, P. (1977). A specific ‘axo-axonal’ interneuron in the visual cortex of the rat. *Brain Research* 136, 345–350.
- Steriade, M. (1991). Alertness, Quiet Sleep, Dreaming. *Normal and Altered States of Function*, 279–357.
- Steriade, M., D. Contreras, C. Dossi, and A. Nuiiez (1993). The Slow (<1 Hz) Oscillation in Reticular Thalamic and Thalamocortical Neurons : Scenario of Sleep Rhythm Generation in Interacting Thalamic and Neocortical Networks. *The Journal of Neuroscience* 13(8), 3284–3299.
- Steriade, M. and M. Deschênes (1973). Cortical interneurons during sleep and waking in freely moving primates. *Brain Research* 50(1), 192–199.
- Steriade, M., D. A. McCormick, and T. J. Sejnowski (1993). Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain.
- Steriade, M., I. Timofeev, and F. Grenier (2001). Natural Waking and Sleep States : A View From Inside Neocortical Neurons. *Journal of Physiology*.
- Szabadics, J., C. Varga, G. Molnár, S. Oláh, P. Barzó, and G. Tamás (2006, jan). Excitatory effect of GABAergic axo-axonic cells in cortical microcircuits. *Science* 311(5758), 233–235.
- Szegedi, V., M. Paizs, E. Csakvari, G. Molnar, P. Barzo, G. Tamas, and K. Lamsa (2016). Plasticity in Single Axon Glutamatergic Connection to GABAergic Interneurons Regulates Complex Events in the Human Neocortex. *PLoS Biology* 14(11), 1–21.
- Tahvildari, B., M. Wölfel, A. Duque, and D. A. McCormick (2012). Selective functional interactions between excitory and inhibitory cortical neuron and differential contribution persistent activity of the slow oscillation. *Journal of Neuroscience* 32(35), 12165–12179.
- Takahashi, K., Y. Kayama, J. S. Lin, and K. Sakai (2010). Locus coeruleus neuronal activity during the sleep-waking cycle in mice. *Neuroscience* 169(3), 1115–1126.
- Tao, C., G. Zhang, Y. Xiong, and Y. Zhou (2015). Functional dissection of synaptic circuits : In vivo patch-clamp recording in neuroscience. *Frontiers in Neural Circuits* 9(May), 1–8.
- Tasic, B., Z. Yao, L. Graybuck, K. A. Smith, T. Nghi Nguyen, D. Bertagnolli, J. Goldy, E. Garren, M. N. Economo, S. Viswanathan, O. Penn, T. Bakken, V. Menon, J. Miller, O. Fong, K. Hirokawa, K. Lathia, C. Rimorin, M. Tieu, R. Larsen, T. Casper, E. Barkan, M. Kroll, S. Parry, N. V. Shapovalova, D. Hirschstein, J. Pendergraft, H. A. Sullivan, T. Kyung Kim, A. Szafer, N. Dee, P. Groblewski, I. Wickersham, A. Cetin, J. A. Harris, B. P. Levi, S. M. Sunkin, L. Madisen, T. Daigle, L. Looger, A. Bernard, J. Phillips, E. Lein, M. Hawrylycz, K. Svoboda, A. Jones, C. Koch, and H. Zeng (2018). Shared and distinct transcriptomic cell types across neocortical areas. *Nature* 563.
- Taub, A. H., Y. Katz, and I. Lampl (2013). Cortical balance of excitation and inhibition is regulated by the rate of synaptic activity. *Journal of Neuroscience* 33(36), 14359–14368.
- Timofeev, I. and S. Chauvette (2020). Global control of sleep slow wave activity. *Nature Neuroscience* 23(6), 693–695.

- Tiriac, A., B. D. Uitermarkt, A. S. Fanning, G. Sokoloff, and M. S. Blumberg (2012). Rapid whisker movements in sleeping newborn rats. *Current Biology* 22(21), 2075–2080.
- Todorova, R. and M. Zugaro (2019). Isolated cortical computations during delta waves support memory consolidation. *Science* 366, 377–381.
- Tononi, G. and C. Cirelli (2009). Sleep and the Price of Plasticity : From Synaptic to cellular Homeostasis to Memory Consolidation and Integration. *Neuron* 49(18), 1841–1850.
- Toth, L. A. and P. Bhargava (2013). Animal models of sleep disorders. *Comparative Medicine* 63(2), 91–104.
- Tremblay, R., S. Lee, and B. Rudy (2016, jul). GABAergic Interneurons in the Neocortex : From Cellular Properties to Circuits. *Neuron* 91(2), 260–292.
- Urbain, N., N. Fourcaud-Trocmé, S. Laheux, P. A. Salin, and L. J. Gentet (2019). Brain-State-Dependent Modulation of Neuronal Firing and Membrane Potential Dynamics in the Somatosensory Thalamus during Natural Sleep. *Cell Reports* 26(6), 1443–1457.e5.
- Urbain, N., P. A. Salin, P. A. Libourel, J. C. Comte, L. J. Gentet, and C. C. Petersen (2015). Whisking-Related Changes in Neuronal Firing and Membrane Potential Dynamics in the Somatosensory Thalamus of Awake Mice. *Cell Reports* 13(4), 647–656.
- Van Luijckelaar, E. L., C. A. Miller, A. M. Coenen, W. H. Drinkenburg, and B. A. Ellenbroek (1998). Differential effects of non-REM and REM sleep on sensory gating in rats. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 58(4), 263–270.
- Van Twyver, H. (1969). Sleep patterns of five rodent species. *Physiology and Behavior* 4(6), 901–905.
- Vanderheyden, W. M., S. A. George, L. Urpa, M. Kehoe, I. Liberzon, and G. R. Poe (2015). Sleep alterations following exposure to stress predict fear-associated memory impairments in a rodent model of PTSD. *Experimental Brain Research* 233(8), 2335–2346.
- Vaz, A. P., S. K. Inati, and K. A. Zaghoul (2020). Replay of cortical spiking sequences during human memory retrieval. *Science* 367, 1131–1134.
- Vazquez, J. and H. A. Baghdoyan (2000). Basal forebrain acetylcholine release during REM sleep is significantly greater than during waking. *Journal of Physiology* 57(3), 479–483.
- Velluti, R. A. (1997). Interactions between sleep and sensory physiology. *Journal of Sleep Research* 6(2), 61–77.
- Verhoog, M. B., N. A. Goriounova, J. Obermayer, J. Stroeder, J. J. Johannes Hjorth, G. Testa-Silva, J. C. Baayen, C. P. de Kock, R. M. Meredith, and H. D. Mansvelder (2013). Mechanisms underlying the rules for associative plasticity at adult human neocortical synapses. *Journal of Neuroscience* 33(43), 17197–17208.
- Vijayan, S., G. J. Hale, C. I. Moore, E. N. Brown, and M. Wilson (2010). Activity in the barrel cortex during active behavior and sleep. *Journal of Neurophysiology* 103(4), 2074–2084.
- Vinck, M., J. J. Bos, L. A. van Mourik-Donga, K. T. Oplaat, G. A. Klein, J. C. Jackson, L. J. Gentet, and C. M. Pennartz (2016). Cell-type and state-dependent synchronization among rodent somatosensory, visual, perirhinal cortex, and hippocampus CA1. *Frontiers in Systems Neuroscience* 9, 1–25.
- Vyazovskiy, V. V., P. Achermann, A. A. Borbély, and I. Tobler (2004). The dynamics of spindles and EEG slow-wave activity in NREM sleep in mice. *Archives Italiennes de Biologie* 142(4), 511–523.

-
- Vyazovskiy, V. V., U. Olcese, E. C. Hanlon, Y. Nir, C. Cirelli, and G. Tononi (2011). Local sleep in awake rats. *Nature* 472(7344), 443–447.
- Vyazovskiy, V. V., U. Olcese, Y. M. Lazimy, U. Faraguna, S. K. Esser, J. C. Williams, C. Cirelli, and G. Tononi (2009, sep). Cortical Firing and Sleep Homeostasis. *Neuron* 63(6), 865–878.
- Watson, B. O., D. Levenstein, J. P. Greene, J. N. Gelinas, and G. Buzsáki (2016). Network Homeostasis and State Dynamics of Neocortical Sleep. *Neuron* 90(4), 839–852.
- Welker, W. I. (1964). Analysis of sniffing of the albino rat. *Behaviour, Leiden* 22(3-4), 223–244.
- Wimmer, R. D., S. Astori, C. T. Bond, Z. Rovó, J. Y. Chatton, J. P. Adelman, P. Franken, and A. Lüthi (2012). Sustaining sleep spindles through enhanced SK2-channel activity consolidates sleep and elevates arousal threshold. *Journal of Neuroscience* 32(40), 13917–13928.
- Wisor, J., D. Gerashchenko, and T. Kilduff (2011). Sleep-Active Neuronal Nitric Oxide Synthase-Positive Cells of the Cerebral Cortex : A Local Regulator of Sleep? *Current Topics in Medicinal Chemistry* 11(19), 2483–2489.
- Wöhr, M., D. Orduz, P. Gregory, H. Moreno, U. Khan, K. J. Vörckel, D. P. Wolfer, H. Welzl, D. Gall, S. N. Schiffmann, and B. Schwaller (2015). Lack of parvalbumin in mice leads to behavioral deficits relevant to all human autism core symptoms and related neural morphofunctional abnormalities. *Translational Psychiatry* 5, 525.
- Woolsey, T. A. and H. Van der Loos (1970). The structural organization of layer IV in the somatosensory region (S I) of mouse cerebral cortex. The description of a cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units. *Brain Research* 17(2), 205–242.
- Xu, W., F. De Carvalho, and A. Jackson (2019). Sequential neural activity in primary motor cortex during sleep. *Journal of Neuroscience* 39(19), 3698–3712.
- Xu, X., K. D. Roby, and E. M. Callaway (2011). Immunohistochemical characterization of inhibitory mouse cortical neurons : Three chemically distinct classes of inhibitory cells. *J Comp Neurol*.
- Yavorska, I. and M. Wehr (2016). Somatostatin-Expressing Inhibitory Interneurons in Cortical Circuits. *Frontiers in Neural Circuits* 10(76).
- Yu, J., H. Hu, A. Agmon, and K. Svoboda (2019). Recruitment of GABAergic Interneurons in the Barrel Cortex during Active Tactile Behavior. *Neuron* 104(2), 412–427.
- Yuste, R. (2005). Origin and Classification of Neocortical Interneurons. *Neuron* 48(4), 522–524.
- Yüzgeç, Ö., M. Prsa, R. Zimmermann, and D. Huber (2018). Pupil Size Coupling to Cortical States Protects the Stability of Deep Sleep via Parasympathetic Modulation. *Current Biology* 28(3), 392–400.e3.
- Zhang, S., M. Xu, T. Kamigaki, J. P. H. Do, W.-C. Chang, S. Jenvay, K. Miyamichi, L. Luo, and Y. Dan (2014). Long-Range and Local Circuits for Top-Down Modulation of Visual Cortical Processing. *Science* 345(6197), 660–665.
- Zhang, W. and R. M. Bruno (2019). High-order thalamic inputs to primary somatosensory cortex are stronger and longer lasting than cortical inputs. *eLife*.
- Zielinski, M. R., D. N. Atochin, J. M. McNally, J. T. McKenna, P. L. Huang, R. E. Strecker, and D. Gerashchenko (2019). Somatostatin+ /nNOS+ neurons are involved in delta electroencephalogram activity and cortical-dependent recognition memory. *SLEEP* 2(10), 1–16.
- Zucca, S., G. D’Urso, V. Pasquale, D. Vecchia, G. Pica, S. Bovetti, C. Moretti, S. Varani, M. Molano-Mazón, M. Chiappalone, S. Panzeri, and T. Fellin (2017). An inhibitory gate for state transition in cortex. *eLife* 6, 1–31.

Zucca, S., V. Pasquale, P. Lagomarsino de Leon Roig, S. Panzeri, and T. Fellin (2019, may). Thalamic Drive of Cortical Parvalbumin-Positive Interneurons during Down States in Anesthetized Mice. *Current Biology* 29(9), 1481–1490.