

Université de Montréal

**Rôle de la plasticité synaptique des interneurons somatostatinerghiques dans l'apprentissage et la
mémoire dépendants de l'hippocampe**

par Alexandre La Fontaine

**Département de neurosciences
Faculté de Médecine**

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures en vue de l'obtention du grade de Maître en
sciences en sciences neurologiques

Jun 2014

© Alexandre La Fontaine, 2014

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Rôle de la plasticité synaptique des interneurons somatostatinerghiques dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe

Présenté par :

Alexandre La Fontaine

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dre Arlette Kolta

Président-rapporteur

Dr Jean-Claude Lacaille

Directeur de recherche

Dr Roberto Araya

Membre du jury

RÉSUMÉ

La plasticité synaptique activité-dépendante forme la base physiologique de l'apprentissage et de la mémoire dépendants de l'hippocampe. Le rôle joué par les différents sous-types d'interneurones dans l'apprentissage et la mémoire hippocampiques reste inconnu, mais repose probablement sur des mécanismes de la plasticité spécifique aux synapses de certains sous-types d'interneurones. Les synapses excitatrices établies sur les interneurones de l'oriens-alveus dans l'aire CA1 exhibent une forme persistante de potentialisation à long terme induite par la stimulation chimique des récepteurs métabotropiques du glutamate de type 1 (mGluR1) [*mGluR1-mediated chemical late long-term potentiation* (cL-LTP_{mGluR1})]. Le présent projet de recherche avait pour objectifs d'identifier les sous-types d'interneurones de l'oriens-alveus exprimant la cL-LTP_{mGluR1} et d'examiner les mécanismes d'induction et d'expression de celle-ci. Nous avons déterminé que la stimulation répétée des mGluR1 induit de la cL-LTP_{mGluR1} aux synapses excitatrices établies sur le sous-type d'interneurones exprimant le peptide somatostatine (SOM-INS). Des enregistrements électrophysiologiques couplés à des inhibiteurs pharmacologiques et à un *knock-out* fonctionnel de *mammalian target of rapamycin* complexe 1 (mTORC1) ont montré que l'induction de la cL-LTP_{mGluR1} (qui consiste en trois applications de l'agoniste des mGluR1/5, le (S)-3,5-dihydroxyphénylglycine (DHPG) en présence de l'antagoniste des récepteurs métabotropiques du glutamate de type 5 (mGluR5), le 2-méthyl-6-(phényléthynyl)-pyridine (MPEP)) des SOM-INS requiert les voies de signalisation des mGluR1, de *extracellular signal-regulated protein kinase* (ERK) et de mTORC1. L'ensemble de nos résultats montre qu'une forme persistante de plasticité synaptique sous-tendue par mTORC1 est induite par la stimulation répétée des mGluR1 dans les interneurones hippocampiques exprimant le peptide somatostatine. La connaissance des mécanismes sous-tendant la cL-LTP_{mGluR1}, couplée à l'utilisation de modèles animal *in vivo*, rendront maintenant possible le blocage de la cL-LTP_{mGluR1} dans les SOM-INS et l'examen de son rôle dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe.

Mots clés : Hippocampe, apprentissage et mémoire dépendants de l'hippocampe, interneurones, interneurones exprimant le peptide somatostatine, potentialisation à long terme (PLT), récepteurs métabotropiques du glutamate de type 1 (mGluR1), *mammalian target of rapamycin* complexe 1 (mTORC1).

SUMMARY

Hippocampus-dependent learning and memory are mediated by activity-dependent synaptic plasticity. The role that different subtypes of interneurons play in hippocampal learning and memory remains largely unknown, but likely relies on cell type-specific plasticity mechanisms at interneuron synapses. Excitatory synapses onto CA1 oriens-alveus interneurons show persistent long-term potentiation induced by chemical stimulation of metabotropic glutamate receptor 1 (mGluR1) [mGluR1-mediated chemical late long-term potentiation (cL-LTP_{mGluR1})]. The objectives of this project were to identify the oriens-alveus interneuron subtypes expressing cL-LTP_{mGluR1} and examine its induction and expression mechanisms. We determined that repeated mGluR1 stimulation induces cL-LTP_{mGluR1} at excitatory synapses onto the somatostatin-expressing interneuron subtype (SOM-INs). Electrophysiological recordings coupled to pharmacological inhibitors and a functional knock-out of mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) showed that SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} induction (which consisted of three applications of the mGluR1/5 agonist (S)-3,5-dihydroxyphenylglycine (DHPG) in the presence of metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP)) requires mGluR1, extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) and mTORC1 signaling pathways. Collectively, our results show that persistent synaptic plasticity mediated by mTORC1 is induced by repeated mGluR1 stimulation in somatostatin-expressing hippocampal interneurons. Knowledge of cL-LTP_{mGluR1}'s underlying mechanisms, coupled to *in vivo* models, will now make it possible to interfere with SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} and examine its role in hippocampal-dependent learning and memory.

Key words: Hippocampus, hippocampus-dependent learning and memory, interneurons, somatostatin-expressing interneurons, long term potentiation (LTP), metabotropic glutamate receptors 1 (mGluR1), mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1).

RÉSUMÉ.....	i
SUMMARY	ii
TABLE DES MATIÈRES.....	iii
LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES ABRÉVIATIONS	ix
REMERCIEMENTS.....	xii

CHAPITRE 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
1.1 RÔLE DE L'HIPPOCAMPE DANS LA MÉMOIRE.....	2
1.1.1 Apprentissage, mémoire déclarative et mémoire procédurale	2
1.1.2 Importance de l'hippocampe pour la mémoire déclarative : cas du patient H.M.	2
1.1.3 Rôle de l'hippocampe dans la consolidation de la mémoire.....	3
1.2 NEUROANATOMIE DE L'HIPPOCAMPE.....	3
1.2.1 Organisation anatomique.....	3
1.2.2 Organisation cytoarchitectonique.....	4
1.2.3 Connectivité	6
1.2.4 Cellules pyramidales	7
1.2.5 Interneurones.....	7
1.3 LES INTERNEURONES DE LA RÉGION CA1 DE L'HIPPOCAMPE	8
1.3.1 Système de classification des interneurones.....	8
1.3.2 Diversité des interneurones	8
1.3.3 Modes d'inhibition des cellules pyramidales par les interneurones	12
1.3.4 Fonctions des interneurones	13
1.3.5 Interneurones somatostatinerigiques.....	14
1.4 LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE DANS LES CELLULES PRINCIPALES DE L'HIPPOCAMPE	15
1.4.1 Plasticité synaptique : définition.....	15
1.4.2 La plasticité synaptique dépendante des récepteurs NMDA : synapses collatérales de Schaffer/ cellules pyramidales du CA1.....	16

1.4.2.1	Potentialisation à long terme hébbienne.....	16
1.4.2.2	Dépression à long terme	18
1.4.3	La plasticité synaptique indépendante des récepteurs NMDA : synapses fibres moussues/ cellules pyramidales du CA3	18
1.4.3.1	Potentialisation à long terme non-hébbienne	18
1.4.3.2	Dépression à long terme	19
1.4.4	La plasticité synaptique : base cellulaire de l'apprentissage et de la mémoire	19
1.5	LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE DANS LES INTERNEURONES DE L'HIPPOCAMPE	20
1.5.1	Avant-propos.....	20
1.5.2	La plasticité synaptique dépendante des récepteurs NMDA	20
1.5.2.1	Potentialisation à long terme hébbienne.....	20
1.5.2.2	Dépression à long terme	22
1.5.3	La plasticité synaptique indépendante des récepteurs NMDA.....	22
1.5.3.1	Potentialisation à long terme anti-hébbienne	22
1.5.3.2	Potentialisation à long terme hébbienne.....	23
1.5.3.3	Potentialisation à long terme hébbienne – induite chimiquement	24
1.5.3.4	Dépression à long terme	24
1.6	RÔLE DES INTERNEURONES HIPPOCAMPIQUES DANS L'APPRENTISSAGE ET LA MÉMOIRE.....	25
 CHAPITRE 2		
	OBJECTIFS DU MÉMOIRE DE MAÎTRISE.....	26
2.1	OBJECTIFS DU MÉMOIRE.....	27
2.2	CONTRIBUTION DES COAUTEURS DE L'ARTICLE.....	29
 CHAPITRE 3		
	PLASTICITÉ SYNAPTIQUE PERSISTANTE DÉPENDANTE DE mTORC1 AUX SYNAPSES EXCITATRICES DES INTERNEURONES SOMATOSTATINERGIQUES DE L'HIPPOCAMPE.....	30

3.1 ABSTRACT	32
3.2 INTRODUCTION	33
3.3 MATERIALS & METHODS	35
3.3.1 SOM-Cre-EYFP and SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} mice lines	35
3.3.2 SOM-INs labeling.....	35
3.3.3 Hippocampal slice cultures	35
3.3.4 Induction of cL-LTP_{mGluR1}	36
3.3.5 Whole cell recordings	36
3.3.6 Evoked EPSCs.....	37
3.3.7 Immunofluorescence	37
3.3.8 SOM-INs count	38
3.3.9 Statistical analysis.....	38
3.4 RESULTS	39
3.4.1 EYFP colocalized with somatostatin in CA1 SOM-INs	39
3.4.2 Repeated mGluR1 stimulation activated transcription and translation pathways in CA1 SOM-INs.....	39
3.4.3 Repeated mGluR1 stimulation induced a persistent long-term potentiation at SOM-INs excitatory synapses.....	41
3.4.4 mGluR1 regulated cL-LTP_{mGluR1} in CA1 SOM-INs.....	42
3.4.5 Inhibition of mTOR and MEK-ERK signaling pathway blocked cL-LTP_{mGluR1}	43
3.4.6 Conditional knock-out of Raptor in SOM-INs	43
3.4.7 cL-LTP_{mGluR1} was impaired in SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} mice	44
3.5 DISCUSSION.....	46
3.5.1 Summary of results	46
3.5.2 cL-LTP_{mGluR1}: cell type-specificity.....	46
3.5.3 cL-LTP_{mGluR1}: induction and expression mechanisms	47
3.5.4 cL-LTP_{mGluR1}: implication in hippocampal-dependent learning and memory.....	48
3.6 REFERENCES	50
3.7 FIGURES	55
3.8 FIGURE LEGENDS	63

CHAPITRE 4

DISCUSSION GÉNÉRALE.....	67
4.1 RAPPEL DES PRINCIPAUX RÉSULTATS	68
4.2 SPÉCIFICITÉ CELLULAIRE DE LA cL-LTP _{mGluR1}	68
4.3 cL-LTP _{mGluR1} : UNE FORME PERSISTANTE DE POTENTIALISATION À LONG TERME DANS LES INTERNEURONES SOMATOSTATINERGIQUES	70
4.3.1 Persistance	70
4.3.2 Mécanismes d'induction.....	70
4.3.3 Mécanismes d'expression.....	72
4.4 PERSPECTIVES FUTURES	75
4.4.1 Rôle de la cL-LTP _{mGluR1} dans le réseau hippocampique.....	75
4.4.2 Rôle de la cL-LTP _{mGluR1} dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe	76

CHAPITRE 5

BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE.....	81
-----------------------------	----

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE 1

Figure 1.1	Situation anatomique de la formation hippocampique dans le cerveau du rat	4
Figure 1.2	Organisation laminaire de l'hippocampe	5
Figure 1.3	Circuit trisynaptique de l'hippocampe	6
Figure 1.4	Interneurones de la région CA1 de l'hippocampe	11
Figure 1.5	Modes d'inhibitions proactive et rétroactive	12
Figure 1.6	Potentialisation à long terme hébbienne et dépendante des récepteurs NMDA.....	21
Figure 1.7	Potentialisation à long terme anti-hébbienne et indépendante des récepteurs NMDA	23

CHAPITRE 3

Figure 3.1	EYFP and somatostatin colocalize in SOM-INS	55
Figure 3.2	Repeated mGluR1 stimulation increases pCREB in SOM-INS	56
Figure 3.3	Repeated mGluR1 stimulation increases ribosomal S6 phosphorylation in SOM-INS .	57
Figure 3.4	Persistent long-term potentiation of synaptic currents in hippocampal SOM-INS after repeated mGluR1 stimulation	58
Figure 3.5	Persistent long-term potentiation of synaptic currents in hippocampal SOM-INS is dependent on mGluR1 α	59
Figure 3.6	cL-LTP _{mGluR1} in SOM-INS is dependent on ERK and mTOR signaling	60
Figure 3.7	Intact cell counts after conditional knock-out of Raptor in SOM-INS.....	61
Figure 3.8	Impaired cL-LTP _{mGluR1} after conditional knock-out of Raptor in SOM-INS	62

CHAPTIRE 4

Figure 4.1	Mécanismes d'induction de la cL-LTP _{mGluR1} aux synapses excitatrices des SOM-INS ...	73
-------------------	---	----

Figure 4.2 Mécanismes d'expression de la cL-LTP_{mGluR1} aux synapses excitatrices des SOM-INs.. 74

Figure 4.3 Rôle hypothétique de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INs dans l'apprentissage d'une tâche de conditionnement de la peur au contexte 79

LISTE DES PRINCIPALES ABRÉVIATIONS

4E-BP :	<i>4E-binding protein</i>
AC :	adénylate cyclase
AMPA :	acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole proprionique
AMPAR :	récepteur AMPA
AMPC :	adénosine monophosphate cyclique
AP5 :	D, L-acide-2-amino-5-phosphonovalérique
ARNm :	acide ribonucléique messenger
Ca ²⁺ :	ions calcium
CaMKII :	Ca ²⁺ -calmoduline-kinase II
CA1 :	corne d'Ammon 1
CA2 :	corne d'Ammon 2
CA3 :	corne d'Ammon 3
CCK :	cholécystokinine
CI-AMPAR :	récepteur AMPA imperméable aux ions Ca ²⁺
CL-LTP _{mGluR1} :	<i>mGluR1-mediated chemical late LTP</i>
CP-AMPAR :	récepteur AMPA perméable aux ions Ca ²⁺
CPSE :	courant postsynaptique excitateur
CPSI :	courant postsynaptique inhibiteur
CREB :	<i>C-AMP response element-binding protein</i>
DHPG :	<i>(S)-3,5-dihydroxyphenylglycine</i>
DLT :	dépression à long terme
E-LTP :	phase précoce de la potentialisation à long terme
ERK :	<i>extracellular signal-regulated kinase</i>
GABA :	acide γ -aminobutyrique
HCN :	<i>hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated</i>
IEGs :	<i>immediate early genes</i>
IN :	interneurone
L-LTP :	phase tardive de la potentialisation à long terme

Mg ⁺ :	ions magnésium
mGluR :	récepteur métabotropique du glutamate
mTOR :	<i>mammalian target of rapamycin</i>
NMDA :	acide N-méthyl-D-aspartique
NMDAR :	récepteur NMDA
NPY:	neuropeptide Y
OA :	oriens-alveus
OA-IN :	interneurones de l'oriens-alveus
O-LM :	oriens-lacunosum moleculare
PI3K :	phosphoinositide 3-kinase
PKA :	protéine kinase A
PLT :	potentialisation à long terme
PPR :	<i>paired-pulse ratio</i>
PV :	parvalbumine
PV-IN :	interneurone parvalbuminergique
SNC :	système nerveux central
SOM-IN :	interneurone somatostatinergique
VGLUT :	<i>vesicular glutamate transporter</i>
VIP :	peptide vasoactif intestinal

3 X DHPG/ MPEP:	repeated (3 times) mGluR1 stimulation
4E-BP:	4E-binding protein
aCSF:	artificial cerebrospinal fluid
AMPA:	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
AMPA:	AMPA receptor
AP5:	D, L-amino-5-phosphonovaleric acid
Ca ²⁺ :	calcium ions
CA1:	Ammon's horn 1

CA3:	Ammon's horn 3
CFC:	contextual fear conditioning
CI-AMPA:	Ca ²⁺ impermeable AMPA receptor
CL-LTP _{mGluR1} :	mGluR1-mediated chemical late LTP
CP-AMPA:	Ca ²⁺ permeable AMPA receptor
CREB:	C-AMP response element-binding protein
E-LTP:	early-LTP
EPSC:	excitatory postsynaptic potential
ERK:	extracellular signal-regulated kinase
GABA:	γ-aminobutyric acid
IN:	interneuron
LTP:	long-term potentiation
L-LTP:	late-LTP
mGluR:	metabotropic glutamate receptor
mRNA:	messenger ribonucleic acid
mTOR:	mammalian target of rapamycin
NMDA:	N-methyl-D-aspartic acid
NMDAR:	NMDA receptor
OA:	oriens-alveus
OA-IN:	oriens-alveus interneuron
O-LM:	oriens-lacunosum moleculare
pCREB:	phosphorylated CREB
PPR:	paired-pulse ratio
pS6:	phosphorylated S6
PV:	parvalbumin
PV-IN:	parvalbuminergic interneuron
SOM-IN:	somatostatinergic interneuron

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier les membres de mon jury de mémoire, les Drs Arlette Kolta et Roberto Araya de l'Université de Montréal, du temps et des efforts qu'ils ont consacrés à la révision et à l'évaluation du présent mémoire de maîtrise ainsi que de leur contribution à mon comité de parrainage du programme de maîtrise en sciences neurologiques.

Je souhaite aussi exprimer mes plus chaleureux remerciements à mon directeur de recherche, le Dr Jean-Claude Lacaille de l'Université de Montréal, tant pour la confiance qu'il m'a témoignée en m'accueillant au sein de son laboratoire pour la poursuite de mes études supérieures que pour les judicieux conseils qu'il m'a prodigués et l'aide qu'il m'a apportée tout au long de mes travaux de recherche.

J'aimerais de plus souligner le professionnalisme exemplaire de Julie Pepin qui a grandement facilité mon travail par son soutien technique, notamment la préparation toujours impeccable de mes cultures organotypiques. Qu'elle en soit ici vivement remerciée! De plus, un grand merci à la Dre Isabel Laplante pour son aide inestimable.

Je voudrais également saluer mes collègues du laboratoire Lacaille et leur offrir ma gratitude pour leurs conseils, leur soutien, leur franche camaraderie, en un mot, pour les deux belles années passées en leur compagnie.

Enfin, j'aimerais remercier mes parents qui m'ont encouragé et soutenu tout au long de mes études.

CHAPITRE 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 RÔLE DE L'HIPPOCAMPE DANS LA MÉMOIRE

1.1.1 Apprentissage, mémoire déclarative et mémoire procédurale

L'apprentissage est le processus par lequel le système nerveux acquiert un savoir-faire ou de nouvelles connaissances. La mémoire comprend quant à elle les procédés par lesquels ces informations sont encodées, stockées et ultérieurement récupérées par les structures cérébrales. La mémoire à long terme peut être divisée en deux sous-types : la mémoire déclarative (ou explicite) et la mémoire procédurale (ou implicite). La mémoire déclarative concerne le stockage et la récupération de l'ensemble des informations dont l'individu a une connaissance explicite et que celui-ci peut rappeler à sa conscience. La mémoire procédurale englobe, entre autres, l'ensemble des expériences motrices acquises par un sujet et ne nécessite pas de rappel conscient (Winograd, 1975; Kandel, 2000).

1.1.2 Importance de l'hippocampe pour la mémoire déclarative : cas du patient H.M.

On en vient tout naturellement à se demander où se trouvent dans le cerveau les substrats anatomiques qui sous-tendent l'apprentissage et la mémoire. L'hypothèse voulant que le lobe temporal médian, dont l'hippocampe est la principale structure, joue un rôle important dans la mémoire a d'abord été proposée par William Scoville et Brenda Milner en 1957 à la suite des observations faites lors d'une étude neuropsychologique portant sur des patients cérébrolésés. Cette étude décrit notamment le cas du patient H.M. qui avait subi une excision bilatérale du lobe temporal médian afin de le soulager des crises épileptiques dont il souffrait (Scoville and Milner, 1957). Cette chirurgie causa chez lui une amnésie antérograde (forme d'amnésie où le sujet oublie les événements qui se sont produits après la chirurgie) sévère ainsi qu'une amnésie rétrograde (forme d'amnésie où le sujet oublie les événements qui sont survenus avant le début de l'affection) modérée, touchant les onze dernières années de sa vie précédant l'opération (Scoville and Milner, 1957; Sagar et al., 1985). Ce déficit mnésique ne concernait cependant que la mémoire déclarative de H.M., n'affectant ni sa mémoire procédurale ni sa mémoire à court terme. Scoville et Milner ainsi ont démontré, d'une part, que différents types de mémoire font appel à différentes régions cérébrales et, d'autre part, que l'hippocampe constitue une structure indispensable à la formation de nouveaux souvenirs déclaratifs (Scoville and Milner, 1957). Par après, de très nombreuses études fondées sur diverses techniques

d'enregistrement et d'imagerie, et menées sur le rat, le singe et l'homme ont réaffirmé l'importance de l'hippocampe dans la mémoire déclarative (Squire, 1992).

1.1.3 Rôle de l'hippocampe dans la consolidation de la mémoire

L'amnésie rétrograde observée chez les patients ayant subi l'ablation du lobe temporal médian est limitée dans le temps : les souvenirs récents sont perdus mais les souvenirs anciens restent intacts (Squire, 1992). La formation hippocampique jouerait donc un rôle temporellement restreint dans le stockage de la mémoire déclarative (Zola-Morgan and Squire, 1990). Selon le modèle de la consolidation de la mémoire, une nouvelle information est d'abord encodée par la formation de connexions réciproques entre l'hippocampe et le néocortex. Plutôt que de stocker la totalité d'un souvenir, l'hippocampe entrepose l'information nécessaire à l'activation des sites pertinents du néocortex. L'hippocampe fait donc le lien entre divers sites néocorticaux qui, ensemble, stockent le souvenir. On parle de consolidation lorsqu'avec le temps des connexions cortico-corticales s'établissent entre les différents sites néocorticaux et remplacent les connexions hippocampo-corticales, l'hippocampe ne jouant alors plus un rôle déterminant dans la remémoration d'un souvenir. Ainsi, l'hippocampe est nécessaire à l'encodage initial de la mémoire déclarative alors que le néocortex est responsable de son entreposage permanent (Squire and Alvarez, 1995; Bontempi et al., 1999).

1.2 NEUROANATOMIE DE L'HIPPOCAMPE

1.2.1 Organisation anatomique

L'hippocampe est une structure corticale, bilatérale et symétrique située dans la partie interne et médiane des lobes temporaux (Fig. 1.1, page 4). Il appartient à la formation hippocampique, qui comprend, outre l'hippocampe lui-même, le cortex entorhinal, le parasubiculum, le presubiculum, le subiculum et le gyrus dentelé (Andersen et al., 2006). L'hippocampe est aussi appelé corne d'Ammon et est subdivisé sur la base de différences morphologiques en trois régions : CA1, CA2 et CA3 (CA vient de *cornu ammonis* qui signifie corne d'Ammon en latin) (Amaral and Witter, 1989; Andersen et al., 2006). Dans la littérature scientifique, le terme « hippocampe » est souvent utilisé pour décrire

l'ensemble formé de la corne d'Ammon et du gyrus dentelé. Dans le présent mémoire, nous employons le terme hippocampe pour désigner la corne d'Ammon (Andersen et al., 2006). De plus, puisque la neuroanatomie de base de l'hippocampe du rat est très similaire à celle du singe et de l'homme, la description anatomique de l'hippocampe qui suit s'appuie uniquement sur des observations faites chez le rat.

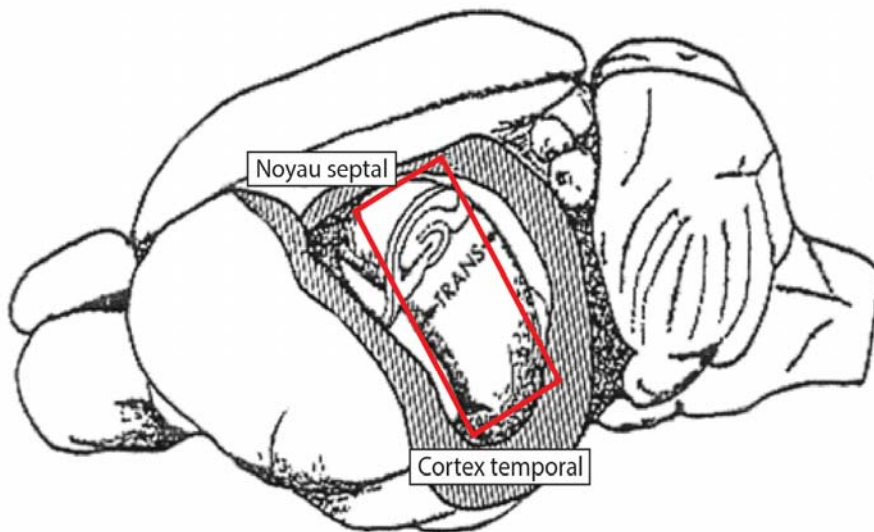


Figure 1.1. Situation anatomique de la formation hippocampique dans le cerveau du rat. L'hippocampe (localisé dans l'encadré rouge) est une structure corticale dont l'axe septo-temporal s'étend du noyau septal jusqu'au cortex temporal. L'axe transverse de l'hippocampe (TRANS) est perpendiculaire à l'axe septo-temporal. Figure tirée et adaptée de (Amaral and Witter, 1989).

1.2.2 Organisation cytoarchitectonique

Les aires CA1, CA2 et CA3 de l'hippocampe ont une organisation laminaire. Les corps cellulaires et les zones de connexions synaptiques y sont disposés en couches superposées (Fig. 1.2, page 5) (Andersen et al., 2006) :

1. La couche lacunosum-moléculaire : Elle comprend la portion distale des dendrites apicales des cellules pyramidales de l'hippocampe, une variété d'interneurones et une multitude de faisceaux provenant du cortex entorhinal et du thalamus.
2. La couche radiatum : Cette couche comporte des interneurones de différents sous-types, la portion proximale des dendrites apicales des cellules pyramidales et la majorité des

collatérales de Schaffer (axones des cellules principales du CA3). Dans la région CA3 seulement, une couche acellulaire, la couche lucidum, s'insère entre la couche pyramidale et la couche radiatum. La couche lucidum contient les fibres moussues (axones des cellules granulaires du gyrus dentelé qui contactent les cellules principales du CA3) et délimite la frontière CA3/ CA2.

3. La couche pyramidale : Elle est composée des corps cellulaires des cellules pyramidales (aussi appelées cellules principales). Les corps cellulaires de la couche pyramidale ont un agencement resserré dans la région CA1 et plus étalé dans les aires CA2 et CA3.
4. La couche oriens : C'est une couche étroite qui contient les dendrites basales des cellules pyramidales, des interneurons de plusieurs sous-types, des collatérales locales des cellules pyramidales et une infime partie des collatérales de Schaffer.
5. La couche alveus : Elle est composée de fibres myélinisées, soit les axones des cellules pyramidales qui sortent de l'hippocampe et sont dirigées vers la fimbria et le subiculum. On regroupe souvent les couches alveus et oriens sous le nom d'oriens-alveus (OA).

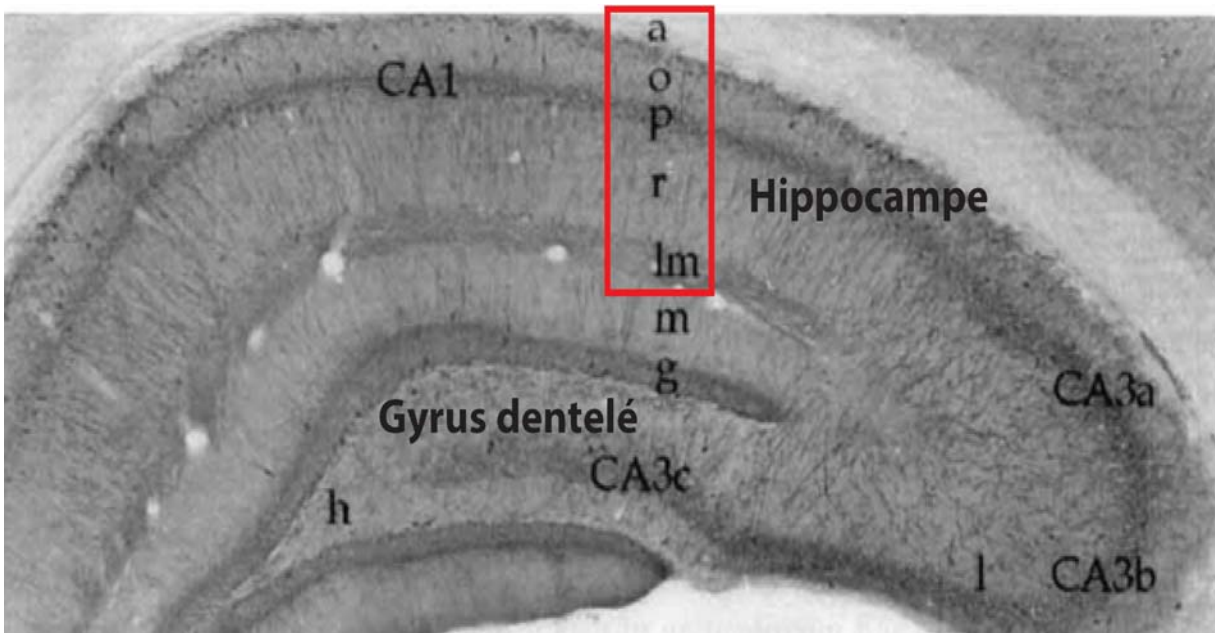


Figure 1.2. Organisation laminaire de l'hippocampe. Photomicrographie d'une coupe coronale d'hippocampe où on peut observer les différentes couches de l'hippocampe (encadré rouge) et du gyrus dentelé. CA1 : (a) alveus, (o) oriens, (p) pyramidales, (r) radiatum et (lm) lacunosum-moléculaire. Sous-régions CA3a, CA3b et CA3c : (l) lucidum. Gyrus dentelé : (m) moléculaire, (g) granulaire et (h) hile. Figure tirée et adaptée de (Freund and Buzsaki, 1996).

1.2.3 Connectivité

Le flux d'information à travers l'hippocampe et les structures corticales avoisinantes de la formation hippocampique qui lui sont associées est principalement unidirectionnel. Le circuit intrinsèque à la formation hippocampique le plus simple consiste en une voie principale excitatrice : le circuit trisynaptique. D'abord, les cellules pyramidales des couches superficielles du cortex entorhinal (couches II et III ; Fig. 1.3, page 6) envoient leurs projections axonales, formant la voie perforante (qui comprend aussi la voie temporo-ammonique ; Fig. 1.3) vers le gyrus dentelé où elles font synapses sur les cellules granulaires. Ensuite, les axones des cellules granulaires, qu'on nomme les fibres moussues, contactent les dendrites des cellules pyramidales du CA3. Enfin, les cellules pyramidales du CA3 émettent des axones – appelés les collatérales de Schaffer – vers les cellules pyramidales de l'aire du CA1, ce qui complète le circuit trisynaptique (Fig. 1.3). Les cellules pyramidales du CA1 renvoient également des projections synaptiques, via l'alveus, vers le subiculum et la couche V du cortex entorhinal (Amaral and Witter, 1989; Andersen et al., 2006).

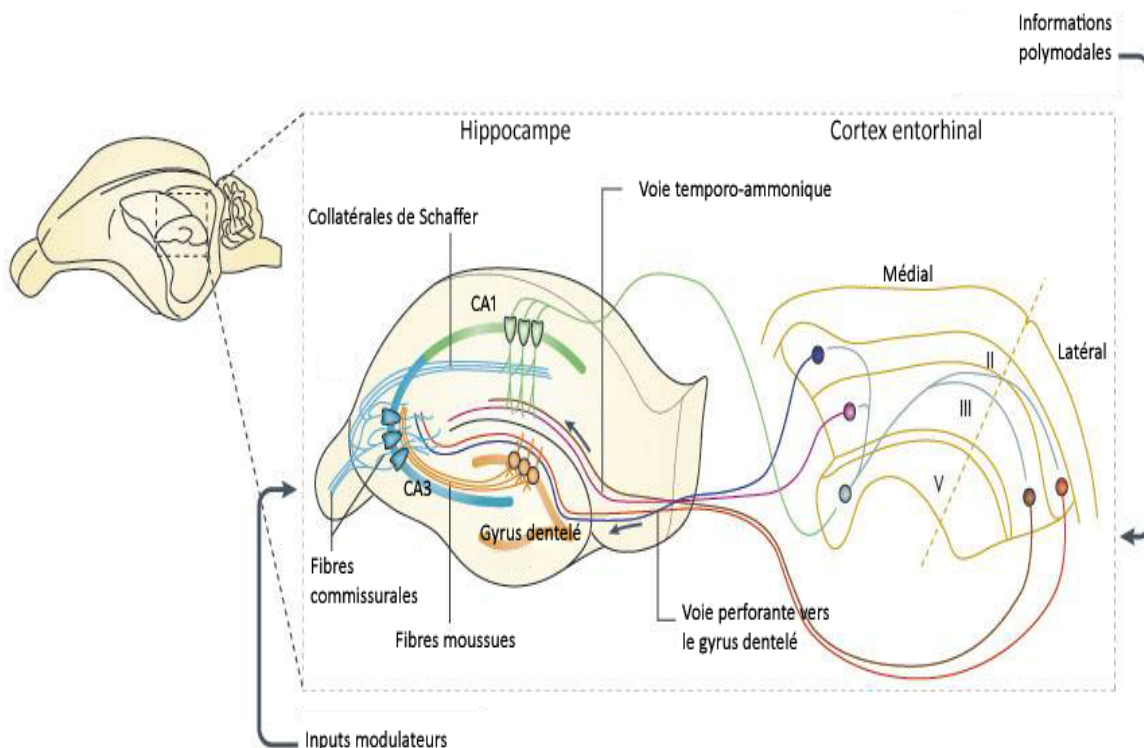


Figure 1.3. Circuit trisynaptique de l'hippocampe. Figure tirée et adaptée de (Neves et al., 2008)

1.2.4 Cellules pyramidales

Les travaux pionniers de Ramón y Cajal définissent deux types de neurones corticaux : les cellules non-pyramidales et les cellules pyramidales, celles-ci étant les plus nombreuses (Ramon y Cajal, 1893). Les cellules pyramidales possèdent un péricaryon triangulaire et envoient leurs projections axonales sur de grandes distances. Ce sont des cellules communément glutamatergiques et elles constituent l'essentiel des neurones de la couche pyramidale des aires CA1, CA2 et CA3. Les cellules pyramidales exhibent un arbre dendritique basal qui s'étend dans la couche oriens et un arbre dendritique apical qui s'étend dans les couches radiatum et lacunosum (Andersen et al., 2006). La longueur et l'organisation dendritiques des cellules pyramidales du CA3 sont hétérogènes (Ishizuka et al., 1995). En revanche, les cellules pyramidales du CA1 présentent des arbres dendritiques remarquablement homogènes (Pyapali et al., 1998). Cette homogénéité anatomique n'est cependant pas le reflet d'une homogénéité fonctionnelle puisque ces cellules pyramidales reçoivent des afférences entorhinales différentes en fonction de leur localisation dans l'axe transverse du CA1.

1.2.5 Interneurones

Les cellules non-pyramidales, aussi appelées interneurones, possèdent des axones qui, le plus souvent, projettent localement (Lorente de Nó, 1934) et établissent des contacts synaptiques symétriques avec leurs cibles postsynaptiques (Gray, 1959). Il apparaît ainsi que la plupart des interneurones sont des cellules inhibitrices comme en témoigne aussi la localisation exclusivement interneuronale de l'enzyme GAD (*Glutamic Acid Decarboxylase*) (Ribak et al., 1978) qui est responsable de la synthèse de l'acide γ -aminobutyrique (GABA), le principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central (SNC). Les interneurones exécutent diverses fonctions de contrôle de l'activité neuronale, telle que la régulation de la transmission synaptique des cellules principales (McBain and Fisahn, 2001). Dans le présent mémoire, nous appelons interneurones les cellules non-pyramidales qui utilisent le GABA comme neurotransmetteur.

Les interneurones forment une population neuronale hautement hétérogène. Ils se distinguent notamment par leurs propriétés morphologiques, physiologiques, pharmacologiques et neurochimiques (Freund and Buzsaki, 1996). Ces caractéristiques permettent de les classer en différents sous-types d'interneurones. Dans la prochaine section, nous ne traiterons que des interneurones de la région hippocampique CA1 visés dans le présent mémoire.

1.3 LES INTERNEURONES DE LA RÉGION CA1 DE L'HIPPOCAMPE

1.3.1 Système de classification des interneurones

Compte tenu de la diversité des caractéristiques des interneurones mentionnés dans la section précédente, on peut s'interroger sur ce qui permet d'identifier différents sous-types. Classiquement, les interneurones ont été regroupés sur la base de critères biologiques tels que leurs propriétés morphologiques (Ramon y Cajal, 1893), neurochimiques (Cope et al., 2002) ou encore physiologiques (Tricoire et al., 2011). Malgré la foule de critères de classification disponibles, il n'y a toujours pas de consensus quant au nombre exact de sous-types d'interneurones présents dans le CA1. Somogyi et Klausberger (Somogyi and Klausberger, 2005) ont proposé un système de classification des interneurones de l'hippocampe détaillé en quatre points : 1) aires corticales occupées et patrons d'arborisation dendritique et axonale, 2) expression de marqueurs moléculaires, 3) propriétés électrophysiologiques intrinsèques et 4) patrons de décharge *in vivo*. Ce système de classification permet de dénombrer 16 sous-types d'interneurones dans la région CA1 de l'hippocampe que nous décrivons brièvement dans la sous-section qui suit (Fig. 1.4, page 11).

1.3.2 Diversité des interneurones

Les cellules pyramidales du CA1, relativement uniformes, sont encadrées et régulées par une riche diversité d'interneurones inhibiteurs :

1. Cellules axo-axoniques (parvalbumine⁺ (PV⁺)). Ces interneurones forment des synapses inhibitrices exclusivement sur les cônes d'implantation des axones des cellules pyramidales. Leurs dendrites s'étendent à la fois dans les couches oriens, radiatum et lacunosum-moleculare.

2. Cellules à panier de classe 1 (PV⁺, cholécystokinine⁻ (CCK⁻)). Ce sous-type d'interneurone inhibiteur innerve les somas et les dendrites proximales des cellules pyramidales ainsi que d'autres cellules à panier de classe 1. L'arborisation axonale des cellules à panier de classe 1 se restreint ordinairement à la couche pyramidale mais peut s'étendre dans les couches oriens et radiatum. En contrepartie, les dendrites de ces cellules s'étendent de la couche oriens à la couche lacunosum-moleculare. Grâce à leurs jonctions communicantes, les cellules à panier de classe 1 sont mises en relation les unes avec les autres, ce qui leur permet d'assurer la synchronisation de haute fréquence du réseau hippocampique.

3. Cellules à panier de classe 2 (CCK⁺, peptide vasoactif intestinal⁺ (VIP⁺), transporteur vésiculaire du glutamate de type 3⁻ (VGLUT3⁻), PV⁻). Comme les cellules à panier de classe 1, les cellules de classe 2 établissent des synapses inhibitrices sur les somas et les dendrites proximales des cellules pyramidales ainsi que sur d'autres interneurons du même sous-type. L'arborisation dendritique et axonale de ces cellules est presque identique à celle des cellules à panier de classe 1. Seule l'expression du peptide CCK permet de différencier avec certitude les interneurons de classe 1 des interneurons de classe 2.

4. Cellules à panier de classe 3 (CCK⁺, VGLUT3⁺, VIP⁻, PV⁻). La morphologie ainsi que les propriétés électrophysiologiques des cellules à panier de classe 3 sont identiques à celles des cellules de classe 2. Les cellules de classe 3 se distinguent uniquement par l'expression de VGLUT3 et par l'absence de VIP.

5. Cellules bistratifiées (PV⁻, somatostatine⁺, neuropeptide Y⁺ (NPY⁺), GABA_A, CCK⁻). Ces cellules ont leur soma dans les couches oriens et pyramidale. Leur arborisation axonale est très développée dans les couches oriens et radiatum où elles inhibent des interneurons de sous-types variés. Leurs dendrites radiales s'arrêtent le plus souvent à la couche lacunosum-moléculaire où elles ne pénètrent que très rarement.

6. Cellules O-LM (PV⁻, somatostatine⁺, récepteur métabotrope du glutamate de type 1α (mGluR1α) postsynaptique, récepteur métabotrope du glutamate de type 7a (mGluR7a) présynaptique). Les interneurons oriens-lacunosum-moléculaire (O-LM) ont leur corps cellulaire dans la couche oriens. Ils possèdent des dendrites qui s'étendent horizontalement dans la couche oriens et des axones qui établissent leurs terminaisons synaptiques dans la couche lacunosum-moléculaire. Elles inhibent les dendrites apicales des cellules pyramidales via l'activation de récepteurs GABA_A.

7. Cellules associées aux collatérales de Schaffer (CCK⁺, calbindine⁺, somatostatine⁻, NPY⁻). Conjointement avec les collatérales de Schaffer, ces interneurons forment des synapses GABAergiques sur les dendrites apicales et basales des cellules pyramidales. Ils inhibent aussi divers sous-types d'interneurons et présente une arborisation axonale similaire à celle observée dans les cellules bistratifiées. Leurs dendrites se développent surtout dans la couche radiatum, mais peuvent s'étendre dans toutes les couches de l'hippocampe.

8. Cellules lacunosum-moléculaire-radiatum associées à la voie perforante. Ces cellules possèdent un large arbre dendritique qui recouvre toutes les couches de l'aire CA1. Leurs axones se regroupent dans la couche lacunosum-moléculaire avant de se propager au gyrus dentelé et à la couche radiatum.

9. Cellules lacunosum-moleculare associées à la voie perforante. Les projections axonales de ces interneurons sont associées aux inputs entorhinaux dans la région CA1 et peuvent se prolonger jusqu'au subiculum et au gyrus dentelé. Leurs dendrites s'arborescent préférentiellement dans les couches lacunosum-moleculare et radiatum.

10. Cellules neurogliaformes. Les cellules neurogliaformes inhibent les cellules pyramidales. Elles possèdent des champs dendritique et axonal petits et denses.

11. Cellules trilaminaires (récepteurs $m2^+$, récepteur métabotrope du glutamate de type 8a (mGluR8a), calbindine⁻). Ce sous-type cellulaire possède des dendrites orientées horizontalement dans la couche oriens. Ses axones innervent les couches oriens, pyramidale et radiatum, d'où l'appellation trilaminaire. Les cellules trilaminaires envoient des afférences au subiculum et à d'autres régions corticales.

12. Cellules à rétroprojection. Ces cellules exhibent des arbres dendritiques horizontaux dans la couche oriens et des axones très arborés dans les couches radiatum et lacunosum-moleculare. Les projections axonales des cellules à rétroprojections font synapse sur les cellules pyramidales du CA1 et du CA3 et peuvent même franchir la fissure hippocampique pour aller innerver le gyrus dentelé.

13. Cellules à projections hippocamposeptales (calbindine⁺, somatostatine⁺). Les interneurons à projections hippocamposeptales ont leur soma dans la couche oriens. Ils possèdent des dendrites orientées horizontalement dans la couche oriens et des axones dans les couches oriens, pyramidale et radiatum. Ces cellules envoient aussi des projections axonales vers le septum et le CA3 où elles innervent presque exclusivement d'autres interneurons.

14. Cellules spécifiques aux interneurons de type I (calretinine⁺). Les corps cellulaires de ces cellules se trouvent dans les couches oriens, pyramidale et radiatum. Les dendrites de ce sous-type cellulaire s'étendent dans toutes les couches du CA1. Les cellules spécifiques aux interneurons de type I innervent notamment des interneurons exprimant la calbindine et/ ou la calretinine.

15. Cellules spécifiques aux interneurons de type II (VIP⁺). Ces interneurons ont leur corps cellulaire dans la couche radiatum. Leurs dendrites s'arborescent principalement dans la couche lacunosum-moleculare. Les axones de ces cellules innervent notamment les cellules à panier.

16. Cellules spécifiques aux interneurons de type III (VIP⁺, calretinine⁺, mGluR7a⁺). Les dendrites de ces cellules s'étendent dans toutes les couches du CA1. Leurs axones inhibent préférentiellement les cellules de type O-LM.

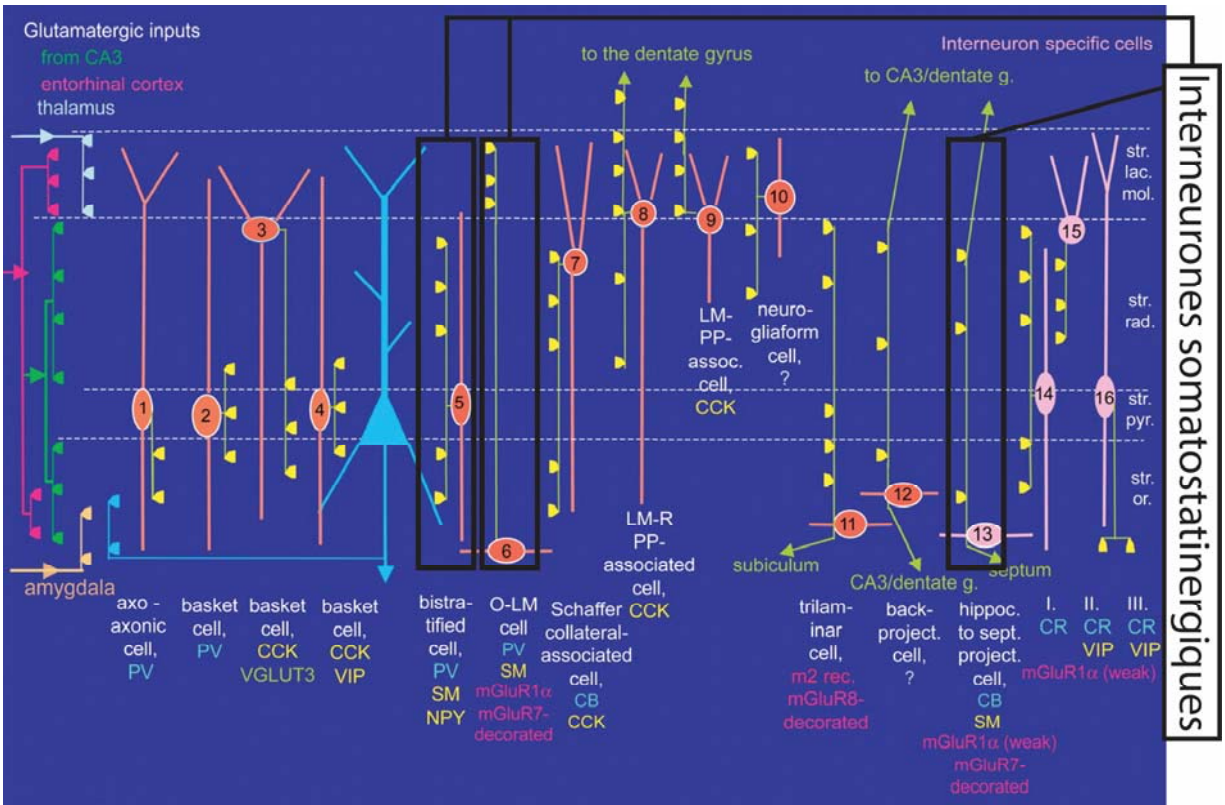


Figure 1.4. Interneurones de la région CA1 de l'hippocampe. Les noms des inputs glutamatergiques principaux sont indiqués à gauche. Les pointillés délimitent les couches lacunosum-moléculaire (str. lac. mol.), radiatum (str. rad.), pyramidale (str. pyr.) et oriens (str. or.). Le soma et les dendrites des interneurones qui innervent principalement les cellules pyramidales (bleu) sont schématisés en orange. Le soma et les dendrites des interneurones qui innervent principalement d'autres interneurones sont représentés en rose. Les axones des interneurones sont schématisés en vert et les sites de terminaisons principales en jaune. Sous chaque interneurone est inscrit son nom ainsi qu'une liste non-exhaustive des neuropeptides qu'il exprime : (CB) calbindine, (CR) calretinine, (LM-PP) cellules lacunosum-moléculaire-radiatum associées à la voie perforante, (m2) récepteur muscarinique de type 2, (NPY) neuropeptide Y, (PV) parvalbumine, (SM) somatostatine, (VGLUT3) transporteur vésiculaire du glutamate de type 3. Les cellules bistratifiées et les cellules O-LM expriment la parvalbumine, mais à un très faible niveau. Dans le présent mémoire nous considérons que ces deux sous-types cellulaires sont PV. Figure tirée et adaptée de (Somogyi and Klausberger, 2005).

1.3.3 Modes d'inhibition des cellules pyramidales par les interneurons

Les interneurons GABAergiques innervent les cellules pyramidales de l'hippocampe et de ce fait contrôlent leur excitabilité. On recense dans la région CA1 trois modes d'inhibition des cellules pyramidales par les interneurons : l'inhibition proactive, rétroactive et mixte.

L'inhibition proactive a lieu lorsque des afférences excitatrices activent parallèlement des cellules pyramidales et des interneurons inhibiteurs. Dans ce cas, les interneurons activés déchargent et entraînent une réponse inhibitrice dans les cellules pyramidales qu'ils ciblent indépendamment de l'activité de ces dernières (Freund and Buzsaki, 1996) (Fig. 1.5 A, page 12). L'inhibition proactive permet au circuit neuronal d'imposer un cadre temporel à l'activité des cellules pyramidales ciblées en fonction de l'input que celles-ci reçoivent (Andersen et al., 2006). Dans le CA1, les cellules pyramidales peuvent faire synapse localement sur des interneurons inhibiteurs qui, en retour, leur renvoient leurs projections axonales. Ainsi, un input excitateur peut activer des cellules pyramidales, qui à leur tour activent des interneurons, qui eux-mêmes peuvent inhiber ces dernières. Ce type d'inhibition se nomme l'inhibition rétroactive (Freund and Buzsaki, 1996) (Fig. 1.5 B, page 12). Celle-ci fait en sorte que la génération par les cellules pyramidales d'un message excitateur efférent est rapidement suivi d'une période d'inhibition locale (Andersen et al., 2006). À noter que les interneurons sont capables d'exhiber les modes d'inhibitions proactive et rétroactive simultanément : on parle alors d'inhibition mixte (Buzsáki et al., 1983; Sik et al., 1995).

L'existence de différents patrons de connexion entre les cellules pyramidales et les interneurons permet d'augmenter considérablement la gamme des opérations que le circuit est apte de réaliser en réponse à un input spécifique.

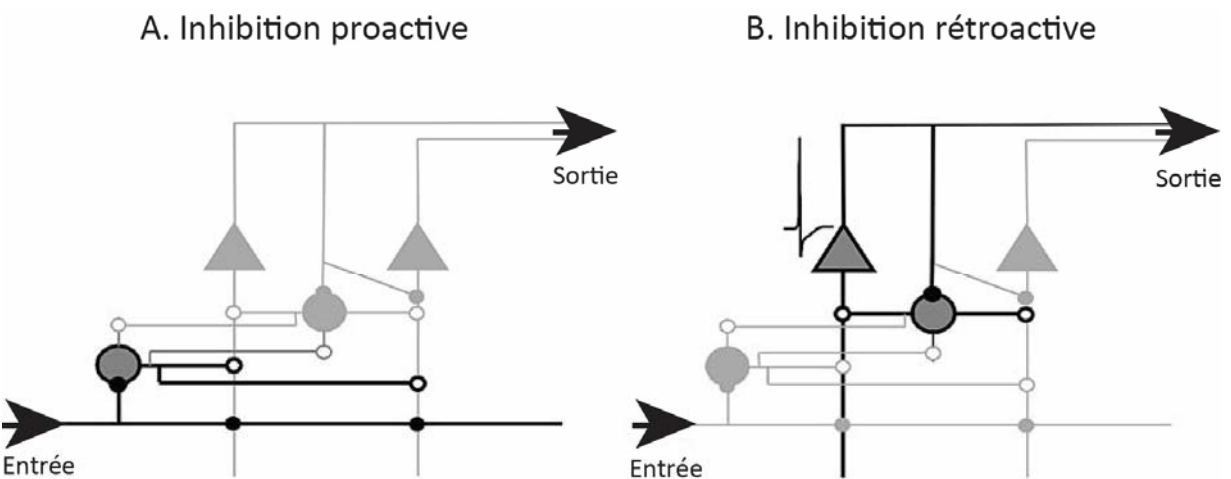


Figure 1.5. Modes d'inhibitions proactive et rétroactive. Interneurone inhibiteur (cercle gris), cellule pyramidale (triangle gris), synapse excitatrice (cercle noir), synapse inhibitrice (cercle blanc). Figure tirée et adaptée de (Andersen et al., 2006).

1.3.4 Fonctions des interneurones

Dans le cortex cérébral, la diversité des interneurones rend possible l'émergence de circuits complexes capables de traiter et d'entreposer des informations. Les sous-types d'interneurones hippocampiques organisent les fonctions corticales en coordonnant l'activité de larges populations de neurones et de différents domaines sous-cellulaires de neurones individuels.

Les somas, les cônes d'implantation et les dendrites des cellules pyramidales sont différemment excités dans le temps et ciblés par des sous-types d'interneurones distincts. Cette compartimentation de la structure des cellules pyramidales leur permet d'intégrer concurremment des signaux afférents provenant de plusieurs aires du SNC (Klausberger and Somogyi, 2008). De plus, les mêmes sous-compartiments pyramidaux peuvent recevoir des inputs GABAergiques à différents moments et de sources distinctes. Ainsi, les sous-types d'interneurones sont en mesure de contribuer différemment et de façon critique à la coordination spatio-temporelle des cellules pyramidales et, conséquemment, aux rythmes oscillatoires du cortex (Freund and Buzsaki, 1996; Klausberger and Somogyi, 2008).

En effet, les interneurones exhibent des patrons de décharge différents pendant les rythmes oscillatoires du réseau cortical et peuvent remplir différentes fonctions (Csicsvari et al., 1999). Par exemple, les cellules O-LM sont surtout actives durant les oscillations thêtas (les oscillations thêtas sont observées dans l'hippocampe et ont une fréquence de 6 à 10 Hz) (Klausberger et al., 2003). Les interneurones à projections coordonnent et associent l'activité oscillatoire des neurones au travers des différentes aires corticales (Klausberger and Somogyi, 2008). Les rythmes oscillatoires sont le reflet d'une activité neuronale hautement synchronisée (Soltesz et al., 1993) et sont présents lorsque l'organisme accomplit des tâches spécifiques, telles que l'exploration spatiale ou la remémoration. Ce qui précède appuie l'hypothèse du contrôle de flux, selon laquelle les interneurones seraient capables de réguler le flux d'informations dans un circuit donné et seraient seulement actifs à un instant précis relativement à une tâche comportementale spécifique (Kepecs and Fishell, 2014).

Les interneurones définissent aussi des fenêtres temporelles pendant lesquelles les cellules pyramidales peuvent être suffisamment excitées pour générer des potentiels d'action, ce qui permet

leur synchronisation. L'association et la synchronisation de populations de cellules pyramidales est nécessaire à l'induction de plasticité synaptique à long terme dans ces dernières (Chrobak and Buzsáki, 1998).

Ainsi, les sous-types d'interneurones ne répriment pas de manière uniforme l'activité de cellules pyramidales. On constate plutôt qu'en raison de ses afférences, de ses projections et de ses patrons de décharge *in vivo* particuliers, chaque sous-type d'interneurones contribue différemment à l'orchestration des réseaux neuronaux. De cette façon, la diversité interneuronale accroît fortement la puissance computationnelle des circuits corticaux.

1.3.5 Interneurones somatostatinerigiques

Le contenu neurochimique des interneurones est une particularité qui peut servir de fondement à la catégorisation de ceux-ci en sous-types distincts (McBain and Fisahn, 2001). Dans le présent mémoire, nous nous intéressons aux sous-types d'interneurones qui expriment le peptide somatostatine. Ces interneurones, que nous qualifierons d'interneurones somatostatinerigiques, constituent eux-mêmes une population neuronale hétérogène au sein du CA1. En effet, ils rassemblent les cellules bistratifiées, les cellules O-LM et les cellules à projections hippocamposeptales (Fig. 1.4) (Somogyi and Klausberger, 2005). Les interneurones somatostatinerigiques forment néanmoins un groupe puisqu'ils possèdent plusieurs caractéristiques en commun : 1) ils ont leurs somas dans la couche oriens, 2) leurs axones ciblent les dendrites apicales et basales des cellules pyramidales, 3) ils reçoivent des afférences excitatrices provenant des collatérales de Schaffer et des collatérales récurrentes des cellules pyramidales du CA1 et 4) ils inhibent les cellules pyramidales de façon rétroactive et proactive (Lacaille et al., 1987; Lacaille and Williams, 1990; Perez et al., 2001).

Un second groupe d'interneurones, lui aussi défini neurochimiquement, existe au sein de l'hippocampe. Il s'agit des interneurones qui expriment le peptide parvalbumine, appelés interneurones parvalbuminerigiques. Ce groupe d'interneurones inclut : les cellules à panier (Schwartzkroin and Mathers, 1978) et les cellules axo-axoniques (Buhl et al., 1994). Les axones de ces interneurones ciblent les dendrites proximales, les somas et les cônes d'implantation des cellules pyramidales. Les interneurones parvalbuminerigiques reçoivent des afférences provenant des collatérales de Schaffer et des collatérales récurrentes des cellules pyramidales du CA1. Ils inhibent,

comme les interneurons somatostatinerigiques, les cellules pyramidales de façon rétroactive et proactive (Freund and Buzsaki, 1996).

Les cellules pyramidales de l'hippocampe encodent des informations comportementales importantes *via* le profil temporel de leurs décharges (Jones and Wilson, 2005), leurs taux de décharges (Ahmed and Mehta, 2009) et leurs modes de décharges en bouffées (Harris et al., 2001). Les décharges en bouffées suffisent à communiquer les informations nécessaires pour l'encodage d'un contexte durant l'apprentissage d'une tâche de conditionnement de peur au contexte (Xu et al., 2012). Les patrons de décharges des cellules pyramidales du CA1 sont sous le contrôle d'une population hétérogène d'interneurones hippocampiques (Freund and Buzsaki, 1996; Klausberger and Somogyi, 2008). Les interneurons parvalbuminerigiques régulent le profil temporel des décharges des cellules pyramidales. Quant à eux, les interneurons somatostatinerigiques régulent le mode de décharges en bouffées des cellules pyramidales (Royer et al., 2012). Cette dissociation fonctionnelle suggère que les interneurons somatostatinerigiques jouent un rôle prédominant dans l'apprentissage.

1.4 LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE DANS LES CELLULES PRINCIPALES DE L'HIPPOCAMPE

1.4.1 Plasticité synaptique : définition

La plasticité synaptique est la capacité des neurones à modifier de façon bidirectionnelle l'efficacité de leur transmission synaptique en fonction des stimulations reçues de l'environnement (Nicoll and Malenka, 1995). La première forme de plasticité synaptique a été mise en évidence par Bliss et Lomo. Ceux-ci ont démontré, chez le lapin *in vivo*, que l'application d'un train de stimulations à haute fréquence conduit à un renforcement de l'efficacité synaptique – nommé potentialisation à long terme (PLT) – aux synapses voie perforante/ cellules granulaires du gyrus dentelé (Bliss and Lomo, 1973).

Il existe de nombreuses formes de plasticité synaptique qui se distinguent notamment par la durée de celle-ci et par la direction des changements d'efficacité synaptique. Compte tenu de ces variations, on dit d'une forme de plasticité synaptique qu'elle est à *court terme* ou à *long terme* et qu'elle implique la *potentialisation* ou la *dépression*. On peut aussi décrire la plasticité synaptique

comme étant *hébbienne*, *non-hébbienne* ou *anti-hébbienne* en fonction de son assujettissement au postulat de Hebb. La règle de Hebb prévoit que si deux neurones sont actifs simultanément, la transmission synaptique entre ces neurones est renforcée (Hebb, 1949). Ainsi, une plasticité hébbienne requiert une activité présynaptique et une dépolarisation postsynaptique conjointes; une plasticité non-hébbienne nécessite, le plus souvent, une activité présynaptique en absence d'activité postsynaptique ; enfin, une plasticité anti-hébbienne exige généralement une activité présynaptique en présence d'une hyperpolarisation postsynaptique.

Dans les sous-sections qui suivent, nous décrivons brièvement les principaux types de plasticité synaptique présents dans les cellules principales (pyramidales) de l'hippocampe. Cette description de la plasticité synaptique s'appuiera sur la dichotomie de la dépendance/ indépendance de celle-ci aux récepteurs de l'acide N-méthyl-D-aspartique (NMDA) dans deux synapses modèles (collatérales de Schaffer/ cellules pyramidales du CA1 et fibres moussues/ cellules pyramidales du CA3). Nous parlerons exclusivement de plasticité à long terme, puisque l'on considère généralement que ces modifications persistantes de l'efficacité des synapses constituent le mécanisme cellulaire de base de l'apprentissage et de la mémoire (Bliss and Collingridge, 1993).

1.4.2 La plasticité synaptique dépendante des récepteurs NMDA : synapses collatérales de Schaffer/ cellules pyramidales du CA1

1.4.2.1 Potentialisation à long terme hébbienne

Dans les cellules pyramidales du CA1, la stimulation à haute fréquence des collatérales de Schaffer mène à une PLT de la transmission glutamatergique aux synapses collatérales de Schaffer/ cellules pyramidales du CA1 (Andersen et al., 1977). La PLT des cellules pyramidales du CA1 est *spécifique*, c'est-à-dire qu'elle est restreinte aux synapses conditionnées par les trains de stimulations à haute fréquence (Andersen et al., 1977). De plus, cette PLT est dite *associative* car lorsque la faible stimulation d'une voie afférente, qui à elle seule est insuffisante à l'induction de PLT, est couplée à la forte stimulation d'une autre voie afférente, on observe de la PLT dans les deux voies (McNaughton et al., 1978). Enfin, la PLT est *coopérative* puisque, lorsque de faibles stimulations de différentes voies afférentes qui convergent sur les mêmes cibles postsynaptiques et qui, individuellement, seraient incapables d'induire de la PLT sont couplées, ces stimulations induisent de la PLT en coopération dans chaque voie impliquée (Lee, 1983).

La PLT des cellules pyramidales du CA1 est hébbienne : son induction nécessite en effet la coïncidence d'activités pré- et postsynaptique. Les récepteurs NMDA (NMDAR) jouent un rôle indispensable dans le processus d'induction de la PLT (Collingridge et al., 1983). Leurs propriétés courant-voltage sont telles qu'une forte dépolarisation membranaire est requise pour lever leur blocage par les ions Mg^{2+} lors de leur activation par le glutamate (Evans et al., 1977). Ainsi deux conditions doivent être réunies pour que les récepteurs NMDA soient activés : 1) il doit y avoir une activité présynaptique qui déclenche la libération de glutamate et 2) il doit y avoir une forte dépolarisation postsynaptique pour lever leur inhibition par le Mg^{2+} . Ceci offre une explication d'ordre moléculaire aux règles d'induction de la PLT hébbienne et à ses propriétés de spécificité, d'associativité et de coopérativité (Collingridge, 1985; Wigström and Gustafsson, 1985). L'activation des récepteurs NMDA, perméables au Ca^{2+} , permet l'entrée de Ca^{2+} dans le neurone postsynaptique. La forte augmentation de la concentration de Ca^{2+} postsynaptique engendre l'activation du complexe Ca^{2+} -calmoduline-kinase II (CaMKII) et de la protéine kinase A (PKA), ce qui mène à l'expression de la PLT (Andersen et al., 2006).

La PLT s'exprime par une augmentation de la libération de neurotransmetteurs au niveau présynaptique et par la phosphorylation et l'insertion de récepteurs de l'acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole proprionique (AMPA) dans la densité postsynaptique (Andersen et al., 2006). L'expression de la PLT se caractérise par deux phases : une phase précoce (*E-LTP*) et une phase tardive (*L-LTP*).

La PLT-précoce dure de 1 à 3 heures et est indépendante de la synthèse protéique (Frey et al., 1988). Elle s'exprime présynaptiquement par une augmentation de la probabilité de libération de neurotransmetteurs (Pr) en réponse à un potentiel d'action (Stevens and Wang, 1994) et par une quantité accrue de neurotransmetteurs libérée par chaque vésicule (Choi et al., 2000). Postsynaptiquement, la PLT-précoce est associée à une augmentation de la conductance (γ) unitaire des récepteurs AMPA (AMPA) (Benke et al., 1998). Enfin, la PLT-précoce s'explique aussi par l'insertion de nouveaux récepteurs AMPA à la synapse potentialisée (Hayashi et al., 2000).

La PLT-tardive peut durer plusieurs jours *in vivo* (Abraham et al., 1993) et nécessite pour son maintien la synthèse d'ARN messagers (ARNm) (Nguyen et al., 1994) et de protéines (Krug et al., 1984). D'abord la PKA cytoplasmique s'introduit dans le noyau et active le facteur de transcription CREB (*C-AMP Response Element-Binding protein*, c'est-à-dire protéine se fixant au CRE). Ensuite, CREB dirige l'expression des IEGs (*Immediate Early Genes*) qui incluent des facteurs de transcription tels

que *c-fos* et *zif268*. Enfin, des ARNm et des protéines promoteurs de la plasticité synaptique sont acheminés du noyau vers les dendrites postsynaptiques où ils assurent le maintien de la PLT (Andersen et al., 2006).

1.4.2.2 Dépression à long terme

Il existe deux types de dépression à long terme (DLT) différents dans la région CA1 de l'hippocampe (Andersen et al., 2006). La première est dépendante des récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluR) et s'exprime présynaptiquement, la seconde, que nous examinerons ici, est dépendante des récepteurs NMDA et s'exprime postsynaptiquement (Oliet et al., 1997).

La DLT dépendante des récepteurs NMDA requiert une faible élévation de la concentration postsynaptique de Ca^{2+} . La faible hausse de Ca^{2+} postsynaptique suffit à l'activation de la calcineurine, une protéine phosphatase, mais est insuffisante à l'activation de la CaMKII. La calcineurine active la protéine phosphatase 1 (PP1) qui en retour inhibe la CaMKII. La DLT NMDA-dépendante s'exprime par la déphosphorylation et l'internalisation des récepteurs AMPA. Ainsi cette forme de DLT consiste en un renversement des mécanismes déclenchés par la PLT NMDA-dépendante (Andersen et al., 2006).

1.4.3 La plasticité synaptique indépendante des récepteurs NMDA : synapses fibres moussues/cellules pyramidales du CA3

1.4.3.1 Potentialisation à long terme non-hébbienne

La PLT des fibres moussues est non-hébbienne, son induction ne requiert ni dépolarisation ni élévation de Ca^{2+} dans le neurone postsynaptique. Elle est induite indépendamment de l'activation des récepteurs NMDA et est exprimée présynaptiquement.

Un influx de Ca^{2+} présynaptique, au travers des canaux calciques de type N ou P, est indispensable à l'induction de la PLT des fibres moussues. L'expression de cette PLT est associée à une augmentation de la quantité de neurotransmetteurs libérée et à une diminution du nombre d'échecs de la libération évoquée. L'entrée de Ca^{2+} présynaptique active les adénylates-cyclases AC1 et AC8, qui quant à elles entraînent une augmentation de la concentration d'AMP cyclique (AMPC). L'AMPC est responsable de l'augmentation de la libération de neurotransmetteurs par deux mécanismes : 1) d'abord, il active la PKA, qui en retour phosphoryle des protéines régulatrices de l'exocytose des

vésicules synaptiques (Rab3A et RIM1 α) 2) ensuite, il module l'activité des canaux hyperpolarisant HCNs (Nicoll and Schmitz, 2005).

À noter que les cellules pyramidales du CA3 présentent aussi un type de PLT NMDA-dépendante. En effet, les cellules principales du CA3 reçoivent non seulement des inputs excitateurs des fibres moussues mais aussi des afférences excitatrices locales-commissurales provenant d'autres cellules pyramidales du CA3. La PLT aux synapses afférences locales-commissurales/ cellules pyramidales du CA3 possède des règles d'induction et des mécanismes d'expressions différents de la PLT des fibres moussues (Zalutsky and Nicoll, 1990). Ainsi, différents inputs synaptiques peuvent donner lieu à différents types de plasticité synaptique dans une même cellule.

1.4.3.2 Dépression à long terme

Les fibres moussues peuvent aussi exhiber une DLT en réponse à un train de stimulations à basse fréquence. Cette forme de DLT ne nécessite ni dépolarisation ni variations de Ca²⁺ postsynaptique et est indépendante des récepteurs NMDA.

La DLT des fibres moussues est induite par l'activation des mGluR de type 2 (mGluR2). Elle s'exprime par une réduction de la quantité de neurotransmetteurs libérée. L'activation des mGluR2, couplée à une faible augmentation de la concentration de Ca²⁺ présynaptique, mène à l'inhibition de l'activité adénylate-cyclase d'AC1 et d'AC8 suivi de la diminution de l'activité de PKA. La DLT des fibres moussues correspond donc au renversement des mécanismes déclenchés par la PLT des fibres moussues (Nicoll and Schmitz, 2005).

1.4.4 La plasticité synaptique : base cellulaire de l'apprentissage et de la mémoire

Dans la section 1.1 du présent mémoire, *Rôle de l'hippocampe dans la mémoire*, nous avons vu que différentes structures cérébrales encodent et entreposent différents types de mémoire. Pour que la mémoire puisse exister dans l'une ou l'autre de ces structures, il doit y en avoir une trace biologique. En 1949, D. Hebb pose un postulat neurophysiologique déterminant dans les champs de la plasticité synaptique, de l'apprentissage et de la mémoire : si deux neurones sont actifs simultanément, la transmission synaptique entre ces neurones est renforcée (Hebb, 1949). Pour Hebb, apprendre revient à modifier l'efficacité synaptique d'un réseau de neurones.

Nous croyons que la PLT hébbienne (qui nécessite une activité pré- et postsynaptique conjointe) forme la base physiologique de l'association entre différents stimuli qui sous-tendent un souvenir

(Kandel, 2001). Expérimentalement, il a été démontré que : 1) l'apprentissage d'une tâche induit de la PLT dans l'hippocampe (Whitlock et al., 2006), et 2) l'inhibition de la PLT pendant un apprentissage bloque la mémoire de cet évènement (Davis et al., 1992). Par conséquent, l'hypothèse selon laquelle la plasticité synaptique sous-tend, au moins en partie, l'apprentissage et la mémoire est soutenue par une multitude de données expérimentales (Martin et al., 2000).

1.5 LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE DANS LES INTERNEURONES DE L'HIPPOCAMPE

1.5.1 Avant-propos

Comme nous venons de le voir, les cellules pyramidales de l'hippocampe exhibent divers types de plasticité synaptique. Alors qu'on croyait auparavant que les interneurons de l'hippocampe apportaient aux circuits de cellules principales un échafaud computationnel invariable, il apparaît maintenant évident que les interneurons sont eux-aussi capables d'exhiber de la plasticité synaptique activité-dépendante (Kullmann and Lamsa, 2007; Pelletier and Lacaille, 2008). Les formes de plasticité synaptique présentes aux différentes synapses excitatrices des interneurons sont très diversifiées et varient en fonction du sous-type d'interneurone et de la source des afférences synaptiques considérés (Pelletier and Lacaille, 2008). Dans les sous-sections qui suivent, nous décrivons brièvement, en utilisant la même dichotomie (dépendance/ indépendance de la plasticité synaptique aux récepteurs NMDA) et de façon non exhaustive, les principaux types de PLT et de DLT présents dans les interneurons de l'hippocampe.

1.5.2 La plasticité synaptique dépendante des récepteurs NMDA

1.5.2.1 Potentialisation à long terme hébbienne

Dans l'hippocampe, par exemple, la coïncidence de la dépolarisation postsynaptique des interneurons de la couche radiatum et de la stimulation à basse fréquence de leurs afférences glutamatergiques induit chez ces neurones une potentialisation hébbienne de leurs courants postsynaptiques excitateur (CPSE). La PLT des interneurons de la couche radiatum a lieu uniquement aux synapses des afférences stimulées. Ceci indique qu'elle est input-spécifique, et ce, malgré le manque d'épines dendritiques de ces cellules inhibitrices. Les synapses potentialisées sont riches en

récepteurs NMDA et contiennent des récepteurs AMPA imperméables aux ions Ca^{2+} (CI-AMPA). L'application de D, L-acide-2-amino-5-phosphonovalérique (AP5), un antagoniste des récepteurs NMDA, durant l'induction de la PLT, bloque la potentialisation des CPSEs (Lamsa et al., 2005; Kullmann and Lamsa, 2007).

Ainsi la PLT dépendante des récepteurs NMDA des interneurons de la couche radiatum ressemble beaucoup à celle observée aux synapses collatérales de Schaffer/ cellules pyramidales du CA1. La coïncidence d'activités pré- et postsynaptique permet l'entrée d'ions Ca^{2+} , à travers les pores des récepteurs NMDA activés, dans les interneurons postsynaptiques. Les ions Ca^{2+} activent ensuite la cascade de signalisation dépendante de la β -CaMKII (homologue de la CaMKII des cellules pyramidales), qui sous-tend l'expression de la PLT. La PLT des interneurons de la couche radiatum s'exprime postsynaptiquement par la phosphorylation et l'insertion de récepteurs AMPA dans la membrane cytoplasmique postsynaptique (Fig. 1.6, page 21) (Kullmann and Lamsa, 2007).

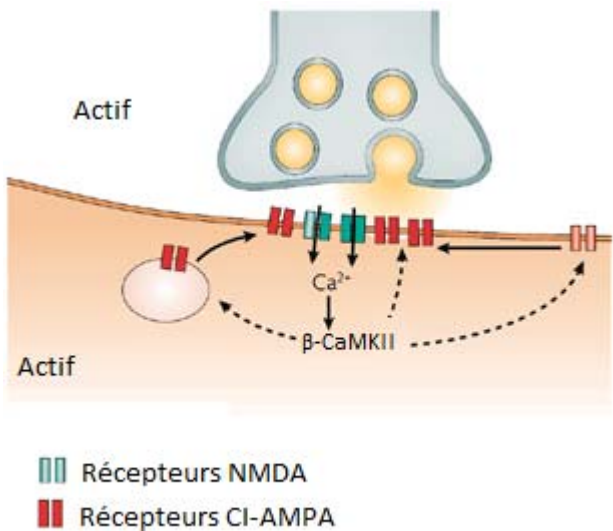


Figure 1.6. Potentialisation à long terme hébbienne et dépendante des récepteurs NMDA. La coïncidence d'activités pré- et postsynaptique cause un influx de Ca^{2+} , à travers les récepteurs NMDA, dans le neurone postsynaptique. Le Ca^{2+} active la voie de signalisation dépendante de la β -CaMKII qui en retour sous-tend l'expression de la PLT. La PLT s'exprime postsynaptiquement par la phosphorylation et l'insertion de récepteurs AMPA. Figure tirée et adaptée de (Kullmann and Lamsa, 2007).

1.5.2.2 Dépression à long terme

La DLT NMDA-dépendante est induite, entre autres, dans les interneurons de la couche lucidum par la stimulation à haute fréquence des fibres moussues, leurs afférences glutamatergiques. La DLT NMDA-dépendante est induite uniquement aux synapses fibres moussues/ interneurons qui comportent une forte majorité de récepteurs AMPA imperméables au Ca^{2+} . Cette DLT nécessite un influx d'ions Ca^{2+} à travers les récepteurs NMDA (Kullmann and Lamsa, 2007).

À l'inverse de la PLT NMDA-dépendante, la DLT NMDA-dépendante s'exprime par une endocytose des récepteurs AMPA (Lei and McBain, 2004b).

1.5.3 La plasticité synaptique indépendante des récepteurs NMDA

1.5.3.1 Potentialisation à long terme anti-hébbienne

La stimulation présynaptique à basse fréquence couplée à l'hyperpolarisation postsynaptique des interneurons de l'oriens-alveus résulte en l'induction dans ces cellules d'une PLT NMDA-indépendante, dite anti-hébbienne. L'induction de la PLT anti-hébbienne requiert une élévation de la concentration de Ca^{2+} postsynaptique qui se fait *via* l'entrée d'ions Ca^{2+} à travers les récepteurs AMPA perméables aux ions Ca^{2+} (CP-AMPA). L'activation des mGluR1 contribue aussi à la hausse de la concentration postsynaptique de Ca^{2+} en stimulant la libération de Ca^{2+} à partir des réserves intracellulaires. Le Ca^{2+} sous-tend l'expression présynaptique de la PLT anti-hébbienne par l'activation d'un messager rétrograde inconnu (Fig. 1.7, page 23). La nécessité d'une hyperpolarisation postsynaptique durant l'induction de la PLT anti-hébbienne s'explique par le profil de rectification des CP-AMPA qui est l'inverse de celui des récepteurs NMDA. Lorsque la membrane postsynaptique est dépolarisée, les polyamines intracellulaires bloquent les CP-AMPA et il n'y a pas d'entrée de Ca^{2+} et donc pas d'induction de PLT (Lamsa et al., 2007b).

La PLT anti-hébbienne s'exprime présynaptiquement par une augmentation de la probabilité de libération de neurotransmetteurs (Kullmann and Lamsa, 2007).

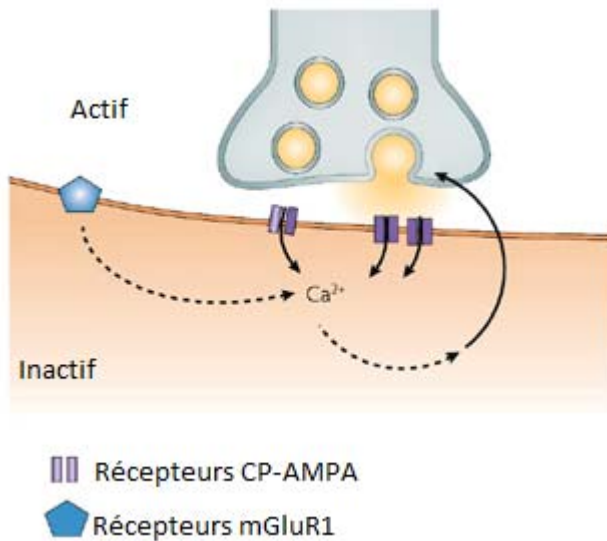


Figure 1.7. Potentialisation à long terme anti-hébbienne et indépendante des récepteurs NMDA.

L'activité présynaptique couplée à la quiescence du neurone postsynaptique permet l'entrée de Ca^{2+} via les CP-AMPA. Le Ca^{2+} active un messager rétrograde. L'expression de la PLT est présynaptique.

1.5.3.2 Potentialisation à long terme hébbienne

Les interneurons de l'oriens-alveus exhibent aussi une forme de PLT hébbienne induite par la coïncidence d'activités pré- et postsynaptique (Perez et al., 2001). L'induction de cette PLT nécessite l'activation des mGluR1, d'où l'appellation alternative de PLT hébbienne mGluR1-dépendante, ainsi qu'une élévation de la concentration de Ca^{2+} postsynaptique. L'activation des mGluR1 résulte en un influx de Ca^{2+} postsynaptique via les canaux cationiques non sélectifs de la famille des *Transient Receptor Potential* (TRP) et, dans une moindre mesure, la libération des réserves intracellulaires de Ca^{2+} . La stimulation des mGluR1 mène aussi à l'activation de l'*extracellular signal-regulated kinase* (ERK1/2), ce qui contribue à la hausse de Ca^{2+} et au contrôle de l'induction de la PLT (Topolnik et al., 2006).

Comme la PLT anti-hébbienne, la PLT hébbienne s'exprime présynaptiquement par une augmentation de la probabilité de libération de neurotransmetteurs et postsynaptiquement par des mécanismes présentement inconnus mais qui pourraient impliquer la phosphorylation et l'insertion de récepteurs AMPA (Perez et al., 2001).

1.5.3.3 Potentialisation à long terme hébbienne – induite chimiquement

Une PLT hébbienne peut également être induite aux synapses glutamatergiques des interneurons de l'oriens-alveus par l'application d'un agoniste des mGluR1/5. L'activation chimique, soit des mGluR1 seuls, soit des mGluR5 seuls, suffit à l'induction de cette forme de PLT. La PLT hébbienne induite chimiquement est indépendante des récepteurs NMDA et a lieu strictement aux synapses excitatrices qui comportent des CP-AMPA (Le Vasseur et al., 2008), c'est-à-dire aux synapses excitatrices établies par les collatérales récurrentes des cellules pyramidales du CA1 sur les interneurons de l'oriens-alveus du CA1.

Un second type de PLT, hébbienne et induite chimiquement, a aussi été mise en évidence aux synapses excitatrices des interneurons de l'oriens-alveus (Ran et al., 2009). Cette PLT, dite persistante, dure au moins 24 heures et son induction est dépendante de l'activation des mGluR1. La PLT persistante est dépendante de la transcription et de la traduction. La stimulation répétée des mGluR1 conduit à l'activation des voies de signalisation de la phosphoinositide 3-kinase (PI3K) et de ERK qui, ensemble, activent le *mammalian target of rapamycin* (mTOR). L'activation de la voie mTOR mène à la phosphorylation des *4E-Binding Protein* (4E-BP), ce qui a pour conséquence de stimuler l'initiation de la traduction (Ran et al., 2009). L'activation mGluR1-dépendante de la voie ERK contribue aussi à l'initiation de la transcription *via* la phosphorylation de CREB (Ran et al., 2012).

La PLT persistante des interneurons de l'oriens-alveus s'exprime présynaptiquement par une augmentation de la quantité de neurotransmetteurs libérée et postsynaptiquement par l'augmentation de la conductance unitaire et l'insertion de récepteurs glutamatergiques (Ran et al., 2012). La PLT hébbienne induite chimiquement dure 24 heures et est dépendante de la transcription et de la traduction ; ceci en fait un candidat intéressant pour l'étude de la contribution de la plasticité synaptique des interneurons dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe.

1.5.3.4 Dépression à long terme

La DLT NMDA-indépendante est induite, par exemple, dans les interneurons de la couche lucidum par la stimulation à haute fréquence des fibres moussues. Son induction requiert une entrée postsynaptique de Ca^{2+} *via* l'activation des récepteurs AMPA perméables au Ca^{2+} ainsi que l'activation présynaptique des mGluR7 (Kullmann and Lamsa, 2007). La DLT indépendante des récepteurs NMDA s'exprime présynaptiquement par une diminution de l'activité des canaux calciques P/Q et une diminution de la probabilité de libération de neurotransmetteurs (Laezza et al., 1999).

1.6 RÔLE DES INTERNEURONES HIPPOCAMPIQUES DANS L'APPRENTISSAGE ET LA MÉMOIRE

Lorsqu'un stimulus neutre (un contexte) est associé de façon durable à un stimulus aversif (et anxiogène), on parle de peur conditionnée. La présentation du stimulus neutre suffit alors à provoquer à lui seul l'anxiété. Le conditionnement de peur au contexte permet d'évaluer l'état de l'apprentissage et de la mémoire d'un contexte et de son association à un stimulus aversif. L'inactivation des interneurons somatostatinerrgiques durant le conditionnement de l'association contexte/ stimulus aversif inhibe le rappel de cette association 24 heures plus tard chez la souris. En d'autres mots, sans l'activité des interneurons somatostatinerrgiques, l'apprentissage d'une tâche de conditionnement de peur au contexte est impossible (Lovett-Barron et al., 2014).

L'apprentissage dépendant de l'hippocampe mène à une nette augmentation du nombre de synapses formées par les fibres moussues sur les interneurons hippocampiques du CA3. Ainsi l'apprentissage augmente l'inhibition proactive des cellules pyramidales du CA3. L'augmentation de l'inhibition proactive est nécessaire pour la précision de l'apprentissage et de la mémoire. Par exemple, la suppression de la protéine adducine 2 (une protéine ubiquitaire du cytosquelette) chez la souris bloque la réorganisation des synapses faites par les fibres moussues sur les interneurons du CA3 et l'augmentation de l'inhibition proactive en réponse à un apprentissage. Conséquemment, la mémoire des tâches apprises est imprécise. La réexpression de l'adducine 2 suffit à rétablir l'augmentation de l'inhibition proactive et la précision de la mémoire des tâches apprises. Ainsi, la plasticité structurale des interneurons est requise pour l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe (Ruediger et al., 2011).

Nous croyons que la plasticité synaptique des cellules pyramidales constitue la base neurophysiologique de l'apprentissage et de la mémoire (Bliss and Collingridge, 1993). Comme nous l'avons vu plus haut, de nombreuses preuves ont été apportées pour appuyer cette hypothèse. Par contre, le rôle de la plasticité synaptique des interneurons inhibiteurs dans l'apprentissage et la mémoire reste à élucider.

CHAPITRE 2

OBJECTIFS DU MÉMOIRE DE MAÎTRISE

2.1 OBJECTIFS DU MÉMOIRE

Les interneurones exécutent diverses fonctions de contrôle de l'activité neuronale et jouent un rôle important dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe. On connaît toutefois mal le rôle spécifique des différents sous-types d'interneurones dans les fonctions hippocampiques. Nous croyons que les mécanismes et les règles de transmission de la plasticité synaptique, vu qu'ils sont particuliers aux différents types d'interneurones (Perez et al., 2001; Lamsa et al., 2005; Kullmann and Lamsa, 2007; Lamsa et al., 2007b; Ran et al., 2009), définissent le rôle spécifique joué par chacun de ceux-ci dans les fonctions hippocampiques. On voit par conséquent l'importance que revêt l'étude de la plasticité synaptique et de ses mécanismes dans un sous-type donné d'interneurones pour la compréhension du rôle de ce type cellulaire dans l'hippocampe.

Une forme de PLT dépendante des mGluR1 existe aux synapses excitatrices établies par les collatérales axonales récurrentes des cellules pyramidales du CA1 sur les interneurones inhibiteurs de l'oriens-alveus. Cette PLT est induite par la stimulation chimique des récepteurs postsynaptiques mGluR1 et est dite *mGluR1-mediated chemical late LTP* (cL-LTP_{mGluR1}) (Ran et al., 2009). La cL-LTP_{mGluR1} dure 24 heures et est aussi dépendante de la transcription et de la traduction, deux phénomènes indispensables à la consolidation de la mémoire (Kandel, 2001). Cette persistance et cette dépendance en font un candidat intéressant pour l'étude de la contribution de la plasticité synaptique des interneurones dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe.

Quels sont les interneurones de l'oriens-alveus qui présentent la cL-LTP_{mGluR1}, quels sont les mécanismes d'induction et d'expression de cette cL-LTP_{mGluR1} et comment celle-ci contribue-t-elle à l'apprentissage et à la mémoire qui dépendent de l'hippocampe ? Voilà des questions qui, bien qu'importantes, restent toutes sans réponse.

À l'inverse des autres interneurones de l'hippocampe, les interneurones somatostatinerigiques (SOM-INs) de l'oriens-alveus du CA1 sont riches en mGluR1 (Freund and Buzsaki, 1996; Ferraguti et al., 2004). De plus, l'examen de cellules marquées à la biocytine révèle que les interneurones qui expriment un type de plasticité synaptique hébbienne dépendant des mGluR1 sont morphologiquement similaires aux cellules positives à la somatostatine (Perez et al., 2001). Ainsi, nous avons posé comme hypothèse que la cL-LTP_{mGluR1} est spécifique aux SOM-INs, ce qui les doterait

d'un rôle spécifique et dominant dans la plasticité du réseau hippocampique qui sous-tend l'apprentissage et la mémoire. Le présent mémoire de maîtrise a pour objectifs : d'abord, de démontrer la présence de la cL-LTP_{mGluR1} aux synapses excitatrices des SOM-INS et ensuite, d'identifier les mécanismes moléculaires et cellulaires d'induction et d'expression de la cL-LTP_{mGluR1} dans les SOM-INS.

Pour réaliser ces objectifs, nous avons d'abord vérifié la présence de la cL-LTP_{mGluR1} aux synapses excitatrices des SOM-INS par la technique électrophysiologique du *patch-clamp* en mode cellule-entière. Par après, nous avons utilisé différents inhibiteurs pharmacologiques et un *knock-out* fonctionnel de mTORC1 conjointement à des enregistrements électrophysiologiques pour disséquer la cascade de signalisation moléculaire, dont mTORC1 fait partie, impliquée dans l'induction de la cL-LTP_{mGluR1}.

Dans l'ensemble, le présent mémoire a permis de mettre en évidence l'existence de la cL-LTP_{mGluR1} aux synapses excitatrices des SOM-INS (SOM-INS cL-LTP_{mGluR1}) et d'identifier les voies de signalisation importantes pour l'induction de cette forme de plasticité synaptique. Ces connaissances serviront à développer des stratégies pour bloquer la SOM-INS cL-LTP_{mGluR1} *in vivo* pour en étudier le rôle dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe.

2.2 CONTRIBUTION DES COAUTEURS DE L'ARTICLE

Ce projet de recherche a été réalisé sous la direction du Dr Jean-Claude Lacaille. L'étudiant, Alexandre La Fontaine, a effectué la totalité des expériences d'électrophysiologie. Les expériences d'immunofluorescence ont été faites par le Dre Isabel Laplante. Le texte du présent manuscrit a été rédigé par l'étudiant et révisé par les coauteurs. L'étudiant a réalisé toutes les figures présentées dans l'article.

CHAPITRE 3

PLASTICITÉ SYNAPTIQUE PERSISTANTE DÉPENDANTE DE mTORC1 AUX SYNAPSES EXCITATRICES DES INTERNEURONES SOMATOSTATINERGIQUES DE L'HIPPOCAMPE

**Persistent plasticity mediated by mTORC1 at somatostatin-expressing hippocampal interneuron
excitatory synapses**

Alexandre La Fontaine, Isabel Laplante, Jean-Claude Lacaille

Département de neurosciences, Groupe de recherche sur le système nerveux central (GRSNC),
Université de Montréal, C.P. 6128, Succ. Centre-Ville, Montréal, Québec, Canada, H3C 3J7

Article préparé pour soumission à *The Journal of Neuroscience*

3.1 ABSTRACT

The hippocampus contains a heterogeneous population of inhibitory interneurons (INs). The role that subtypes of INs play in hippocampal learning and memory remains largely unknown but likely relies on cell type-specific plasticity mechanisms at IN synapses. Previously, we uncovered a persistent long-term potentiation at excitatory synapses onto CA1 oriens-alveus interneurons induced by chemical stimulation of mGluR1 [mGluR1-mediated chemical late LTP (cL-LTP_{mGluR1})]. The specific type of oriens-alveus interneurons that express cL-LTP_{mGluR1} is unknown. Evidence showing that mGluR1 is highly expressed in somatostatin-positive interneurons (SOM-INs) and that CA1 SOM-INs display hebbian mGluR1-dependent synaptic plasticity lead us to hypothesize that cL-LTP_{mGluR1} occurs in CA1 SOM-INs and likely defines cell type-specific roles in network plasticity underlying learning and memory. Here, we showed first, in transgenic mice with EYFP-labelled SOM-INs that repeated mGluR1 stimulation activates, in an ERK dependent fashion, the CREB transcriptional and mTOR translational pathways required for persistent plasticity in SOM-INs. Next we determined that cL-LTP_{mGluR1} is present at excitatory synapses onto SOM-INs using whole cell recordings and minimal stimulation in slice cultures. EPSCs recorded in SOM-INs were potentiated after repeated mGluR1 stimulation, compared to sham-treatment. Application of LY367385 an mGluR1 α antagonist or U0126 an MEK-ERK inhibitor during induction prevented cL-LTP_{mGluR1}, consistent with a requirement for mGluR1 α and MEK-ERK signaling. Moreover, cL-LTP_{mGluR1} involves mTORC1 mediated translational control as it is blocked by PP242 (mTOR inhibitor) and absent in mice lacking Raptor, an adapter protein necessary for mTORC1 function, specifically in SOM-INs. Our results indicate that transcription- and translation-dependent plasticity (cL-LTP_{mGluR1}) is present at excitatory synapses onto CA1 SOM-INs and requires mGluR1-dependent activation of the ERK and mTORC1 pathways. As mentioned above, our mice lacking Raptor specifically in SOM-INs show no cL-LTP_{mGluR1}. This *in vivo* knock-out animal model coupled to the knowledge of the signaling cascade involved in SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} provides new insight for investigating the role of this cell type-specific plasticity in hippocampus-dependent learning and memory.

3.2 INTRODUCTION

Hippocampal inhibitory interneurons control and synchronize the output of principal cells (Buhl et al., 1994). There are many different subtypes of interneurons, executing diverse functions in neuronal networks (Freund and Buzsaki, 1996; Somogyi and Klausberger, 2005). For example, perisomatic-targeting parvalbumin-expressing interneurons (PV-INs) have no effect on burst firing of pyramidal neurons but rather shift the spikes' theta phase towards the trough of theta, and dendrite-targeting somatostatin-expressing interneurons (SOM-INs) increase burst firing without modifying the theta phase of spikes (Royer et al., 2012). Despite having different functions in terms of neural coding and their known importance in neuronal network activity, very little is known about PV-INs's and SOM-INs's specific contribution to hippocampal-dependent learning and memory. Recently, CA1 SOM-INs, located in OA, were shown to play an important role in fear learning and memory (Lovett-Barron et al., 2014), but the nature of the underlying synaptic plasticity mechanisms remains unknown.

Long-term potentiation (LTP) is a long-lasting activity-dependent increase in synaptic efficacy and a prominent feature of hippocampal principal cell synapses which is thought to mediate, at least in part, hippocampus-dependent learning and memory (Neves et al., 2008). LTP consists of a transient phase (early LTP, E-LTP) that lasts from minutes to 3 hours (Kandel, 2001), and a late phase (late LTP, L-LTP) that lasts from 8 hours in hippocampal slices (Frey et al., 1988) to several days *in vivo* (Abraham et al., 1993). In contrast to E-LTP, L-LTP, like long-term memory, requires new gene expression and protein synthesis (Kandel, 2001; Kelleher et al., 2004a). Lately, excitatory synapses onto hippocampal interneurons have also been shown to express diverse forms of synaptic plasticity (Abraham et al., 1993; Nicoll and Schmitz, 2005; Kullmann and Lamsa, 2007; Pelletier and Lacaille, 2008). In CA1, NMDA-receptor-dependent LTP has been reported in stratum radiatum interneurons (Lamsa et al., 2005) and NMDA-receptor-independent LTP, which involves CP-AMPA receptors (Ca²⁺ permeable AMPA receptor) and mGluR activation, has been reported in oriens-alveus interneurons (OA-INs) (Perez et al., 2001). These two forms of synaptic plasticity last 30 min and their implication in learning and memory remains unknown. However, hippocampal-dependent learning elicits long-lasting structural plasticity at mossy fiber excitatory synapses onto CA3 interneurons which has been shown to be necessary for precision of learned behavior and memory (Ruediger et al., 2011). Hence,

long-lasting changes in interneuron circuits are implicated in hippocampal-dependent learning and memory.

L-LTP, lasting 24 h, chemically induced by repeated mGluR1 stimulation (cL-LTP_{mGluR1}) is present at excitatory synapses onto CA1 OA-INs (Ran et al., 2009). By analogy to pyramidal cell L-LTP, cL-LTP_{mGluR1}'s persistence and its transcription- and translation-dependence make it an interesting candidate mechanism for learning- and memory-related long-term synaptic plasticity in interneurons. Nonetheless, whether long-term synaptic plasticity at excitatory synapses onto interneurons is implicated in hippocampus-dependent learning and memory is unclear.

SOM-INs express high levels of mGluR1 (Ferraguti et al., 2004). Thus cL-LTP_{mGluR1} may be specific to SOM-INs and account for their importance in hippocampus-dependent learning and memory. In the present study, we showed that excitatory synapses onto CA1 EYFP-labelled SOM-INs express cL-LTP_{mGluR1} which lasts for at least 24 hours. Using pharmacological and genetic approaches, we demonstrated that metabotropic glutamate receptor 1 (mGluR1), extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) and the mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) signaling pathways are required for cL-LTP_{mGluR1} induction in SOM-INs.

3.3 MATERIALS & METHODS

Experiments were performed in accordance with the Canadian animal care guidelines at Université de Montréal.

3.3.1 SOM-Cre-EYFP and SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} mice lines

A mice line expressing Cre recombinase under the somatostatin promoter (SOM-IRES-Cre mice; obtained from Dr. Josh Huang, Cold Spring Harbor Laboratories, (Kvistiani D et al, Soc Neurosci Abst 201.7, 2010) was crossed with the floxed reporter mice line (Ai3-EYFP; Jackson Laboratories #007903) to generate SOM-Cre-EYFP mice.

Homozygous SOM-Cre-EYFP mice were crossed with floxed Raptor (Raptor^{fl/fl}; Jackson Laboratories #013188) mice to generate heterozygous SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/wt} mice with a Raptor deletion specifically in SOM-INs. These heterozygous mice were then crossed together to obtain homozygous SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} mice with a full Raptor knock-out in SOM-INs.

3.3.2 SOM-INs labeling

Hippocampal slice cultures from SOM-Cre-EYFP mice were obtained, fixed in PFA and resectioned as described previously (Ran et al., 2009; Ran et al., 2012). Sections were permeabilized with 0.5% Triton X-100 in PBS (30 min) and unspecific binding was blocked with 10% normal goat serum in 0.3% Triton X-100 in PBS (1 h). Rabbit polyclonal somatostatin-28 antibody (1:2000; Abcam #43862) was incubated overnight at 4°C. Sections were subsequently incubated at room temperature with Alexa 594-conjugated goat anti-rabbit IgG (1:500; 90 min; Jackson Immunoresearch Laboratories). Somatostatin labeling in EYFP-positive cells in hippocampal sections was examined using a Nikon microscope (Nikon Eclipse E600) equipped with epifluorescence and images were acquired with the Simple PCI software (CImaging Systems).

3.3.3 Hippocampal slice cultures

Unless otherwise stated, hippocampal slice cultures were obtained as previously described (Ran et al., 2009; Ran et al., 2012) from 4- to 5 day-old SOM-Cre-EYFP mice of either sex. The brain was removed and dissected in HBSS (Invitrogen) based medium. Cortico-hippocampal slices (400 µm thick) were then obtained using a McIlwain tissue chopper (The Mickle Laboratory Engineering Co. Ltd). After dissection,

slices were placed on Millicell culture plate inserts (Millipore) and allowed to recover in OptiMEM (Invitrogen) kept at 37°C in a humidified atmosphere (95% air, 5% CO₂) for 24 h. They were then maintained in OptiMEM for 5-12 days.

3.3.4 Induction of cL-LTP_{mGluR1}

The chemical induction protocol consisted of three applications (10 min duration each at 30 min intervals) of the mGluR1/5 agonist (S)-3,5-dihydroxyphenylglycine (DHPG, 5 μM; Abcam Biochemicals; ab120007) in the presence of mGluR5 antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP, 25 μM; Tocris Bioscience 1212). For concomitant application of inhibitors or allosteric modulators (LY367,385 Tocris Biosciences 1237, 100 μM; Ro 67-7476 Tocris Biosciences 4346, 5 μM; U0126 Calbiochem 662005, 20 μM; PP242 L.C. Laboratories P-6666, 2.5 μM), drugs were applied from 20 min before to 20 min after DHPG/MPEP treatment. After treatments, slices were allowed to recover for 24 h before recordings. For the sham procedure (control condition) slices were treated with the incubation medium without agonists or antagonists. Experimenters were blind to all treatment groups and mice genotype.

3.3.5 Whole cell recordings

Slices were transferred in oxygenated artificial CSF (aCSF) at room temperature containing (in mM): 124 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 4 MgSO₄, 4 CaCl₂, 26 NaHCO₃ and 10 D-(+)-glucose (300-310 mOsmol). Slices were allowed to recuperate for at least 45 min before electrophysiological recordings. Thereafter, the CA3 and CA1 regions of the hippocampus were disconnected by a surgical cut and slices were transferred in a submerged recording chamber perfused (4-5 ml/min) with oxygenated aCSF at 31 ± 1°C. Somatostatin expressing interneurons (SOM-INs) located in the CA1 oriens-alveus were fluorescently identified and visualized using an upright epifluorescence microscope (Nikon Eclipse E600FN) equipped with a long-range water-immersion objective (x40, Nomarski Optics) and an infrared camera (70 Series; Dage-MTI). Whole-cell recordings were obtained from SOM-INs using borosilicate pipettes (3-5 MΩ). Whole-cell recording solution contained (in mM): 135 CsMeSO₃, 5 NaCl, 1 MgCl₂, 10 HEPES, 10 phosphocreatine, 2 QX-314, 2 ATP-Tris, 0.4 GTP-Tris and 0.1% biocytin (pH 7.2-7.3; 280-290 mOsmol). Recordings were performed in voltage-clamp mode using a Multiclamp 700A amplifier (Molecular Devices). The signal was low-pass-filtered at 2 KHz, digitized at 20 KHz and stored on a PC. Acquisition and off-line analyses were performed using 1322A Digidata acquisition board and pClamp 9.2 (Molecular Devices). Cells were maintained at a holding potential of -60 mV and series resistance was monitored

regularly. Data were discarded if the holding current was unstable or if series resistance varied >25% of initial value.

3.3.6 Evoked EPSCs

EPSCs mediated by AMPA/kainate receptors were recorded in the presence of DL-2-amino-5-phosphonovaleric acid (50 μ M; Abcam Biochemicals; ab120004) and GABA_Azine (5 μ M; Abcam Biochemicals; ab120042) to block NMDA and GABA_A receptors respectively. Pairs of EPSCs were evoked at 0.5 Hz by constant current pulses (50 μ s duration, 50 ms interpulse interval) using a bipolar θ -glass electrode filled with aCSF and positioned in the stratum oriens. Putative single-fiber EPSCs were evoked using minimal stimulation as previously described (Ran et al., 2009; Ran et al., 2012). Briefly, at the beginning of each experiment, the stimulus strength was adjusted to a value that yielded \approx 50% successes (range 40-60%). EPSC potency (EPSC amplitude excluding failures) and paired pulse ratio were calculated from 5 min bins over a 10-20 min period. Because the failure rate was an adjusted parameter, we used EPSC potency to characterize amplitude changes in evoked transmission.

3.3.7 Immunofluorescence

For phosphorylation assays, SOM-Cre-EYFP mice (17- to 22-d-old) were deeply anesthetized with sodium pentobarbital (MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario, Canada) and perfused transcardially with ice-cold ACSF containing (in mM): 110 choline-chloride, 2.5 KCl, 7 MgCl₂, 26 NaHCO₃, 7 dextrose, 1.3 ascorbic acid and 0.5 CaCl₂ and saturated with 95% O₂ and 5% CO₂. Coronal hippocampal slices (300 μ m thick) were obtained using a vibratome (Leica VT 10005) and transferred to normal oxygenated ACSF containing (in mM): 124 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 2 MgCl₂, 2 CaCl₂, 26 NaHCO₃, 10 D-(+)-glucose, 1.3 ascorbic acid maintained at 31-33°C. After a 1 h recovery period, slices were treated, fixed with 4% PFA at 0, 30 or 60 min after treatment and re-sectioned as described previously (Ran et al., 2009; Ran et al., 2012). Sections were permeabilized with 0.3% Triton X-100 in PBS (15 min) and unspecific binding was blocked with 10% normal goat serum in 0.1% Triton X-100 in PBS (1 h). Rabbit polyclonal phospho-S6 ribosomal protein (S235/S236) antibody (1:200; Cell Signaling Technology, catalog # 2211) or phospho-CREB^(S133) antibody (1:500; Millipore) was incubated overnight at 4°C. Sections were subsequently incubated at room temperature with Texas-Red-conjugated goat anti-rabbit IgG (1:400 or 1:600 respectively; 90 min; Jackson ImmunoResearch Laboratories). Images were acquired using a confocal microscope (LSM510; Zeiss) at excitation wavelengths 488 and 543 nm. Images from different treatment/groups were acquired using the exact same parameters. Cell fluorescence was quantified

using ImageJ software (National Institutes of Health; freely available) by comparing integrated density in cells corrected for background. In preliminary experiments, we found that basal levels of phospho-S6 and phospho-CREB were highly variable in interneurons in slice cultures but more constant in acute slices. Therefore, we performed the immunofluorescence experiments on acute slices.

3.3.8 SOM-INs count

SOM-INs count was determined by immunofluorescence in hippocampal sections from SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/wt, fl/wt or fl/fl} (3-5 weeks-old) mice. Animals were deeply anesthetized intra-peritoneally with sodium pentobarbital (MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario, Canada) and perfused transcardially with ice-cold 0.1M phosphate buffer (PB) and 4% paraformaldehyde in 0.1M PB (PFA). Mice were decapitated and the brains were isolated and then cryoprotected in 30% sucrose. Coronal brain sections (50 μ m thick) were obtained using a freezing microtome (Leica SM200R, Germany). Hippocampal sections were examined using a Nikon microscope (Nikon Eclipse E600) equipped with epifluorescence and images were acquired with the Simple PCI software (CImaging Systems). SOM-INs count was determined in the oriens-alveus layers of CA1.

3.3.9 Statistical analysis

Normality was verified for all data groups using the Shapiro-Wilk test. Unless otherwise stated, between groups comparisons were performed using an unpaired Student's two-tailed test or ANOVA followed by *post hoc* Dunnett's two-tailed test as suitable. Kolmogorov-Smirnov test was also used to compare the distributions of immunofluorescence intensity data. Values were expressed as mean \pm SEM and a P value < 0.05 was considered significant.

3.4 RESULTS

3.4.1 EYFP colocalized with somatostatin in CA1 SOM-INs

SOM-Cre-EYFP transgenic mice were generated to specifically label somatostatin-expressing interneurons (SOM-INs). We examined whether EYFP and somatostatin colocalized in SOM-Cre-EYFP mice in order to validate our transgenic mice model.

Preliminary data indicated that colocalization of EYFP and somatostatin in cells of the CA1 region of the hippocampus was $91.33 \pm 1.14\%$ in organotypic cultured slices (Fig. 3.1, page 55) and $98.53 \pm 0.46\%$ in acute slices (data not shown).

Somatostatin-positive cells in the CA1 hippocampus being GABAergic interneurons (Freund and Buzsaki, 1996; Somogyi and Klausberger, 2005), fluorescently identified CA1 EYFP-positive cells were thus considered to be SOM-INs and referred to as such for the purpose of this study.

3.4.2 Repeated mGluR1 stimulation activated transcription and translation pathways in CA1 SOM-INs

Persistent long-term synaptic plasticity requires transcription (Nguyen et al., 1994) and translation (Martin et al., 1997). We investigated whether repeated chemical mGluR1 stimulation (3 X DHPG/MPEP), known to elicit a persistent long-term potentiation at CA1 hippocampal interneurons excitatory synapses (Ran et al., 2009), would activate transcriptional and translational pathways in SOM-INs.

Stimulus-inducible CREB-dependent transcription is essential for long-term synaptic modifications and memory (Kaang et al., 1993; Huang et al., 1994; Wu et al., 1995; Ran et al., 2012). Consequently, we assayed SOM-INs for CREB phosphorylation (pCREB), which provides a readout of CREB-dependent transcription activation (Gonzalez and Montminy, 1989), to establish whether transcription is activated in SOM-INs after mGluR1 stimulation. Acute hippocampal slices from SOM-Cre-EYFP mice underwent repeated stimulation of mGluR1 and pCREB was determined subsequently by immunofluorescence. mGluR1 stimulation increased pCREB levels in SOM-INs relative to sham treatment ($135.34 \pm 13.68\%$ of sham treatment; Student's test $p = 0.0325$; Fig. 3.2C, page 56). The distribution of fluorescence intensity levels was larger following repeated mGluR1 stimulation, compared to sham-treatment (Kolmogorov-Smirnov test $p = 0.0038$; Fig. 3.2B, page 56). Since ERK signaling is involved in the CREB-dependent transcriptional pathway (Impey et al., 1998) and is necessary for persistent long-term potentiation in hippocampal interneurons (Ran et al., 2009), we examined the role of ERK signaling in SOM-INs transcriptional control. The pCREB increase observed

following mGluR1 stimulation was prevented by the inhibitor of the MEK-ERK signaling pathway U0126 ($84.38 \pm 17.04\%$ of sham treatment; Student's test $p = 0.3858$; Fig. 3.2C). Accordingly, the distributions of fluorescence levels were no different between 3 X DHPG/ MPEP + U0126-treatment and sham-treatment data sets (Kolmogorov-Smirnov test $p = 0.8433$; Fig. 3.2B). These data showed that cL-LTP_{mGluR1} induction protocol stimulates pCREB in SOM-INs in a MEK-ERK dependent fashion.

The mammalian target of rapamycin (mTOR) controls the synthesis of proteins through the regulation of mRNA translation in distinct forms of synaptic plasticity (Graber et al., 2013). mTOR regulates translation via multiple targets, including the phosphorylation of ribosomal protein S6 (Dufner and Thomas, 1999a). Hence we examined S6 phosphorylation (pS6) levels in SOM-INs to determine whether the mTOR translational pathway is activated in this interneuron subtype following repeated mGluR1 stimulation. Consistent with previous reports in CA1 interneurons (Ran et al., 2009), mGluR1 stimulation increased S6 phosphorylation in SOM-INs relative to sham treatment ($145.63 \pm 8.59\%$ of sham treatment; Student's test $p = 0.0122$; Fig. 3.3C, page 57). The distribution of fluorescence levels was significantly larger following repeated mGluR1 stimulation, compared to sham-treatment (Kolmogorov-Smirnov test $p = 0.0002$; Fig. 3.3B, page 57). The increase in pS6 after mGluR1 stimulation was blocked by the mGluR1 α antagonist LY367385 ($109.26 \pm 17.45\%$ of sham treatment; Student's test $p = 0.2868$; Fig. 3.3C). There was no difference between the distributions of fluorescence levels of 3 X DHPG/ MPEP + LY367385-treatment and sham-treatment (Kolmogorov-Smirnov test $p = 0.3340$; Fig. 3.3B). The positive allosteric modulator of mGluR1, Ro 67-7476, further enhanced S6 phosphorylation in SOM-INs relative to repeated mGluR1 stimulation by ($161.89 \pm 31.84\%$ of 3 X DHPG/ MPEP treatment; Student's test $p = 0.11786$). Accordingly, the distribution of fluorescence levels was larger following 3 X DHPG/ MPEP + Ro 67-7476, compared to repeated mGluR1 stimulation (Kolmogorov-Smirnov test $p = 0.0012$; Fig. 3.3B). Additionally, U0126 an inhibitor of the MEK-ERK, a signaling pathway upstream of mTOR (Hay and Sonenberg, 2004), and PP242 an mTOR inhibitor respectively, prevented the increase in pS6 in response to repeated mGluR1 stimulation (U0126: $103.90 \pm 11.88\%$; Student's test $p = 0.4006$; Fig. 3.3C; PP242: $99.14 \pm 12.70\%$; Student's test $p = 0.4242$; Fig. 3.3C; of sham treatment respectively). As anticipated, the distributions of fluorescence levels were no different between 3 X DHPG/ MPEP + U0126-treatment and sham-treatment data sets (Kolmogorov-Smirnov test $p = 0.6502$; Fig. 3.3B). Surprisingly, the distributions of fluorescence levels were significantly different between 3 X DHPG/ MPEP + PP242-treatment and sham-treatment data sets (Kolmogorov-Smirnov test $p = 0.0003$; Fig. 3.3B). Despite the ability of inhibitor PP242 to prevent the overall increase in pS6 following repeated mGluR1 stimulation without any effects on basal pS6 (Fig. 3.3C), the Kolmogorov-Smirnov test indicated

that the distributions of fluorescence levels were different between 3 X DHPG/ MPEP + PP242-treatment and repeated mGluR1 stimulation treatment data sets. This is easily explained, as the Kolmogorov-Smirnov test is sensitive to differences in location and shape of cumulative distribution functions. Although there is no difference between these two groups in the overall shape of their distribution function, there is a difference in the distribution of fluorescence levels solely between 0.05 i.d. and 0.075 i.d. fluorescence values (Fig. 3.3B). Notwithstanding, mGluR1 α and MEK-ERK signaling are implicated in mTOR activation and translational control in SOM-INs following repeated mGluR1 stimulation.

Collectively the results showed that repeated stimulation of mGluR1 activates both transcription and translation pathways in SOM-INs.

3.4.3 Repeated mGluR1 stimulation induced a persistent long-term potentiation at CA1 SOM-INs excitatory synapses

Previously, various forms of mGluR1-dependent synaptic plasticity were reported in OA-INs (Perez et al., 2001; Lapointe et al., 2004; Le Vasseur et al., 2008; Ran et al., 2009). Morphological examination of biocytin-filled interneurons revealed that OA-INs displaying mGluR1-dependent plasticity included oriens-lacunosum-moleculare (OLM) interneurons and hippocampo-septal projection cells (Perez et al., 2001), both of these interneuron subtypes are positive for somatostatin (Freund and Buzsaki, 1996). Furthermore CA1 stratum radiatum interneurons, which are negative for somatostatin, do not show plasticity after mGluR1 stimulation. Hence we hypothesized that the mechanisms and rules of mGluR1-dependent long-term synaptic plasticity occur in somatostatin-expressing interneurons (SOM-INs) and may be specific to this cell type.

Accordingly we examined whether repeated mGluR1 stimulation would elicit persistent synaptic plasticity in SOM-INs. As in section 3.4.2, the induction protocol consisted of three applications (10 min duration, 30 min interval) of the mGluR1/5 agonist (S)-3,5-dihydroxyphenylglycine (DHPG) in the presence of the mGluR5 antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)pyridine (MPEP) (3 X DHPG/ MPEP) (Fig. 3.4A, page 58). Plasticity was tested directly at excitatory synapses onto SOM-INs by using a minimal stimulation protocol in order to activate putative single fiber responses from pyramidal cell local recurrent collaterals, thus avoiding the polysynaptic contribution of indirect propagation of LTP from pyramidal cells (Perez et al., 2001). EPSCs evoked by minimal stimulation were recorded in individual visually identified CA1 SOM-INs 24 h post-induction (since we aimed at studying persistent long-term potentiation). Evoked synaptic transmission was potentiated at 24 h post-induction in slices treated with

repeated mGluR1 stimulation relative to sham treated. Following repeated mGluR1 stimulation, EPSC potency (EPSC amplitude excluding failures) was increased ($199.96 \pm 19.97\%$ of sham treatment; Student's test $p = 0.0002$; Fig. 3.4D, page 58) and paired-pulse ratio (PPR) was decreased ($40.05 \pm 2.58\%$ of sham treatment; Student's test $p \leq 0.0001$; Fig. 3.4E, page 58). Therefore, it appears both presynaptic and postsynaptic mechanisms (Ran et al., 2012) underlie the persistent potentiation of evoked synaptic transmission. There was no difference in input resistance between repeated mGluR1 stimulation and sham-treated groups ($163.42 \pm 20.79 \text{ M}\Omega$ vs $139.38 \pm 19.36 \text{ M}\Omega$, respectively; Student's test $p = 0.3871$), ruling out nonspecific membrane effects of agonist stimulation. Finally, the stimulus intensity required for a $\approx 50\%$ failure rate of EPSCs was lower following repeated mGluR1 stimulation, compared to sham-treatment ($78.39 \pm 8.30\%$ of sham treatment; Student's one-tailed test $p = 0.0483$; Fig. 3.4F, page 58), showing the synaptic input-output relation was changed in SOM-INs.

These data demonstrated that repeated mGluR1 stimulation induces a persistent long-term potentiation (cL-LTP_{mGluR1}) at SOM-INs excitatory synapses.

3.4.4 mGluR1 regulated cL-LTP_{mGluR1} in CA1 SOM-INs

The mGluR1 subtype is strongly expressed in somatostatin-expressing interneurons such as OLM cells and hippocampo-septal projection cells (Freund and Buzsaki, 1996), whereas other interneuron subtypes such as fast-spiking cells do not express high levels of mGluR1 (van Hooft et al., 2000; Ferraguti et al., 2004). These observations strengthen our rationale to study cL-LTP_{mGluR1} in the well-defined interneuron subgroup of SOM-INs. Coupled to our finding that mGluR1 stimulation activated transcription/ translation (Fig. 3.2-3.3, pages 56-57) and induced persistent synaptic plasticity at SOM-INs excitatory synapses (Fig. 3.4) this lead us to further examine the role of mGluR1 in SOM-INs cL-LTP_{mGluR1}.

Treatment of slices with LY 367385, a specific mGluR1 α antagonist (Bruno et al., 1999), during the induction protocol blocked long-term potentiation of evoked synaptic transmission (Fig. 3.5, page 59). Application of LY 367385 prevented the increase in evoked EPSC potency ($57.75 \pm 5.52\%$ of 3 X DHPG/ MPEP; Dunnett's multiple comparison test $p = 0.0418$; Fig. 3.5C, page 59) and the decrease in PPR ($174.67 \pm 9.61\%$ of 3 X DHPG/ MPEP; Dunnett's multiple comparison test $p = 0.0001$; Fig. 3.5D, page 59). The positive allosteric modulator of mGluR1, Ro 67-7476, augmented the potentiation of EPSC potency relative to repeated mGluR1 stimulation ($138.77 \pm 13.52\%$ of 3 X DHPG/ MPEP; Dunnett's one-tailed multiple comparison test $p = 0.0270$; Fig. 3.5C). Ro 67-7476 treatment did not significantly affect PPR relative to repeated mGluR1 stimulation ($102.84 \pm 3.53\%$ of 3 X DHPG/ MPEP treatment; Dunnett's

multiple comparison test $p = 0.9933$; Fig. 3.5D). Application of LY 367385 (Ran et al., 2009) or Ro 67-7476 (Fig. 3.5.) without repeated mGluR1 stimulation had no effects on evoked EPSCs and was similar to sham treatment.

Taken together, our pharmacological data showed that stimulation of mGluR1 α is necessary for induction of cL-LTP_{mGluR1} in SOM-INs. In addition, they suggest that EPSC potency during cL-LTP_{mGluR1} could be regulated by allosteric modulation of mGluR1 during induction.

3.4.5 Inhibition of mTOR and MEK-ERK signaling pathways blocked cL-LTP_{mGluR1}

The mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway is important for long-term synaptic plasticity, learning and memory (Costa-Mattioli et al., 2009; Graber et al., 2013). Hence, we examined its role in SOM-INs cL-LTP_{mGluR1}.

Application of the mTOR inhibitor PP242 prevented the increase in EPSC potency induced by repeated mGluR1 stimulation ($42.40 \pm 2.41\%$ of 3 X DHPG/ MPEP; Dunnett's multiple comparison test $p = 0.0011$; Fig. 3.6C, page 60). The decrease in PPR induced by repeated mGluR1 stimulation was also blocked by PP242 (187.19 ± 23.63 of 3 X DHPG/ MPEP; Dunnett's multiple comparison test $p = 0.0043$; Fig. 3.6D, page 60). Application of PP242 alone had no effects on EPSCs (Fig. 3.6, page 60). Since MEK-ERK signaling plays a major role in translation-dependent LTP (Kelleher et al., 2004b) and was required for transcription-translation activation by repeated mGluR1 stimulation in SOM-INs (Fig. 3.2-3.3), we next determined its contribution to cL-LTP_{mGluR1}. In the presence of U0126, a specific MEK-ERK inhibitor, the increase in EPSC potency following repeated mGluR1 stimulation was blocked ($45.77 \pm 3.55\%$ of 3 X DHPG/ MPEP; Dunnett's multiple comparison test $p = 0.0009$; Fig. 3.6C) and the decrease in PPR was also prevented ($153.20 \pm 7.10\%$ of 3 X DHPG/ MPEP; Dunnett's multiple comparison test $p = 0.0468$; Fig. 3.6D). Application of U0126 alone has no effects on EPSCs (Ran et al., 2009)

Therefore, collectively these results indicate that mTOR and MEK-ERK signaling pathways, key regulators of translation in synaptic plasticity, are required for cL-LTP_{mGluR1} induction in SOM-INs.

3.4.6 Conditional knock-out of Raptor in SOM-INs

We showed that application of the mTOR inhibitor PP242 blocked SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} (Fig. 3.6). mTOR assembles into two complexes mTORC1 and mTORC2 (Jacinto et al., 2004; Cloetta et al., 2013) and both are inhibited by PP242. mTORC1 is comprised of mTOR and Raptor (Proud, 2009), the latter being an adapter protein indispensable for mTORC1 activity (Wang et al., 2009). In the brain, mTORC1 controls translation-dependent plasticity which underlies long-term memory and learning (Graber et al., 2013).

Hence, we sought to determine the contribution of mTORC1 to SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} using a cell-specific knock-out of Raptor in SOM-INs.

We generated SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} mice with a Raptor knock-out specifically in SOM-INs, rendering mTORC1 function null in these cells. Mice with a widespread Raptor knock-out in the CNS show a microcephaly that is the result of a reduced cell number, and die within a few hours after birth (Cloetta et al., 2013). So we verified first that our cell type specific Raptor knock-out did not alter SOM-INs cell numbers in heterozygous and homozygous floxed SOM-Cre-EYFP-Raptor mice.

SOM-INs count in CA1 hippocampus was not different between SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/wt} and heterozygous SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/wt} mice (Dunnett's multiple comparison test $p = 0.9853$; Fig. 3.7, page 61) or homozygous SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} mice (Dunnett's multiple comparison test $p = 0.7754$; Fig. 3.7). So neither homozygous nor heterozygous SOM-Cre-EYFP-Raptor knock-out mice showed any loss of SOM-INs in CA1. Consequently, in the absence of obvious developmental and neural circuit deficits, we used these mice to study mTORC1 function in cL-LTP_{mGluR1} of SOM-INs.

3.4.7 cL-LTP_{mGluR1} was impaired in SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} mice

mTORC1 function is necessary for translation-dependent LTP in both interneurons and principal cells (Ran et al., 2009; Stoica et al., 2011). Accordingly, we predicted that SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} would be compromised in SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} mice, thus providing us with a mice model to investigate SOM-INs persistent plasticity's function in hippocampal-dependent learning and memory.

We prepared hippocampal slice cultures from SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/wt}, ^{fl/wt} and ^{fl/fl} mice to examine whether cL-LTP_{mGluR1} would be altered in SOM-INs. As expected, SOM-INs from SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/wt} mice exhibited cL-LTP_{mGluR1} in slices treated with repeated mGluR1 stimulation relative to sham-treatment. EPSCs potency was increased ($249.20 \pm 29.67\%$ of sham treatment; Student's test $p = 0.0022$; Fig. 3.8D, page 62) and PPR was decreased ($40.96 \pm 3.83\%$ of sham treatment; Student's test $p = 0.0002$; Fig. 3.8E, page 62). Likewise, in heterozygous SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/wt} mice, potency was increased ($228.28 \pm 56.68\%$ of sham treatment; Student's test $p = 0.0369$; Fig. 3.8F, page 62) and this was accompanied by a decrease in PPR ($65.10 \pm 4.60\%$ of sham treatment; Student's test $p = 0.0090$; Fig. 3.8G, page 62) following repeated mGluR1 stimulation. Hence, cL-LTP_{mGluR1} is intact in SOM-INs of heterozygous SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/wt} mice. In contrast, in homozygous SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} mice, repeated mGluR1 stimulation failed to increase EPSC potency ($71.83 \pm 3.42\%$ of sham treatment; Student's test $p = 0.3202$; Fig. 3.8H, page 62) or decrease PPR ($134.07 \pm 19.33\%$ of sham treatment; Student's test $p = 0.2771$; Fig. 3.8I, page 62). Importantly, EPSC potency and PPR in sham treated slices

were similar across SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/wt}, fl/wt and fl/fl mice, indicating unaltered basal synaptic transmission in knock-out animals.

Therefore, these results using a cell-specific Raptor knock-out approach indicated that mTORC1 is necessary for translation-dependent cL-LTP_{mGluR1} in SOM-INS.

3.5 DISCUSSION

3.5.1 Summary of results

Our results show that repeated mGluR1 stimulation activates, in an ERK dependent fashion, the CREB transcriptional and mTOR translational pathways required for persistent plasticity (Fig. 4.1, page 73). Repeated mGluR1 stimulation induces a persistent (24 h) long-term potentiation (cL-LTP_{mGluR1}) at SOM-INs excitatory synapses, expressed as: a decreased paired-pulse ratio and an increased potency of putative single-fiber evoked EPSCs (Fig. 4.2, page 74). Our pharmacological data indicate that activation of mGluR1 α , MEK-ERK and mTOR pathways is necessary for cL-LTP_{mGluR1} induction in SOM-INs and that EPSC potency is further enhanced by allosteric stimulation of mGluR1. Finally, we show that SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} is blocked following repeated mGluR1 stimulation in mice harboring a SOM-INs-specific mTORC1 functional knock-out. Collectively, our results show that persistent synaptic plasticity mediated by mTORC1 is induced by repeated mGluR1 stimulation in somatostatin-expressing hippocampal interneurons.

3.5.2 cL-LTP_{mGluR1}: cell type-specificity

Heterogeneous mechanisms of synaptic plasticity clearly occur at hippocampal interneuron synapses (Lamsa et al., 2005; Pelkey et al., 2005; Lamsa et al., 2007a; Ran et al., 2009), indicating that synaptic plasticity can be cell type-specific. Chemically induced cL-LTP_{mGluR1} was first shown in OA-IN (Ran et al., 2009), however, what particular OA-IN subtypes expressed cL-LTP_{mGluR1} remained unclear. In contrast to other hippocampal interneurons (who appear to express either a minute amount of/ or no mGluR1), SOM-INs are known to express high levels of mGluR1 (Freund and Buzsaki, 1996; Ferraguti et al., 2004). Consequently, we hypothesized cL-LTP_{mGluR1} is present in OA SOM-INs and even may be specific to this cell-type. Hebbian mGluR1-dependent LTP, a shorter form of plasticity lasting 30 min, is induced by theta-burst stimulation paired with depolarization in mGluR1-abounding OA-INs but not in mGluR1-lacking radiatum-lacunosum moleculare interneurons (Perez et al., 2001). SOM-INs were shown to express this hebbian mGluR1-dependent LTP, but not PV-INs (Vasuta et al., 2012). Furthermore, cL-LTP_{mGluR1} occludes hebbian mGluR1-dependent LTP at OA-IN excitatory synapses. These findings indicate that cL-LTP_{mGluR1} and hebbian mGluR1-dependent LTP occur at the same synapses and involve similar mechanisms (Ran et al., 2009). Thus, cL-LTP_{mGluR1}, by analogy to hebbian mGluR1-dependent LTP, is likely

specific to SOM-INs. cL-LTP_{mGluR1} SOM-INs-specificity may endow these cells with a critical role in hippocampal-dependent learning and memory.

3.5.3 cL-LTP_{mGluR1}: induction and expression mechanisms

We used electrophysiological recording techniques, pharmacological inhibitors and a functional knock-out of mTORC1 to examine cL-LTP_{mGluR1} in SOM-INs and dissect its underlying signaling cascade.

The induction mechanisms uncovered in SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} were consistent to those underlying cL-LTP_{mGluR1} in OA-INs (Ran et al., 2009; Ran et al., 2012). The CREB-mediated transcriptional control mechanisms *via* ERK signaling in SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} are analogous to those observed in pyramidal cell synaptic plasticity (Deisseroth et al., 1996; Tully et al., 2003). Therefore, transcriptional control mechanisms appear conserved across different hippocampal cell types. *c-fos* expression is increased in OA-INs following repeated mGluR1 stimulation (Ran et al., 2012), suggesting CREB-dependent genes may be involved in SOM-INs cL-LTP_{mGluR1}. For example, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a CREB-dependent genes critical for pyramidal cell plasticity (Barco et al., 2005). Moreover, BDNF is involved in cortical inhibition development (Hong et al., 2008) and potentiates glutamatergic synapses onto interneurons in culture (Rutherford et al., 1998). Accordingly, BDNF transcription may be necessary for persistent synaptic plasticity at SOM-INs glutamatergic synapses. Whether CREB-targeted genes, such as BDNF, are identical in pyramidal cell and interneuron synaptic plasticity remains unknown.

Previously, it was shown that application of the mTOR inhibitor, rapamycin, prevents cL-LTP_{mGluR1} in OA-INs (Ran et al., 2009). We showed that SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} is blocked by mTOR inhibitor PP242, thus addressing the selectivity issue arising with pharmacological inhibitors. Additionally, cL-LTP_{mGluR1} is impaired in SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} transgenic mice, indicating that mTORC1 plays a critical role in SOM-INS cL-LTP_{mGluR1}. These results show that mTORC2 activity is unable to compensate for mTORC1 dysfunction and fails to support SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} in mice harboring an mTORC1 functional knock-out in SOM-INs. This was to be expected, as mTORC1 and mTORC2 act on specific non-overlapping substrates (Graber et al., 2013). In accordance with reports of heterozygous mTOR^{+/-} mice displaying normal L-LTP induced by four tetanic trains in pyramidal cells (Stoica et al., 2011), heterozygous SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/fl} mice show intact cL-LTP_{mGluR1} at SOM-INs excitatory synapse indicating the necessity of a full functional knockdown of mTORC1 for impairing long-term plasticity in SOM-INs.

A major target of mTORC1 are the initiation factor 4E binding proteins (4E-BPs) (Hay and Sonenberg, 2004; Graber et al., 2013). Through the phosphorylation of 4E-BPs mTORC1 stimulates cap-

dependent translation of neuroligins (Gkogkas et al., 2013), which are important proteins for long-term synaptic plasticity expression (Dahlhaus et al., 2010) and have been shown to regulate inhibitory synaptic transmission (Tabuchi et al., 2007). Phosphorylation of 4E-BPs by mTORC1 also selectively upregulate synthesis of AMPA receptor subunits GluA1 and GluA2, affecting persistent plasticity in OA-INs (Ran et al., 2013). Hence neuroligins, GluA1 and GluA2 may be three of many mTORC1-dependent mRNAs involved in SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} expression. We found SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} to be expressed presynaptically as a decreased PPR and postsynaptically as an increased potency of EPSCs. Quantal nonstationary fluctuation analysis of synaptic transmission during cL-LTP_{mGluR1} in OA-INs revealed increased transmitter release, recruitment of additional receptors and increased single-channel conductance to account for OA-INs cL-LTP_{mGluR1} (Ran et al., 2012). SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} likely relies on similar expression mechanisms.

Knowledge of these underlying induction and expression mechanisms, coupled to *in vivo* models, will now make it possible to interfere with SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} and probe its role in hippocampal-dependent learning and memory.

3.5.4 cL-LTP_{mGluR1}: implication in hippocampal-dependent learning and memory

For SOM-INs cL-LTP_{mGluR1} to contribute to hippocampal-dependent learning and memory it must occur *in vivo*. cL-LTP_{mGluR1} occludes hebbian mGluR1-dependent LTP in OA-INs (Ran et al., 2009), as a result it is possible that physiological activation of CA1 pyramidal cell recurrent collaterals during learning would elicit cL-LTP_{mGluR1} in OA-INs *in vivo*, and, by extension, in SOM-INs.

mGluR1 α is highly expressed in CA1 SOM-INs compared with other hippocampal interneurons and pyramidal cells (Baude et al., 1993; Ferraguti et al., 2004). Mice with a mGluR1 knock-out show impaired context-specific associative learning (Aiba et al., 1994). Therefore, SOM-INs mGluR1 function is a likely contributor to this associative memory.

Long-lasting structural plasticity at mossy fiber glutamatergic synapses onto CA3 interneurons is indispensable for precision of memory and learned behavior (Ruediger et al., 2011). Structural plasticity is accompanied by synaptic plasticity, thus suggesting interneuron synaptic plasticity may also be required for hippocampal-dependent learning and memory. However, electrophysiological evidence suggest the presence of activity-dependent long-term depression and not long-term potentiation at mossy fiber synapses onto CA3 interneurons (Lei and McBain, 2004a), raising questions about the physiological mechanisms involved in these long-lasting connectivity changes.

Furthermore, CA1 SOM-INs have been shown to play a critical role in contextual fear conditioning (CFC) in mice. Indeed, during CFC, SOM-INs inhibit CA1 pyramidal cell distal dendrites which receive aversive sensory excitation from the entorhinal cortex. This compartmentalized inhibition reduces aversive stimulus related activity in CA1 pyramidal cells and helps limit interference of the aversive stimulus with the encoding of the context, which is required for learning. Hence, inactivation of SOM-INs during CFC prevents learning and recall 24 h later (Lovett-Barron et al., 2014). This is in accordance with reports that somatostatin-expressing O-LM cells facilitate the transmission of intrahippocampal information, encoding the context, to CA1 while simultaneously reducing the influence of extrahippocampal inputs, encoding the aversive stimulus (Leao et al., 2012).

Consequently, our data indicating that cL-LTP_{mGluR1} occurs at excitatory synapses onto CA1 SOM-INs suggest an important role for CA1 SOM-INs plasticity in hippocampal network plasticity underlying learning and memory processes.

3.6 REFERENCES

- Abraham WC, Mason SE, Demmer J, Williams JM, Richardson CL, Tate WP, Lawlor PA, Dragunow M (1993) Correlations between immediate early gene induction and the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience* 56:717-727.
- Aiba A, Chen C, Herrup K, Rosenmund C, Stevens CF, Tonegawa S (1994) Reduced hippocampal long-term potentiation and context-specific deficit in associative learning in mGluR1 mutant mice. *Cell* 79:365-375.
- Barco A, Patterson S, Alarcon JM, Gromova P, Mata-Roig M, Morozov A, Kandel ER (2005) Gene expression profiling of facilitated L-LTP in VP16-CREB mice reveals that BDNF is critical for the maintenance of LTP and its synaptic capture. *Neuron* 48:123-137.
- Baude A, Nusser Z, Roberts JD, Mulvihill E, McIlhinney RA, Somogyi P (1993) The metabotropic glutamate receptor (mGluR1 alpha) is concentrated at perisynaptic membrane of neuronal subpopulations as detected by immunogold reaction. *Neuron* 11:771-787.
- Buhl E, Han Z, Lorinczi Z, Stezhka V, Karnup S, Somogyi P (1994) Physiological properties of anatomically identified axo-axonic cells in the rat hippocampus. *Journal of neurophysiology* 71:1289-1307.
- Cloetta D, Thomanetz V, Baranek C, Lustenberger RM, Lin S, Oliveri F, Atanasoski S, Rugg MA (2013) Inactivation of mTORC1 in the developing brain causes microcephaly and affects gliogenesis. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 33:7799-7810.
- Costa-Mattioli M, Sossin WS, Klann E, Sonenberg N (2009) Translational control of long-lasting synaptic plasticity and memory. *Neuron* 61:10-26.
- Dahlhaus R, Hines RM, Eadie BD, Kannangara TS, Hines DJ, Brown CE, Christie BR, El-Husseini A (2010) Overexpression of the cell adhesion protein neuroligin-1 induces learning deficits and impairs synaptic plasticity by altering the ratio of excitation to inhibition in the hippocampus. *Hippocampus* 20:305-322.
- Deisseroth K, Bito H, Tsien RW (1996) Signaling from synapse to nucleus: postsynaptic CREB phosphorylation during multiple forms of hippocampal synaptic plasticity. *Neuron* 16:89-101.
- Dufner A, Thomas G (1999) Ribosomal S6 kinase signaling and the control of translation. *Experimental cell research* 253:100-109.
- Ferraguti F, Cobden P, Pollard M, Cope D, Shigemoto R, Watanabe M, Somogyi P (2004) Immunolocalization of metabotropic glutamate receptor 1alpha (mGluR1alpha) in distinct classes of interneuron in the CA1 region of the rat hippocampus. *Hippocampus* 14:193-215.
- Freund TF, Buzsaki G (1996) Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* 6:347-470.

- Frey U, Krug M, Reymann KG, Matthies H (1988) Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain research* 452:57-65.
- Gkogkas CG, Khoutorsky A, Ran I, Rampakakis E, Nevarko T, Weatherill DB, Vasuta C, Yee S, Truitt M, Dallaire P, Major F, Lasko P, Ruggiero D, Nader K, Lacaille JC, Sonenberg N (2013) Autism-related deficits via dysregulated eIF4E-dependent translational control. *Nature* 493:371-377.
- Gonzalez GA, Montminy MR (1989) Cyclic AMP stimulates somatostatin gene transcription by phosphorylation of CREB at serine 133. *Cell* 59:675-680.
- Graber TE, McCamphill PK, Sossin WS (2013) A recollection of mTOR signaling in learning and memory. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, NY)* 20:518-530.
- Hay N, Sonenberg N (2004) Upstream and downstream of mTOR. *Genes & development* 18:1926-1945.
- Hong EJ, McCord AE, Greenberg ME (2008) A Biological Function for the Neuronal Activity-Dependent Component of *Bdnf* Transcription in the Development of Cortical Inhibition. *Neuron* 60:610-624.
- Huang YY, Li XC, Kandel ER (1994) cAMP contributes to mossy fiber LTP by initiating both a covalently mediated early phase and macromolecular synthesis-dependent late phase. *Cell* 79:69-79.
- Impey S, Obrietan K, Wong ST, Poser S, Yano S, Wayman G, Deloulme JC, Chan G, Storm DR (1998) Cross talk between ERK and PKA is required for Ca²⁺ stimulation of CREB-dependent transcription and ERK nuclear translocation. *Neuron* 21:869-883.
- Jacinto E, Loewith R, Schmidt A, Lin S, Ruegg MA, Hall A, Hall MN (2004) Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nature cell biology* 6:1122-1128.
- Kaang BK, Kandel ER, Grant SG (1993) Activation of cAMP-responsive genes by stimuli that produce long-term facilitation in *Aplysia* sensory neurons. *Neuron* 10:427-435.
- Kandel ER (2001) The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science (New York, NY)* 294:1030-1038.
- Kelleher RJ, 3rd, Govindarajan A, Tonegawa S (2004a) Translational regulatory mechanisms in persistent forms of synaptic plasticity. *Neuron* 44:59-73.
- Kelleher RJ, 3rd, Govindarajan A, Jung HY, Kang H, Tonegawa S (2004b) Translational control by MAPK signaling in long-term synaptic plasticity and memory. *Cell* 116:467-479.
- Kullmann DM, Lamsa KP (2007) Long-term synaptic plasticity in hippocampal interneurons. *Nature reviews Neuroscience* 8:687-699.
- Lamsa K, Heeroma JH, Kullmann DM (2005) Hebbian LTP in feed-forward inhibitory interneurons and the temporal fidelity of input discrimination. *Nature neuroscience* 8:916-924.

- Lamsa KP, Heeroma JH, Somogyi P, Rusakov DA, Kullmann DM (2007) Anti-Hebbian long-term potentiation in the hippocampal feedback inhibitory circuit. *Science (New York, NY)* 315:1262-1266.
- Lapointe V, Morin F, Ratte S, Croce A, Conquet F, Lacaille JC (2004) Synapse-specific mGluR1-dependent long-term potentiation in interneurons regulates mouse hippocampal inhibition. *The Journal of physiology* 555:125-135.
- Le Vasseur M, Ran I, Lacaille JC (2008) Selective induction of metabotropic glutamate receptor 1- and metabotropic glutamate receptor 5-dependent chemical long-term potentiation at oriens/alveus interneuron synapses of mouse hippocampus. *Neuroscience* 151:28-42.
- Lei S, McBain CJ (2004) Two Loci of expression for long-term depression at hippocampal mossy fiber-interneuron synapses. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 24:2112-2121.
- Lovett-Barron M, Kaifosh P, Kheirbek MA, Danielson N, Zaremba JD, Reardon TR, Turi GF, Hen R, Zemelman BV, Losonczy A (2014) Dendritic inhibition in the hippocampus supports fear learning. *Science (New York, NY)* 343:857-863.
- Martin KC, Casadio A, Zhu H, Yaping E, Rose JC, Chen M, Bailey CH, Kandel ER (1997) Synapse-specific, long-term facilitation of aplysia sensory to motor synapses: a function for local protein synthesis in memory storage. *Cell* 91:927-938.
- Neves G, Cooke SF, Bliss TV (2008) Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nature reviews Neuroscience* 9:65-75.
- Nguyen PV, Abel T, Kandel ER (1994) Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP. *Science (New York, NY)* 265:1104-1107.
- Nicoll RA, Schmitz D (2005) Synaptic plasticity at hippocampal mossy fibre synapses. *Nature reviews Neuroscience* 6:863-876.
- Pelkey KA, Lavezzari G, Racca C, Roche KW, McBain CJ (2005) mGluR7 is a metaplastic switch controlling bidirectional plasticity of feedforward inhibition. *Neuron* 46:89-102.
- Pelletier JG, Lacaille JC (2008) Long-term synaptic plasticity in hippocampal feedback inhibitory networks. *Progress in brain research* 169:241-250.
- Perez Y, Morin F, Lacaille JC (2001) A hebbian form of long-term potentiation dependent on mGluR1a in hippocampal inhibitory interneurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98:9401-9406.
- Proud CG (2009) mTORC1 signalling and mRNA translation. *Biochemical Society transactions* 37:227-231.
- Ran I, Laplante I, Lacaille JC (2012) CREB-dependent transcriptional control and quantal changes in persistent long-term potentiation in hippocampal interneurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 32:6335-6350.

- Ran I, Laplante I, Bourgeois C, Pepin J, Lacaille P, Costa-Mattioli M, Pelletier J, Sonenberg N, Lacaille JC (2009) Persistent transcription- and translation-dependent long-term potentiation induced by mGluR1 in hippocampal interneurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29:5605-5615.
- Ran I, Gkogkas CG, Vasuta C, Tartas M, Khoutorsky A, Laplante I, Parsyan A, Nevarko T, Sonenberg N, Lacaille JC (2013) Selective regulation of GluA subunit synthesis and AMPA receptor-mediated synaptic function and plasticity by the translation repressor 4E-BP2 in hippocampal pyramidal cells. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 33:1872-1886.
- Royer S, Zemelman BV, Losonczy A, Kim J, Chance F, Magee JC, Buzsaki G (2012) Control of timing, rate and bursts of hippocampal place cells by dendritic and somatic inhibition. *Nature neuroscience* 15:769-775.
- Ruediger S, Vittori C, Bednarek E, Genoud C, Strata P, Sacchetti B, Caroni P (2011) Learning-related feedforward inhibitory connectivity growth required for memory precision. *Nature* 473:514-518.
- Rutherford LC, Nelson SB, Turrigiano GG (1998) BDNF has opposite effects on the quantal amplitude of pyramidal neuron and interneuron excitatory synapses. *Neuron* 21:521-530.
- Somogyi P, Klausberger T (2005) Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus. *The Journal of physiology* 562:9-26.
- Stoica L, Zhu PJ, Huang W, Zhou H, Kozma SC, Costa-Mattioli M (2011) Selective pharmacogenetic inhibition of mammalian target of Rapamycin complex I (mTORC1) blocks long-term synaptic plasticity and memory storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108:3791-3796.
- Tabuchi K, Blundell J, Etherton MR, Hammer RE, Liu X, Powell CM, Südhof TC (2007) A neuroligin-3 mutation implicated in autism increases inhibitory synaptic transmission in mice. *Science (New York, NY)* 318:71-76.
- Tully T, Bourtchouladze R, Scott R, Tallman J (2003) Targeting the CREB pathway for memory enhancers. *Nature Reviews Drug Discovery* 2:267-277.
- van Hooft JA, Giuffrida R, Blatow M, Monyer H (2000) Differential expression of group I metabotropic glutamate receptors in functionally distinct hippocampal interneurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 20:3544-3551.
- Vasuta CL, Elayoubi K, Huang J, Lacaille J.-C. (2012) Long-term plasticity in identified classes of somatostatin- and parvalbumin - expressing interneurons in the mouse hippocampus. *Neuroscience Abstract*.
- Wang L, Lawrence JC, Jr., Sturgill TW, Harris TE (2009) Mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) activity is associated with phosphorylation of raptor by mTOR. *The Journal of biological chemistry* 284:14693-14697.

Wu ZL, Thomas SA, Villacres EC, Xia Z, Simmons ML, Chavkin C, Palmiter RD, Storm DR (1995) Altered behavior and long-term potentiation in type I adenylyl cyclase mutant mice. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 92:220-224.

3.7 FIGURES

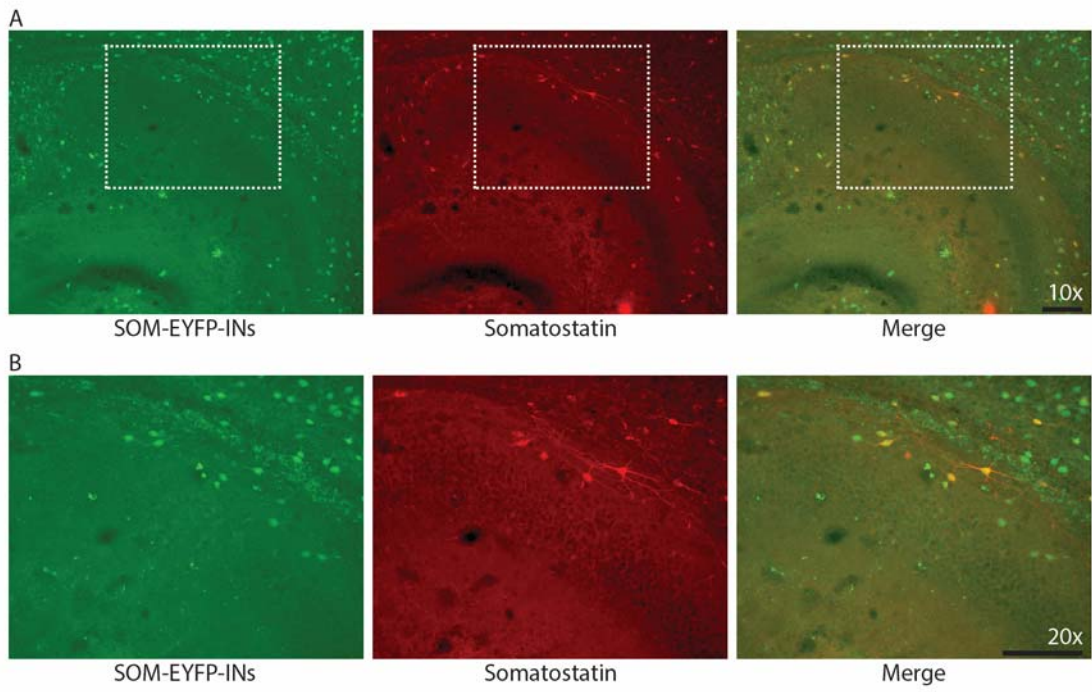


Figure 3.1

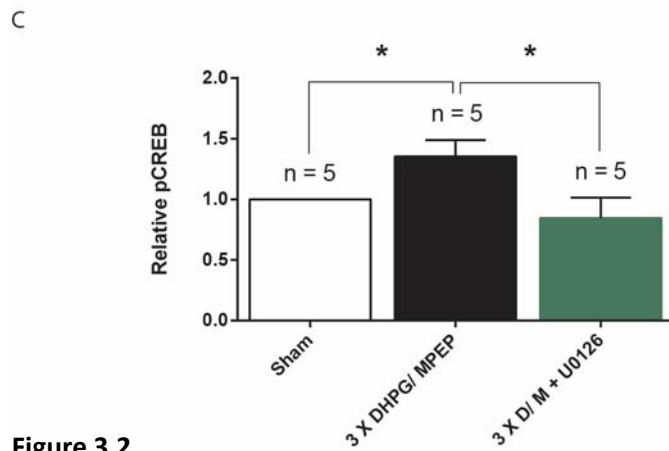
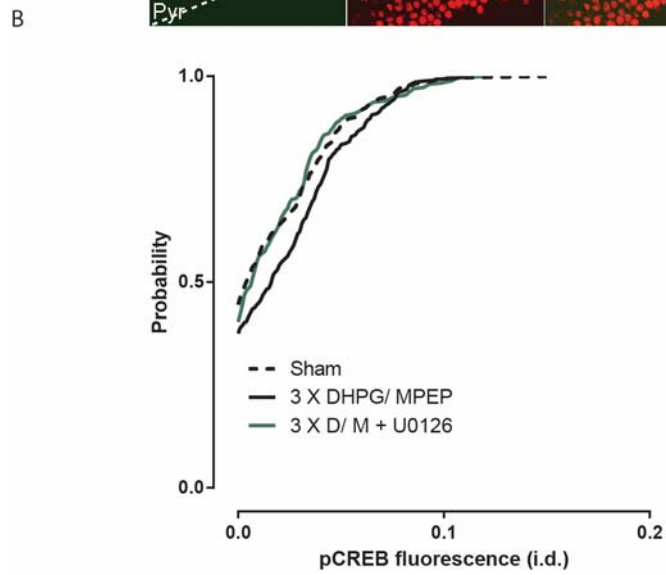
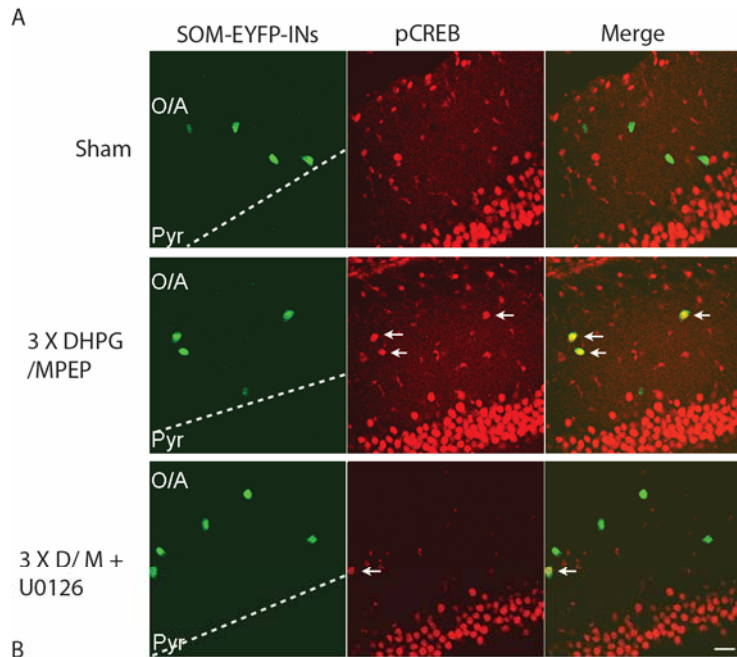
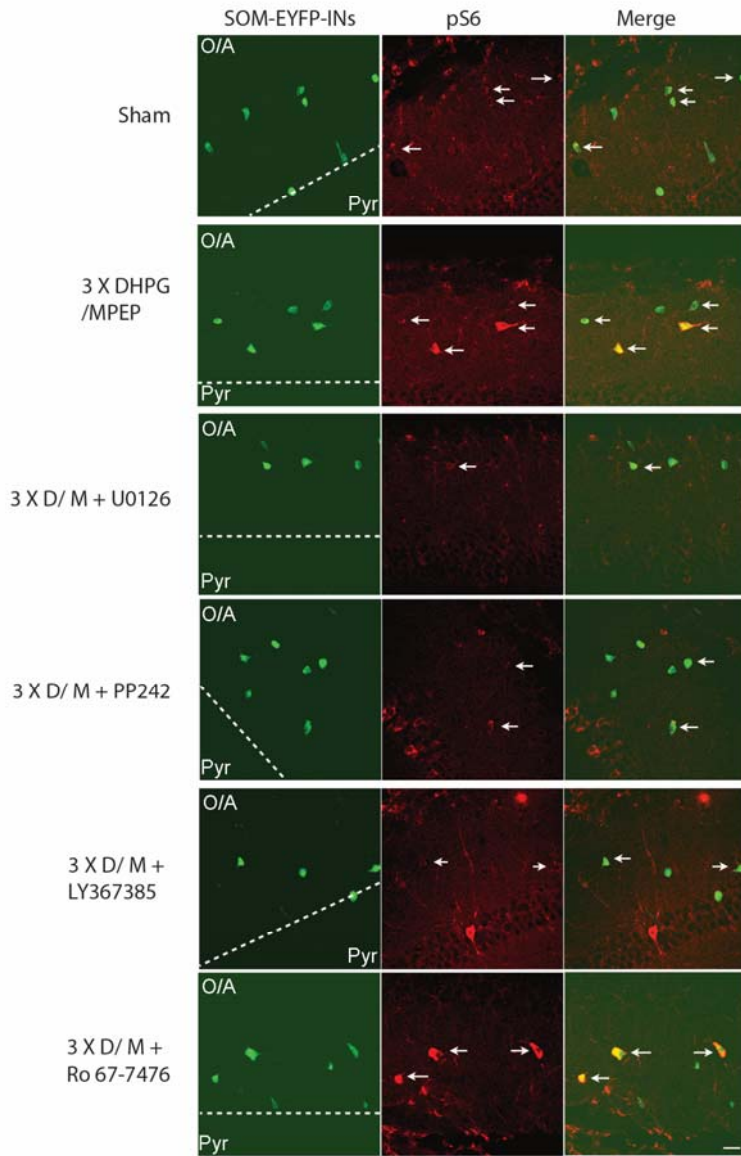
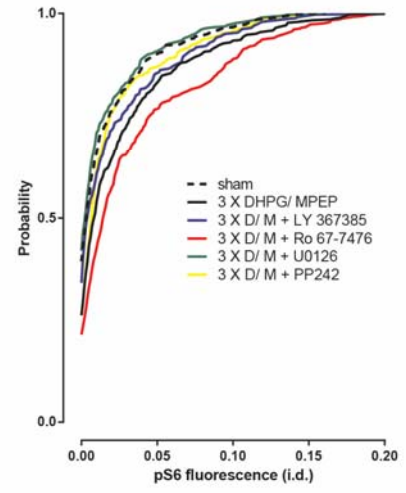


Figure 3.2

A



B



C

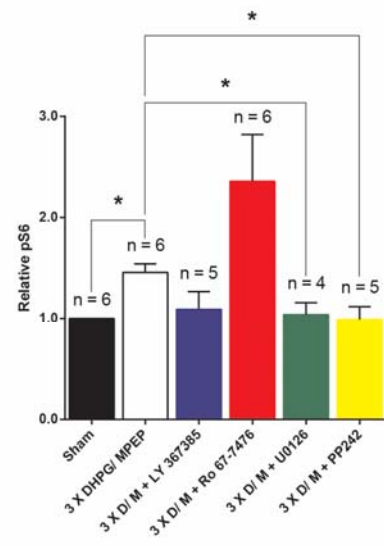


Figure 3.3

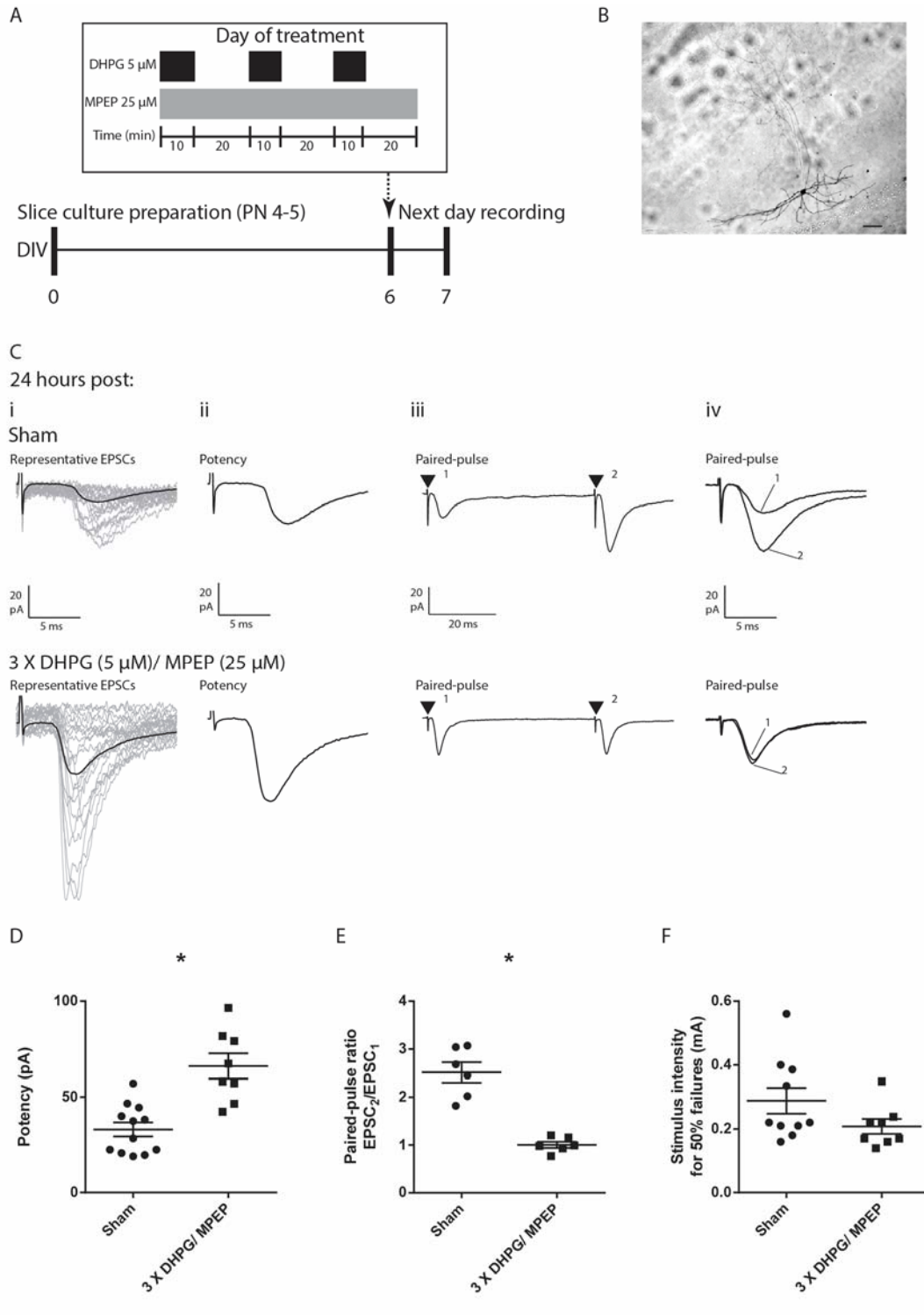
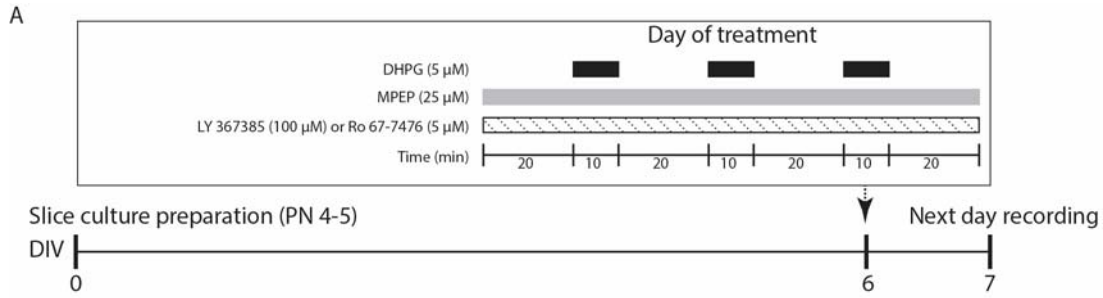


Figure 3.4



B
24 hours post:

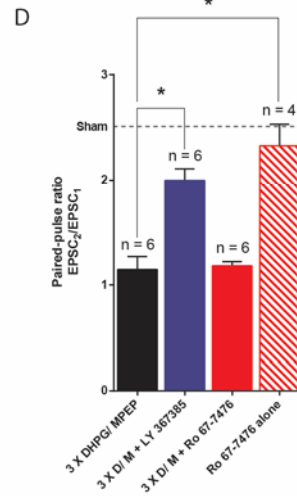
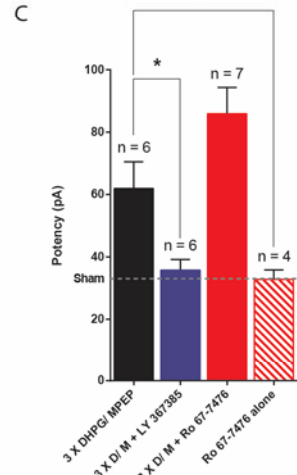
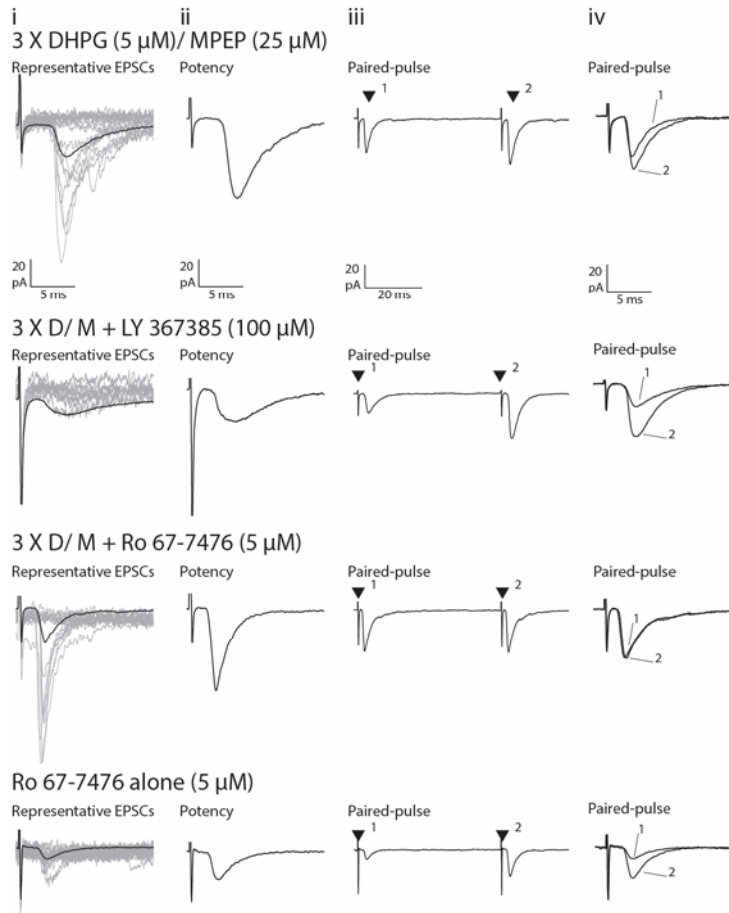
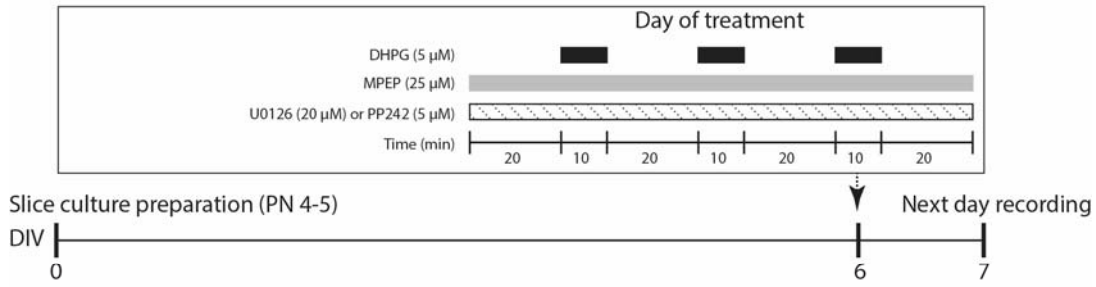


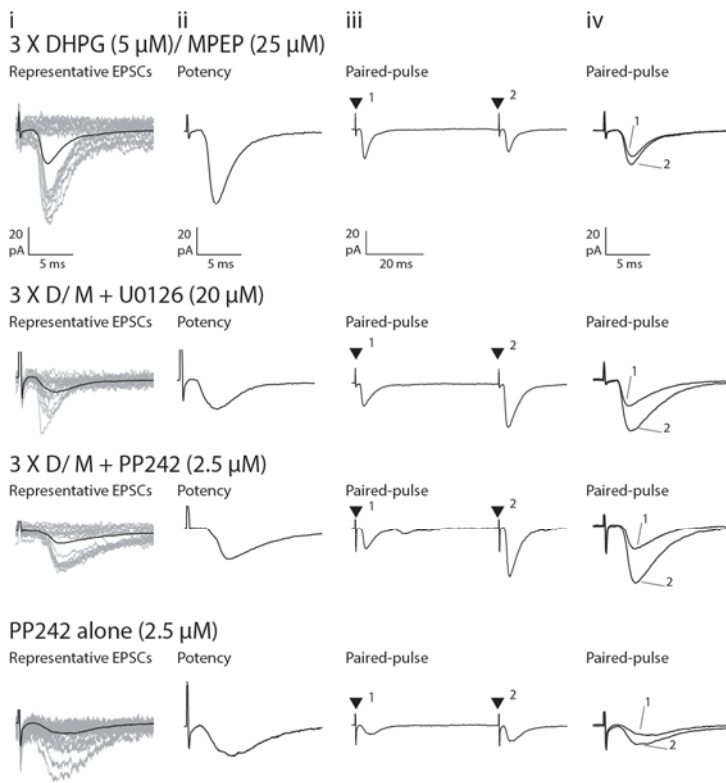
Figure 3.5

A

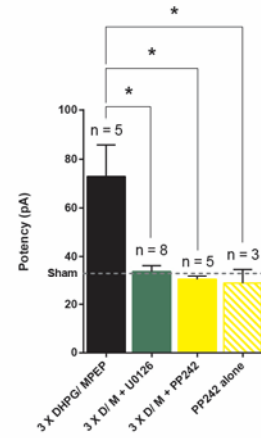


B

24 hours post:



C



D

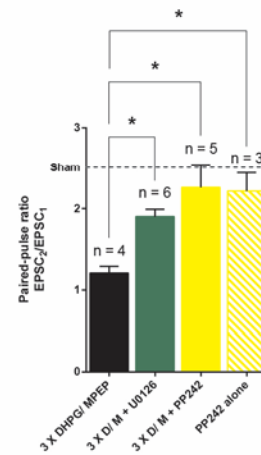
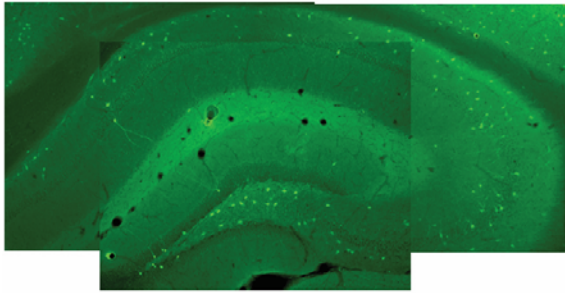


Figure 3.6

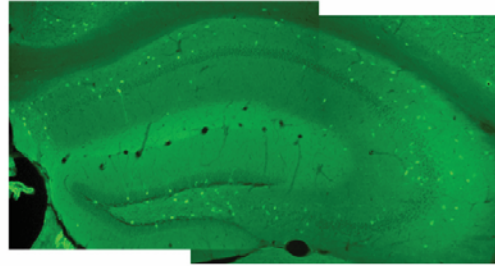
A

SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/wt}



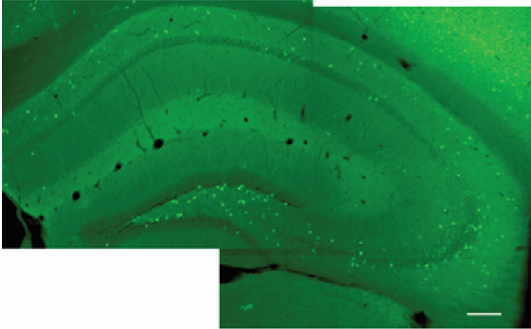
B

SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/wt}



C

SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl}



D

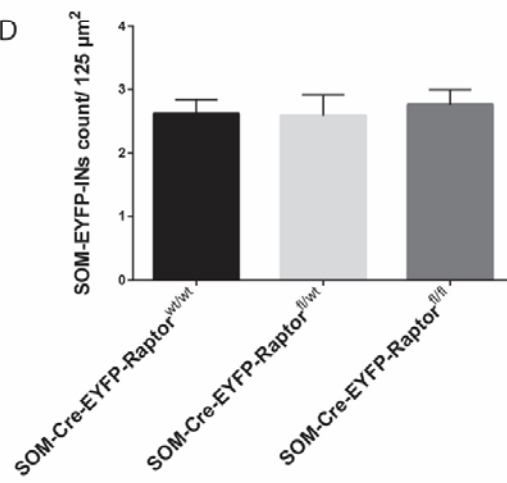


Figure 3.7

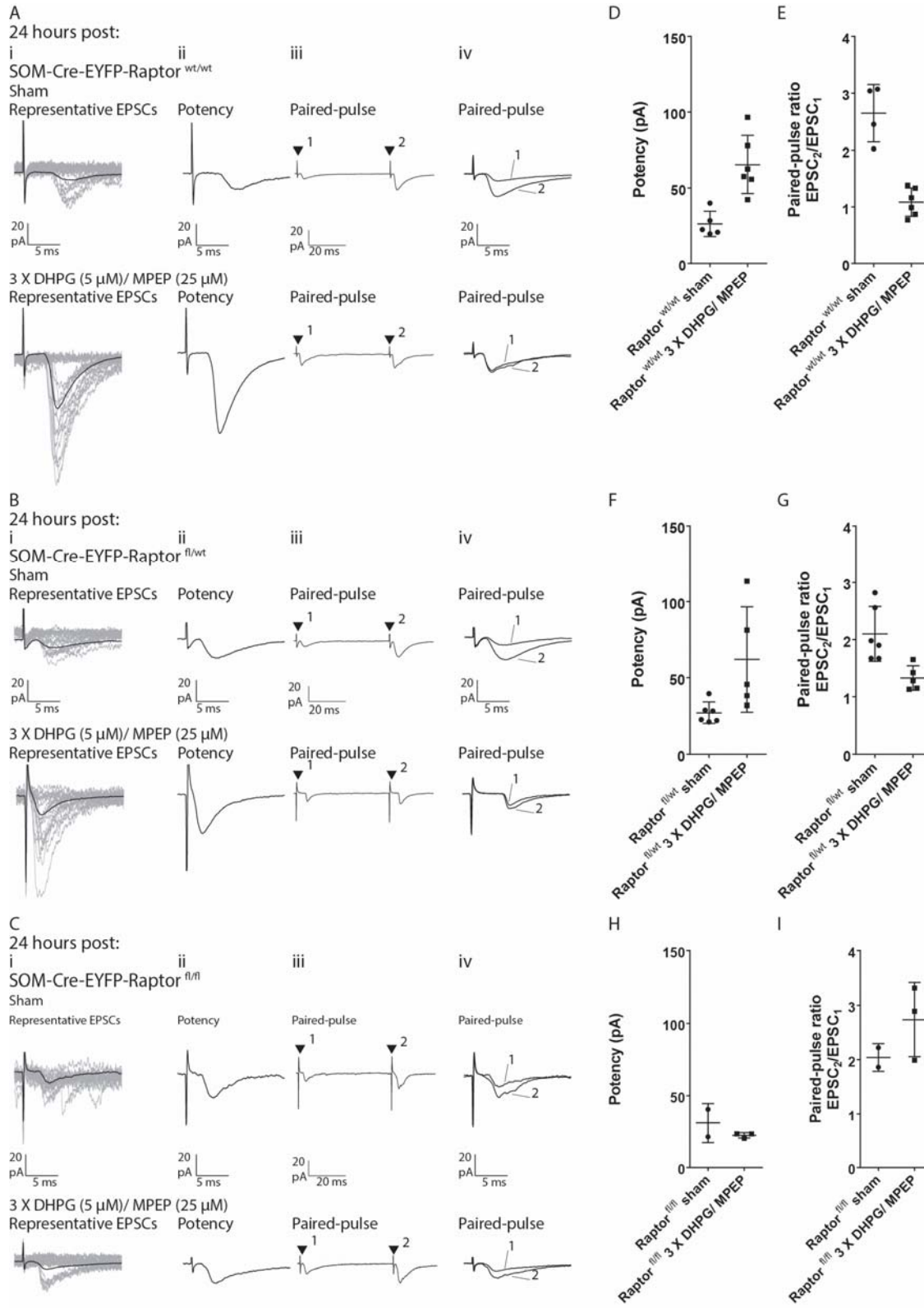


Figure 3.8

3.8 FIGURE LEGENDS

Figure 3.1 EYFP and somatostatin colocalize in SOM-INs

A. In organotypic slice cultures: representative image of EYFP-positive cells from CA1 (left), immunofluorescence labeling of somatostatin (middle) and merged picture (right) showing EYFP and somatostatin colocalization. Dotted inlays shown in higher magnification in **B.** Scale bars represent 125 μm . Note that EYFP and somatostatin colocalization is present in a majority of cells but appears lower due to a weak fluorescence signal of somatostatin labelling in organotypic slices.

Figure 3.2 Repeated mGluR1 stimulation increases pCREB in SOM-INs

A. Immunofluorescence labeling of phosphorylated CREB (middle) in SOM-INs in acute hippocampal slices (left panel). Arrows point at SOM-INs positive for nuclear pCREB. pCREB immunofluorescence is increased at 30 min after repeated mGluR1 stimulation (3 X DHPG/ MPEP) relative to sham treatment, which is prevented by the MEK-ERK inhibitor U0126 (20 μM). Dotted lines indicate boundaries of pyramidal/ oriens layers in the hippocampus. Scale bar represents 20 μm . **B.** Cumulative distribution plots showing increase in fluorescence after repeated mGluR1 stimulation relative to sham-treatment ($p < 0.05$ using Kolmogorov-Smirnov test). This increase is prevented by U0126. Fluorescence is expressed in integrated density (i.d.). **C.** Summary bar graph illustrating the increase in pCREB 30 min ensuing repeated mGluR1 stimulation relative to sham-treatment. The increase is blocked by U0126. Results are expressed as mean \pm SEM and are representative of 5 independent experiments (2 animals each). Three representative sections from each animal were quantified. * corresponds to $p < 0.05$ Student's t test (for the mean). 3 X DHPG/ MPEP abbreviated as 3 X D/ M.

Figure 3.3 Repeated mGluR1 stimulation increases ribosomal S6 phosphorylation in SOM-INs

A. Immunofluorescence labeling of phosphorylated S6 (pS6; serine 235/236, middle panel) in SOM-INs in acute hippocampal slices (left panel). Arrows show SOM-INs positive for pS6. pS6 immunolabeling is increased 30 min after repeated mGluR1 stimulation (3 X DHPG/MPEP) relative to sham-treatment. This increase is blocked in the presence of the mGluR1 α inhibitor LY 367385 (100 μM), the MEK-ERK inhibitor U0126 (20 μM) or the mTOR inhibitor PP242 (2.5 μM). The positive allosteric modulator of mGluR1 Ro 67-7476 (5 μM) further increased ribosomal S6 phosphorylation in SOM-INs relative to 3 X DHPG/MPEP-treatment. Dotted lines indicate boundaries of pyramidal/ oriens layers in the hippocampus. Scale bar

represents 20 μm . **B.** Cumulative distribution plots showing increase in fluorescence 30 min after repeated mGluR1 stimulation that is prevented by inhibitors (LY 367385, U0126 or PP242) but enhanced by Ro 67-7476 ($p < 0.05$ using Kolmogorov-Smirnov test). Fluorescence is expressed in integrated density (i.d.). **C.** Summary bar graph showing the increase in pS6 30 min after repeated mGluR1 stimulation relative to sham-treatment, which is prevented by U0126 or PP242. Results are expressed as mean \pm SEM and are representative of 6 independent experiments (2 animals each). Three representative sections from each animal were quantified. * corresponds to $p < 0.05$ using Student's t test (for the mean). 3 X DHPG/ MPEP abbreviated as 3 X D/ M.

Figure 3.4 Persistent long-term potentiation of synaptic currents in hippocampal SOM-INs after repeated mGluR1 stimulation

A. Schematic representation of the induction and recording protocol. Cultured hippocampal slices were treated with repeated (3 X) application of an mGluR1/5 agonist (DHPG, 5 μM , black bars) in the presence of an mGluR5 antagonist (MPEP, 25 μM , gray bar). After a 24 h wash-out period, whole cell recordings were obtained from visually identified CA1 SOM-INs in agonist- or sham-treated slices. **B.** Example of a recorded SOM-INs, as seen under light microscopy after biocytin staining. Scale bar represents 50 μm . **C.** Representative EPSCs evoked by minimal stimulation at 24 h after sham-treatment (top) or repeated mGluR1 stimulation (bottom), showing larger responses after repeated mGluR1 stimulation. i, Superimposition of 20 successive events (EPSCs + failures; gray) and average EPSC of 100 or more events (including failures; black). ii, Potency, average of all successful EPSCs. iii, Average of EPSC pairs (100 or more events) evoked by paired-pulse stimulation (50 ms interstimulus interval), showing loss of paired-pulse facilitation after repeated mGluR1 stimulation. Black triangles indicate time of stimulation. iv, Superimposed first and second average EPSCs. **D, E.** Summary scatter plots of effects on EPSC potency and paired-pulse ratio for all cells, showing potentiation of EPSC potency and reduced paired-pulse ratio 24 h after repeated mGluR1 stimulation, relative to sham-treated. **F.** Summary scatter plot of stimulus intensity required for EPSC failure rate of $\approx 50\%$ in both conditions. Values are expressed as mean \pm SEM and * corresponds to $p < 0.05$.

Figure 3.5 Persistent long-term potentiation of synaptic currents in hippocampal SOM-INs is dependent on mGluR1 α

A. Treatment protocol for experiments with mGluR1 antagonist LY 367385 (100 μM) or positive allosteric modulator Ro 67-7476 (5 μM). For concomitant application, slices were treated with either LY

367385 or Ro 67-7476 from 20 min before to 20 min after repeated mGluR1 stimulation (3 X DHPG/MPEP). For experiments with Ro 67-7476 treatment alone, DHPG/MPEP applications were omitted. Recordings were made after a 24 h wash-out period. **B.** Concomitant application of LY 367385 (3 X D/ M + LY367385) blocked the increase in EPSC amplitude and decrease in paired-pulse ratio induced by repeated mGluR1 stimulation. Concomitant application of Ro 67-7476 (3 X D/ M + Ro 67-7476) enhanced EPSC potency relative to repeated mGluR1 stimulation (3 X DHPG/MPEP). Ro 67-7476 alone was without effect on EPSCs. i, Superimposition of 20 successive events (EPSCs + failures; gray) and average EPSC of 100 or more events (including failures; black). ii, Potency, average of all successful EPSCs. iii, Average of EPSC pairs (100 or more events) evoked by paired-pulse stimulation (50 ms interstimulus interval). Black triangles indicate time of stimulation. iv, Superimposed first and second average EPSCs. **C, D.** Summary bar graphs of effects of mGluR1 antagonist LY 367385 and mGluR1 positive modulator Ro 67-7476 on changes in EPSC potency and paired-pulse ratio induced by repeated mGluR1 stimulation. Dotted line corresponds to sham-treatment values (data from figure 4). Values are expressed as mean \pm SEM and * corresponds to $p < 0.05$. Number of cells analyzed is indicated above bars. 3 X DHPG/ MPEP abbreviated as 3 X D/ M.

Figure 3.6 cL-LTP_{mGluR1} in SOM-INs is dependent on ERK and mTOR signaling

A. Treatment protocol for experiments with ERK or mTOR inhibitors (U0126, 20 μ M, and PP242, 2.5 μ M, respectively). For concomitant application, slices were treated with either U0126 or PP242 from 20 min before to 20 min after repeated mGluR1 stimulation (3 X DHPG/MPEP). For experiments with PP242 alone, DHPG/MPEP applications were omitted. Recordings were made after a 24 h wash-out period. **B.** Concomitant application of U0126 (3 X D/ M + U0126) or PP242 (3 X D/ M + PP242) blocked the increase in EPSC potency and decrease in paired-pulse ratio induced by repeated mGluR1 stimulation. PP242 alone was without effect on EPSCs. i, Superimposition of 20 successive events (EPSCs + failures; gray) and average EPSC of 100 or more events (including failures; black). ii, Potency, average of all successful EPSCs. iii, Average of EPSC pairs (100 or more events) evoked by paired-pulse stimulation (50 ms interstimulus interval). Black triangles indicate time of stimulation. iv, Superimposed first and second average EPSCs. **C, D.** Summary bar graphs of effects of ERK or mTOR inhibitors on changes in EPSC potency and paired-pulse ratio induced by repeated mGluR1 stimulation. Dotted line corresponds to sham-treatment values (data from figure 4). Values are expressed as mean \pm SEM and * corresponds to $p < 0.05$. Number of cells analyzed is indicated above bars. 3 X DHPG/ MPEP abbreviated as 3 X D/ M.

Figure 3.7 Intact cell counts after conditional knock-out of Raptor in SOM-INs

A-C. Representative images of hippocampal sections from SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/wt} (**A**), SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/wt} (**B**) and SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} (**C**) mice. **D.** Summary bar graph of SOM-INs cell counts showing no difference in cell number across all genotypes. Scale bar represents 100 μ m.

Figure 3.8 Impaired cL-LTP_{mGluR1} after conditional knock-out of Raptor in SOM-INs

A-C. Representative EPSCs evoked by minimal stimulation at 24 h after sham-treatment (top) or repeated (3 X) mGluR1 stimulation (bottom), showing larger responses after repeated mGluR1 stimulation in SOM-Cre-EYFP-Raptor wild-type and heterozygous mice but not in SOM-Cre-EYFP-Raptor homozygous knock-out mice. i, Superimposition of 20 successive events (EPSCs + failures; gray) and average EPSC of 100 or more events (including failures; black). ii, Potency, average of all successful EPSCs. iii, Average of EPSC pairs (100 or more events) evoked by paired-pulse stimulation (50 ms interstimulus interval). Black triangles indicate time of stimulation. iv, Superimposed first and second average EPSCs. **D-I.** Summary scatter plots of effects of repeated mGluR1 stimulation on EPSC potency and paired-pulse ratio for all cells, showing potentiation of EPSC potency and reduction of paired-pulse ratio after repeated mGluR1 stimulation, relative to sham-treated, in wild type and heterozygous but not in homozygous SOM-Cre-Raptor knock-out mice.

CHAPITRE 4

DISCUSSION GÉNÉRALE

4.1 RAPPEL DES PRINCIPAUX RÉSULTATS

Les objectifs du présent mémoire sont les suivants :

- 1) démontrer la présence de la cL-LTP_{mGluR1} aux synapses excitatrices des SOM-INS de la région CA1 ;
- 2) identifier les mécanismes moléculaires et cellulaires d'induction et d'expression de la cL-LTP_{mGluR1} dans les SOM-INS.

La poursuite de ces objectifs vise à mieux comprendre les mécanismes de la plasticité synaptique persistante (cL-LTP_{mGluR1}) dans les SOM-INS pour en étudier le rôle dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe.

Relativement à ces objectifs, nos résultats indiquent :

- 1) d'une part, que l'activation pharmacologique des mGluR1 induit aux synapses excitatrices des SOM-INS une PLT persistante qui dure au moins 24 heures : la cL-LTP_{mGluR1}.
- 2) d'autre part, que la cL-LTP_{mGluR1} requiert pour son induction l'activation des voies de signalisation mGluR1-ERK-mTORC1 et qu'elle s'exprime par une diminution de la facilitation en réponse aux stimulations pairées (*paired-pulse ratio*) et une augmentation de l'amplitude des courants postsynaptiques excitateurs (CPSEs).

Ces résultats mettent en évidence la présence de la cL-LTP_{mGluR1} aux synapses excitatrices des SOM-INS et font la lumière sur les mécanismes qui la sous-tendent. La connaissance de ces mécanismes permettra de développer des stratégies pour bloquer la SOM-INS cL-LTP_{mGluR1} *in vivo* et donc d'en étudier le rôle dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe.

4.2 SPÉCIFICITÉ CELLULAIRE DE LA cL-LTP_{mGluR1}

Les formes de plasticité synaptique présentes aux synapses excitatrices des différents sous-types d'interneurones hippocampiques sont diversifiées et varient en fonction du sous-type cellulaire et de la source des afférences synaptiques examinées (Pelletier and Lacaille, 2008).

Seuls les SOM-INS de l'hippocampe expriment les mGluR1 en abondance (Freund and Buzsaki, 1996; Ferraguti et al., 2004) et exhibent une PLT hébbienne mGluR1-dépendante (Vasuta et al., 2012). La PLT hébbienne mGluR1-dépendante dure 30 minutes et est induite par la stimulation présynaptique en bouffée à haute fréquence couplée à la dépolarisation postsynaptique des interneurons (Perez et al., 2001). Ses mécanismes sont analogues en partie à ceux de la cL-LTP_{mGluR1} et elle est occluse par cette dernière (Ran et al., 2009). Ces observations suggèrent que la cL-LTP_{mGluR1} est probablement spécifique aux SOM-INS. La spécificité de la cL-LTP_{mGluR1} aux SOM-INS pourrait donc doter ces derniers d'un rôle prédominant dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe. Toutefois, avant de se prononcer définitivement sur la spécificité de la cL-LTP_{mGluR1} aux SOM-INS, il faudrait reproduire les expériences décrites dans le présent mémoire sur les autres types d'interneurones de l'hippocampe.

Les SOM-INS du CA1 reçoivent deux types d'afférences excitatrices: (1) provenant des collatérales de Schaffer du CA3 (produisant une inhibition proactive) et (2) des collatérales récurrentes des cellules pyramidales du CA1 (provoquant une inhibition rétroactive). Les synapses rétroactives, établies par les collatérales récurrentes sur les SOM-INS, sont les seules à exhiber la plasticité hébbienne mGluR1-dépendante et la cL-LTP_{mGluR1} dans les OA-INS (Lapointe et al., 2004; Ran et al., 2009; Croce et al., 2010). Ainsi, en plus d'être spécifique à un sous-type cellulaire, il est plausible que la cL-LTP_{mGluR1} soit restreinte aux synapses rétroactives des SOM-INS. Cette afférence-spécificité de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS permettrait une double discrimination (proactive et rétroactive) des fonctions d'*input-output* de ces interneurons et une régulation sélective à long terme du réseau inhibiteur rétroactif (Croce et al., 2010).

Notre protocole d'induction de la cL-LTP_{mGluR1} consiste en une exposition répétée des tranches organotypiques d'hippocampe à un agoniste des récepteurs mGluR1/5 (DHPG) en présence d'un antagoniste des récepteurs mGluR5 (MPEP). Tous les types cellulaires de l'hippocampe entrent donc en contact avec le DHPG et le MPEP. Avant de nous prononcer définitivement sur la spécificité sous-type cellulaire de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS ou sur la contribution de celle-ci à l'apprentissage et à la mémoire, il nous faut d'abord vérifier que le DHPG est sans effet sur les interneurons non-somatostatinerigiques et sur les cellules pyramidales de l'hippocampe. Les interneurons non-somatostatinerigiques n'expriment pas les récepteurs mGluR1 (Freund and Buzsaki, 1996; Ferraguti et al., 2004) et n'exhibent pas de plasticité hébbienne mGluR1-dépendante (Vasuta et al., 2012). Le

DHPG n'agit donc vraisemblablement pas sur la physiologie synaptique de ce groupe d'interneurones. En revanche, les cellules pyramidales expriment des récepteurs mGluR1 périssynaptiquement. De plus, il a été démontré que le DHPG induit une forme de DLT dans les cellules pyramidales du CA1 (Palmer et al., 1997). Toutefois, l'application d'un agoniste spécifique des mGluR5 suffit elle aussi à induire cette même DLT dans les cellules pyramidales. On ignore toujours si la stimulation spécifique des mGluR1, des mGluR5, ou des deux, est nécessaire pour l'induction de cette DLT. Vu la stimulation nécessaire à la fois des mGluR1 et des mGluR5 par le DHPG rapportée par Palmer (Palmer et al., 1997) dans l'induction de la DLT des cellules pyramidales et la présence d'un antagoniste des mGluR5 dans notre protocole d'induction de la cL-LTP_{mGluR1}, il est probable que celui-ci n'affecte pas la transmission synaptique basale des cellules pyramidales.

4.3 cL-LTP_{mGluR1} : UNE FORME PERSISTANTE DE POTENTIALISATION À LONG TERME DANS LES INTERNEURONES SOMATOSTATINERGIQUES

4.3.1 Persistance

La majorité des formes de plasticité synaptique observées aux synapses excitatrices établies sur les interneurones hippocampiques dure de 30 à 60 minutes (Perez et al., 2001; Lamsa et al., 2007b; Le Vasseur et al., 2008). La cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS présente la particularité de subsister au moins 24 heures post-induction. La persistance de cette cL-LTP_{mGluR1} donne à penser qu'elle contribue à l'apprentissage et à la mémoire, deux procédés qui se comptent en jours et non en minutes. Enfin, notons qu'au besoin nous pourrions étudier la longévité de la cL-LTP_{mGluR1} sur une période encore plus longue (> 24 heures) en modifiant notre protocole expérimental et en introduisant un délai post-induction pour les enregistrements de *patch* en mode cellule-entière.

4.3.2 Mécanismes d'induction

La cL-LTP_{mGluR1} est induite aux synapses excitatrices des interneurones somatostatinerGIques du CA1 par l'application répétée d'un agoniste des mGluR1/5 en présence d'un antagoniste des mGluR5. L'application de la tétrodontoxine, qui a pour effet de bloquer les potentiels d'action, empêche l'induction de la cL-LTP_{mGluR1}. Il semble donc que la cL-LTP_{mGluR1} soit hébbienne : elle requiert en effet

pour son induction la coïncidence de l'activation des mGluR1 par le DHPG et de potentiels d'action postsynaptiques (Ran et al., 2009; Ran et al., 2012).

Nous avons démontré que l'inhibition des mGluR1 par LY367385 ou de ERK par U0126 prévient l'induction de la cL-LTP_{mGluR1} dans les SOM-INS, comme c'est le cas dans les OA-INS (Ran et al., 2009). La stimulation des récepteurs mGluR1 entraîne l'activation d'ERK *via* Src dans les interneurons de l'oriens-alveus. Conjointement, les mGluR1 et ERK provoquent un influx de Ca²⁺ postsynaptique *via* les canaux cationiques non sélectifs de la famille TRP et la libération des réserves intracellulaires de Ca²⁺. L'inhibition des canaux TRP ou de Src/ERK bloque la PLT hébbienne mGluR1-dépendante (Topolnik et al., 2006) dont les mécanismes d'induction sont en partie similaires à ceux de la cL-LTP_{mGluR1} (Ran et al., 2009). La signalisation calcique mGluR1-ERK-dépendante est donc sûrement importante pour l'induction de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS. Ajoutons aussi que l'activation des mGluR1 nécessite à la fois une stimulation présynaptique en bouffée et une forte dépolarisation postsynaptique (Topolnik et al., 2005). Ainsi, le profil d'activation des mGluR1 permet à l'induction de la cL-LTP_{mGluR1} de répondre aux modalités d'induction hébbienne et ce, malgré l'indépendance de celle-ci à l'égard des récepteurs NMDA (Ran et al., 2012). Enfin, ERK permet également de faire le lien entre activité synaptique, transcription, traduction et plasticité synaptique. La stimulation des mGluR1 déclenche l'activation d'ERK, qui en retour active la transcription CREB-dépendante de gènes encore non-identifiés dans les interneurons (Ran et al., 2012) et la traduction mTORC1-dépendante.

L'inhibition de mTOR par PP242 bloque la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS. De même, il a été démontré précédemment que la rapamycine, un inhibiteur spécifique de mTORC1, contrecarre la cL-LTP_{mGluR1} des OA-INS (Ran et al., 2009). Pour la suite, nous nous sommes donc penchés plus précisément sur le rôle de mTORC1 dans la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS. Nous avons démontré que la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS est bloquée chez les souris qui possèdent un *knock-out* fonctionnel de mTORC1 spécifiquement dans les SOM-INS. Comme nous nous y attendions, mTORC2, dont la fonction kinase agit sur des substrats différents de la fonction kinase mTORC1, n'a pas pu à lui seul soutenir l'induction de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS. Dans les OA-INS, mTORC1 phosphoryle les 4E-BPs, ce qui conduit à la traduction accrue de GluA1 et GluA2, une condition essentielle à l'expression de la cL-LTP_{mGluR1} des OA-INS (Ran et al., 2013) et certainement aussi à celle de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS. Enfin, nous avons démontré que, dans les SOM-INS, l'activation de mTORC1 augmente la phosphorylation de S6 qui est un des substrats de la S6 kinase. Celle-ci, une protéine impliquée dans le contrôle de la traduction (Dufner and Thomas, 1999b), est donc activée dans les SOM-INS durant

l'induction de la cL-LTP_{mGluR1}. Lorsqu'il y a induction de plasticité synaptique, la S6 kinase est activée localement aux synapses concernées, ce qui suggère qu'elle y joue un rôle dans l'induction et l'expression de la plasticité (Graber et al., 2013). Bien que la S6 kinase soit activée dans les SOM-INS durant la cL-LTP_{mGluR1} et qu'elle favorise la traduction de nombreux ARNm associés à la plasticité synaptique (Im et al., 2009), son rôle spécifique dans la cL-LTP_{mGluR1} reste à élucider.

En conclusion, les voies de signalisation mGluR1-ERK-mTORC1 sous-tendent l'induction de la cL-LTP_{mGluR1} dans les SOM-INS (Fig. 4.1) et l'activation de la synthèse protéique requise pour son expression persistante.

4.3.3 Mécanismes d'expression

La cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS consiste en une augmentation durable de l'efficacité de la transmission synaptique qui s'exprime, présynaptiquement, par une diminution de la facilitation de l'amplitude des réponses synaptiques suite à la stimulation paillée et, postsynaptiquement, par une augmentation de l'amplitude des CPSEs.

Présynaptiquement, ces modifications synaptiques s'expliquent par une augmentation de la quantité de neurotransmetteurs libérés (Ran et al., 2012). Cette augmentation peut être due, soit au recrutement de nouveaux contacts synaptiques (Bozdagi et al., 2000), soit à une probabilité de libération de neurotransmetteurs accrue (Bozdagi et al., 2000).

Postsynaptiquement, l'insertion et la phosphorylation de récepteurs AMPA expliquent l'augmentation de l'amplitude des CPSEs dans la cL-LTP_{mGluR1} (Ran et al., 2012). Pourtant, dans les cellules pyramidales, l'insertion et la phosphorylation de AMPAR sous-tendent l'expression de la E-LTP et non pas de la L-LTP (Benke et al., 1998). De plus, la CaMKII, qui n'est pas un élément constitutif des interneurons (Sik et al., 1998), est responsable de la phosphorylation et de la modulation de la conductance unitaire des AMPAR dans les cellules pyramidales (Poncer et al., 2002). Les SOM-INS dépendent donc forcément de mécanismes différents de ceux des cellules pyramidales pour l'expression de leur plasticité synaptique persistante. Finalement, une augmentation de la quantité de neurotransmetteurs contenus dans chaque vésicule synaptique pourrait aussi causer un accroissement de la réponse postsynaptique en réaction à la libération d'une seule vésicule, ce qui saurait également expliquer l'augmentation de l'amplitude des CPSEs.

La cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS sollicite donc une multitude de mécanismes pré- et postsynaptiques d'expression (Fig. 4.2).

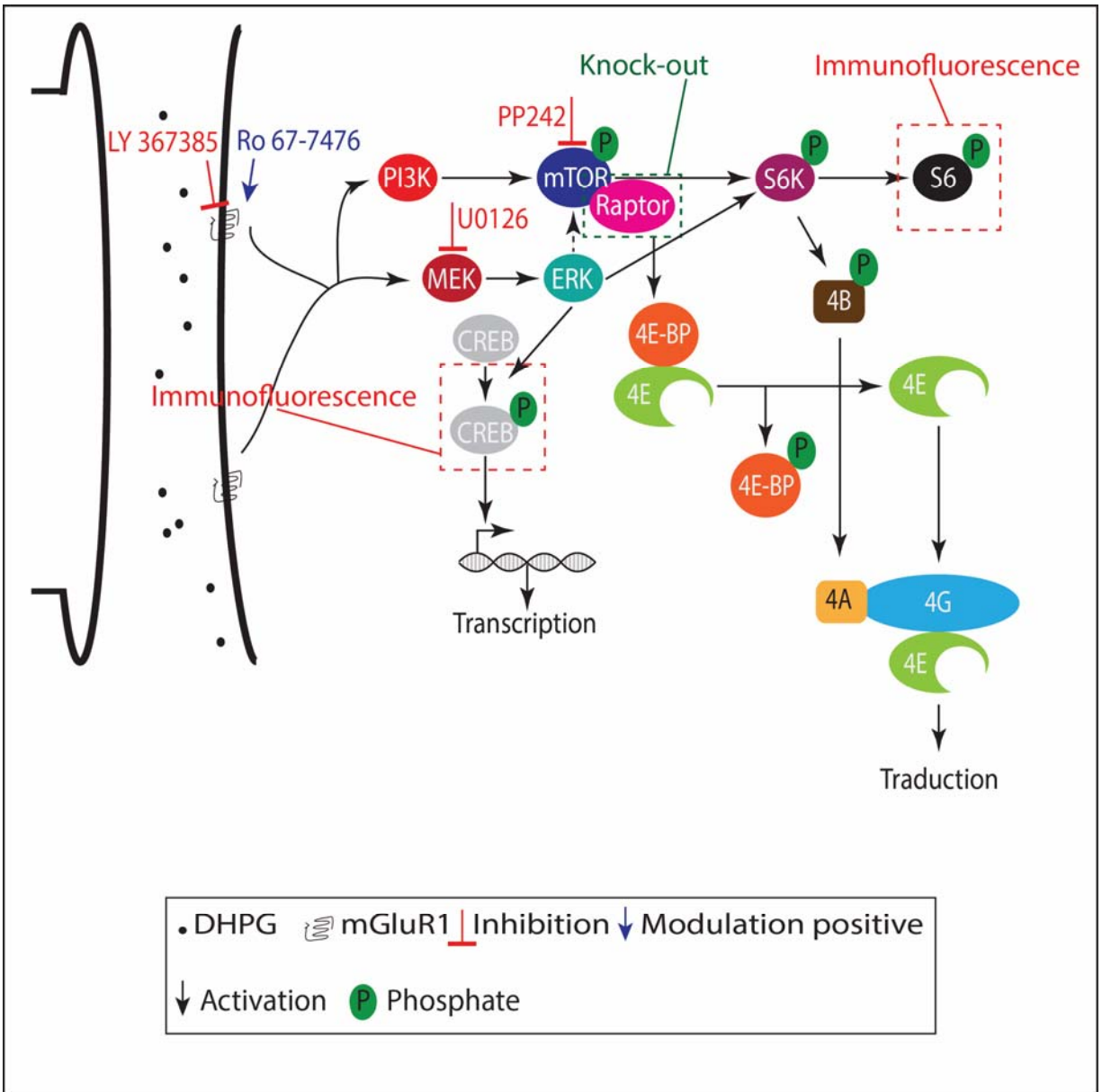


Figure 4.1. Mécanismes d'induction de la cL-LTP_{mGluR1} aux synapses excitatrices des SOM-INS.
 Résumé des stratégies expérimentales dans le présent mémoire et des principales voies de signalisation impliquées dans l'induction de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS. Les sites d'action des différents inhibiteurs pharmacologiques sont indiqués en rouge ou en bleu au-dessus des protéines concernées. Les encadrés pointillés rouges indiquent les protéines ciblées par nos marquages d'immunofluorescence. L'encadré pointillé vert indique la protéine Raptor qui est supprimée dans les nos souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl}.

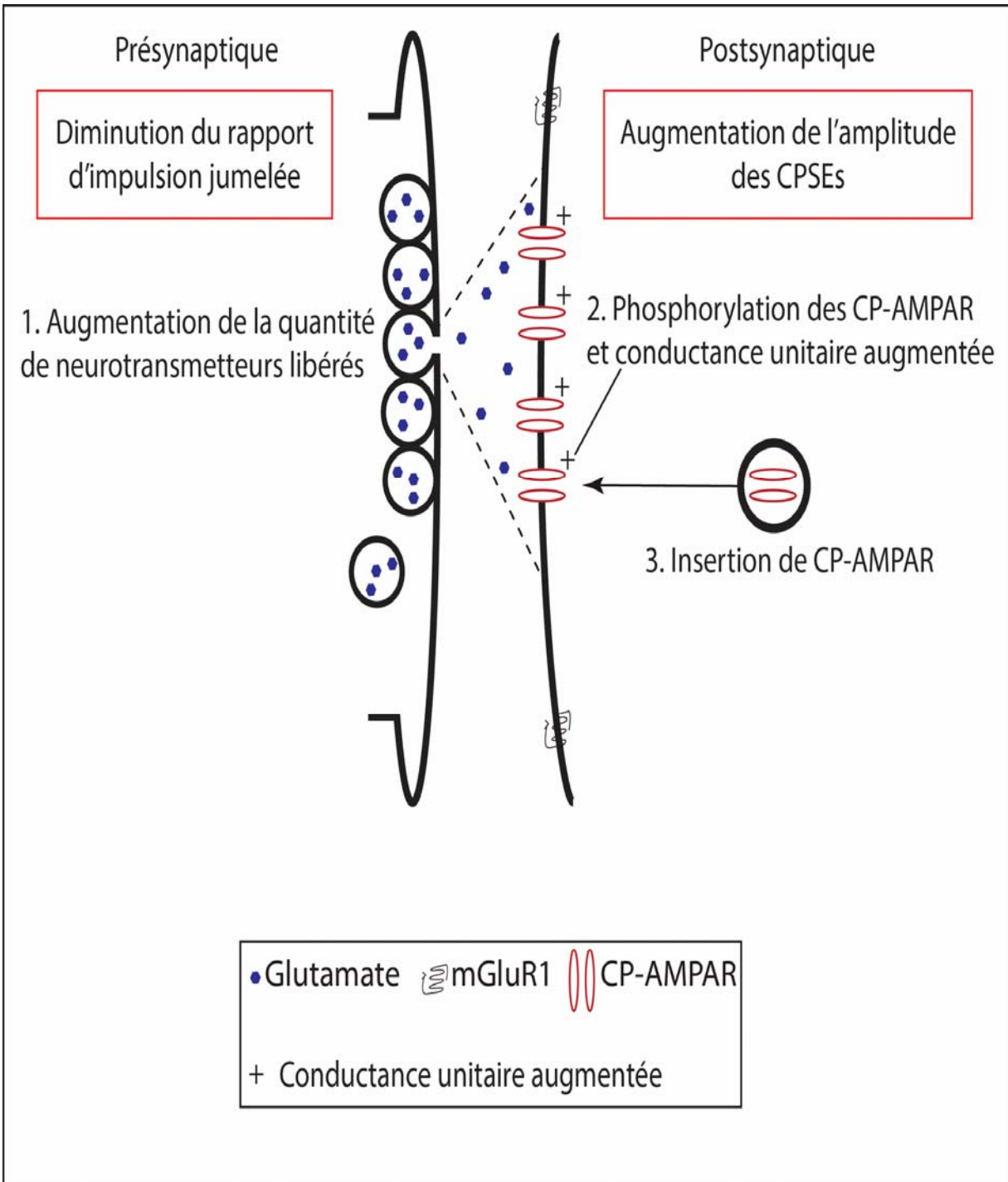


Figure 4.2. Mécanismes d'expression de la cL-LTP_{mGluR1} aux synapses excitatrices des SOM-INs. 1,2 et 3 ont été identifiés par l'analyse quantique de la transmission synaptique durant la cL-LTP_{mGluR1} des OA-INs (Ran et al., 2012). Par extension, la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INs devrait reposer sur des mécanismes d'expression similaires.

4.4 PERSPECTIVES FUTURES

4.4.1 Rôle de la cL-LTP_{mGluR1} dans le réseau hippocampique

Les cellules de Martinotti du néocortex, qui expriment le peptide somatostatine (Kawaguchi and Kubota, 1996), et les SOM-INS du cortex visuel causent localement l'inhibition disynaptique qui existe entre les cellules pyramidales (Silberberg and Markram, 2007; Pfeffer et al., 2013). Par analogie, on peut donc penser que les SOM-INS de l'hippocampe inhibent similairement les cellules pyramidales du CA1 (Maccaferri, 2005). La PLT hébbienne mGluR1-dépendante des interneurons de l'oriens augmente l'amplitude des IPSCs des cellules pyramidales du CA1 (Lapointe et al., 2004). La PLT hébbienne mGluR1-dépendante est spécifique aux SOM-INS (Vasuta et al., 2012) et est exprimée aux mêmes synapses que la cL-LTP_{mGluR1} (Ran et al., 2009). Par conséquent, il semble que la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS augmenterait elle aussi l'amplitude des IPSCs des cellules pyramidales mais de façon durable.

On peut se demander quelles sont les conséquences de l'inhibition accrue des cellules pyramidales sur la plasticité du réseau hippocampique qui sous-tend l'apprentissage et la mémoire. Il a été démontré que l'activité inhibitrice des interneurons positif à la somatostatine de type O-LM facilite l'induction de la PLT aux synapses des collatérales de Schaffer sur les cellules pyramidales du CA1 et prévient l'induction de la PLT aux synapses de la voie temporo-ammoniques sur les cellules pyramidales du CA1 (Leao et al., 2012). L'activité des cellules O-LM augmenterait l'ampleur de la PLT des cellules pyramidales, nécessaire pour l'apprentissage et la mémoire (Martin et al., 2000), en désinhibant les dendrites proximales de celles-ci *via* l'inhibition d'une population d'interneurons intermédiaires (Nakauchi et al., 2007; Leao et al., 2012). Par extension, l'activité inhibitrice des SOM-INS, dont font partie les O-LM, sur les cellules pyramidales faciliterait l'induction et augmenterait l'ampleur de la PLT aux synapses formées par les collatérales de Schaffer sur les cellules pyramidales. Ainsi, la transmission intrahippocampique, qui encode le contexte dans une tâche de conditionnement de la peur au contexte, serait facilitée par les SOM-INS et la transmission extrahippocampique, qui encode le stimulus aversif, serait réprimée. Cette dissociation contexte/stimulus aversif durant l'acquisition est nécessaire à l'apprentissage des tâches de conditionnement de la peur au contexte (Lovett-Barron et al., 2014). En effet, sans l'activité inhibitrice des SOM-INS exercée sur la transmission extrahippocampique, cette dernière interfère avec l'encodage du

contexte et bloque l'apprentissage. La cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INs pourrait réguler le phénomène d'inhibition de la transmission extrahippocampique et amplifier la potentialisation aux synapses des collatérales de Schaffer sur les cellules pyramidales et jouerait par conséquent un rôle important dans l'apprentissage et la mémoire (Fig. 4.3, page 79).

Pour tester cette hypothèse, nous pourrions vérifier si l'ampleur de la plasticité aux synapses formées par les collatérales de Schaffer sur les cellules pyramidales du CA1 induite par des trains de stimulations de haute fréquence se trouve modifiée par l'application de notre protocole d'induction de la cL-LTP_{mGluR1}. Des données non-publiées obtenues dans notre laboratoire montrent que la PLT hébbienne mGluR1-dépendante des SOM-INs augmente l'envergure de la PLT dans les cellules pyramidales du CA1 (C. Vasuta et J.-C. Lacaille, communication personnelle). Une série d'expériences similaires mais effectuées 24 heures post-application de DHPG permettrait d'évaluer l'effet de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INs sur la plasticité des cellules pyramidales.

4.4.2 Rôle de la cL-LTP_{mGluR1} dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe

L'activation des SOM-INs durant le conditionnement de peur au contexte est indispensable à l'apprentissage de l'association contexte/stimulus aversif (Lovett-Barron et al., 2014). Cependant, les mécanismes synaptiques sous-tendant cet apprentissage demeurent toujours inconnus. De plus, la plasticité structurale des synapses formées par les fibres moussues sur les interneurons du CA3 est requise pour la précision de l'apprentissage et de la mémoire lors de tâches de navigation spatiale et de conditionnement de peur au contexte (Ruediger et al., 2011). La plasticité structurale est accompagnée de plasticité synaptique, ce qui laisse envisager un rôle pour la plasticité synaptique des interneurons dans l'apprentissage et la mémoire. Enfin, le *knock-out* des mGluR1, fortement exprimés dans les SOM-INs (Freund and Buzsaki, 1996; Ferraguti et al., 2004), cause des déficits d'apprentissage associatif chez la souris (Aiba et al., 1994). Ces observations suggèrent que la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INs, une forme de plasticité synaptique persistante et mGluR1-dépendante, pourrait jouer un rôle primordial dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe.

Nous avons démontré la présence de la cL-LTP_{mGluR1} aux synapses excitatrices des SOM-INs et identifié ses mécanismes d'induction et d'expression. Nous sommes donc maintenant en mesure de développer des stratégies pour bloquer la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INs *in vivo*, grâce à des souris transgéniques SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl}, pour étudier son rôle dans l'apprentissage et la mémoire. Rappelons ici que les souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} ont un *knock-out* fonctionnel de mTORC1

spécifiquement dans les SOM-INs (des données préliminaires obtenues chez les souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} montrent que notre protocole d'induction de la cL-LTP_{mGluR1} ne réussit plus à augmenter la phosphorylation de S6 dans les SOM-INs, ce qui indique qu'effectivement le *knock-out* de Raptor bloque la fonction mTORC1 dans ces cellules) et sont incapables d'y exprimer la cL-LTP_{mGluR1}.

Afin d'étudier le rôle de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INs dans l'apprentissage et la mémoire, nous pourrions évaluer la performance de souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/wt}, capables d'exprimer la cL-LTP_{mGluR1} dans leurs SOM-INs, et de souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl}, qui en sont incapables, à des tests de conditionnement de peur au contexte, une tâche dépendant de l'hippocampe. Les souris seraient exposées à un contexte multisensoriel, le stimulus neutre, et recevraient ensuite 5 chocs électriques, le stimulus aversif. Les souris seraient ré-exposées seulement au contexte 24 heures plus tard. Si les souris démontrent la réponse de peur (*freezing* response) à la suite de la réexposition au contexte multisensoriel, elles auraient alors appris et retenu l'association stimulus neutre/ stimulus aversif.

Des données préliminaires, obtenues dans notre laboratoire, indiquent que les souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl}, incapables d'exhiber de la cL-LTP_{mGluR1} dans les SOM-INs, présentent un léger, mais significatif, défaut de mémoire 24 heures post-acquisition de la tâche, par comparaison avec les souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/wt}. Vu la robustesse du protocole d'acquisition (5 chocs), le réseau neuronal est peu sollicité pour accomplir l'association stimulus neutre/ stimulus aversif. Ceci pourrait expliquer pourquoi le déficit de mémoire des souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl} est seulement modéré. Un protocole d'acquisition plus atténué (1 choc) ou encore une tâche de navigation spatiale plus complexe pourraient faire apparaître des différences d'apprentissage et de mémoire plus marquées entre souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/wt} et SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl}, étant donné une plus grande implication du réseau neuronal.

Ces expériences permettraient de déterminer le rôle de la cL-LTP_{mGluR1}, une forme de plasticité synaptique du réseau inhibiteur spécifique aux SOM-INs, dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe.

Il faut toutefois noter que les souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{wt/wt} et ^{fl/fl} dépendent du système Cre-lox et possèdent un *knock-out* fonctionnel de mTORC1 non seulement dans les SOM-INs hippocampiques mais aussi dans toutes les cellules de l'organisme exprimant la somatostatine. De nombreux neurones corticaux expriment aussi la somatostatine (Schmechel et al., 1984; Somogyi et al., 1984) et ont donc

eux aussi une fonction mTORC1 potentiellement réduite chez les souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/fl}. Vu l'importance de mTORC1 pour la traduction et le contrôle de nombreux processus cellulaires (Graber et al., 2013), sa suppression dans des aires cérébrales extrahippocampiques nous empêche de nous prononcer définitivement sur le rôle de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe sans tout d'abord aborder ce problème.

Une solution élégante consisterait à injecter bilatéralement dans la région CA1 de l'hippocampe un rétrovirus capable de supprimer l'expression de la fonction mTORC1 uniquement dans les SOM-INS du CA1. Une répétition des expériences de conditionnement de peur au contexte décrites plus haut éluciderait de façon définitive le rôle de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS dans l'apprentissage et la mémoire dépendants de l'hippocampe. Par contre, une difficulté potentielle serait que le promoteur cellule-spécifique de la somatostatine est trop long pour être porté par un vecteur viral.

Une solution de rechange pour la suppression de la fonction mTORC1 uniquement dans les SOM-INS du CA1, consisterait à utiliser une approche pharmacogénétique s'appuyant sur l'effet combiné d'une manipulation génétique et d'un inhibiteur pharmacologique (Stoica et al., 2011). Cette approche est fondée sur la susceptibilité différente d'une cellule à un inhibiteur en fonction de son contenu génétique (hétérozygote ou homozygote). Les souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/wt} exhibent une cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS normale (Fig. 3.8), mais elles n'ont qu'une seule copie de Raptor dans les cellules exprimant la somatostatine. Une dose plus faible d'un inhibiteur de mTOR (PP242 ou rapamycine) devrait donc suffire à bloquer la fonction mTORC1 dans les SOM-INS par comparaison aux autres types cellulaires chez les souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/wt}. L'injection locale, dans la région CA1 de souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/wt}, de P242 ou de rapamycine inhiberait la fonction mTORC1 spécifiquement dans les SOM-INS du CA1. Nous pourrions alors évaluer la performance des souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/wt} injectées avec un inhibiteur de mTOR (ce qui bloquerait la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS) et des souris SOM-Cre-EYFP-Raptor^{fl/wt} non-injectées (où la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS serait normale) à des tests d'apprentissage et de mémoire dépendants de l'hippocampe pour étudier le rôle de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS dans ces processus.

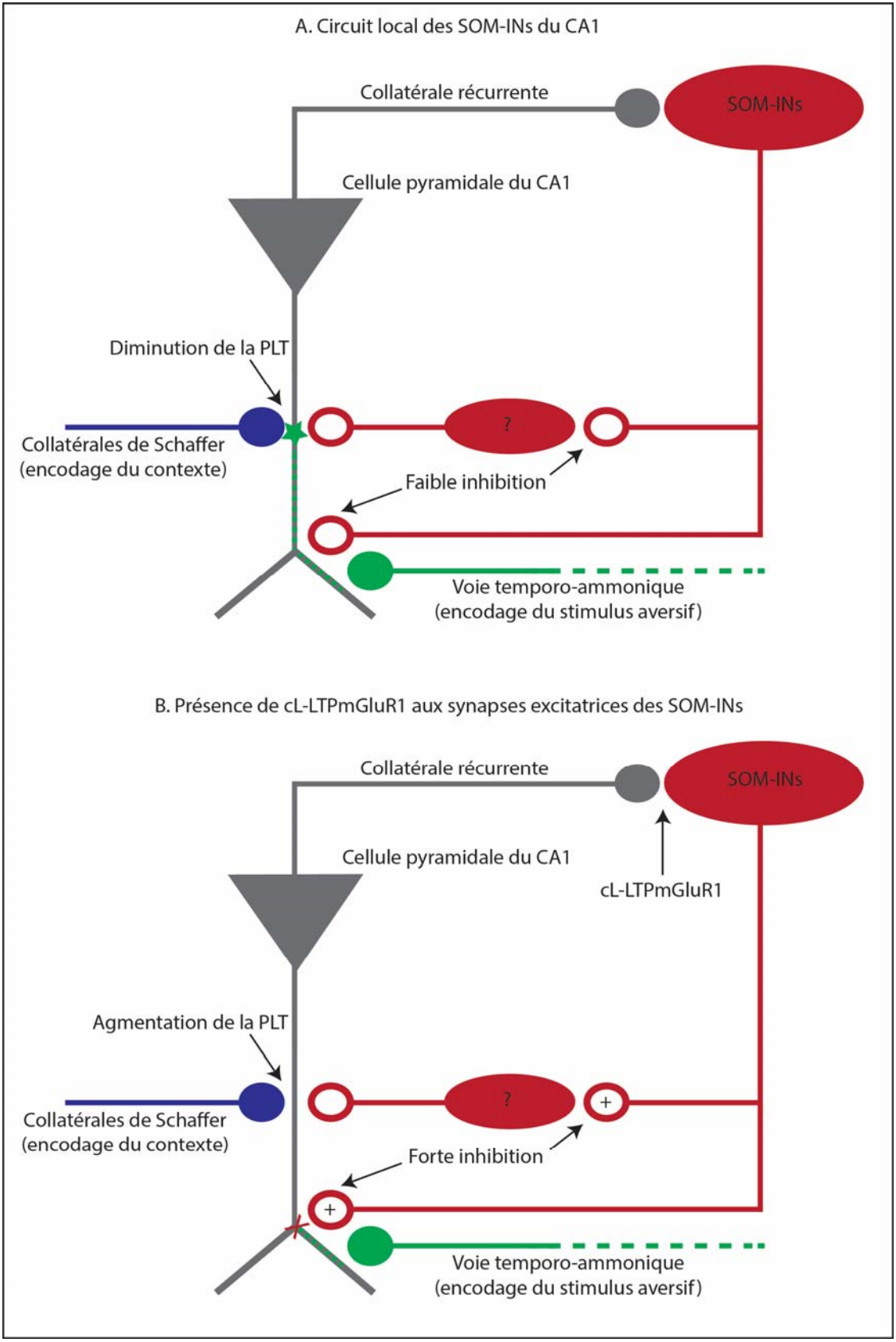


Figure 4.3. Rôle hypothétique de la cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS dans l'apprentissage d'une tâche de conditionnement de la peur au contexte. (Ci-dessus). **A.** Circuit local des SOM-INS du CA1. Suite à la faible activation des SOM-INS, la PLT aux synapses collatérales de Schaffer/ cellules pyramidales est atténuée et la transmission extrahippocampique provenant de la voie temporo-ammonique interfère avec l'encodage du contexte : il n'y a pas d'apprentissage. **B.** La cL-LTP_{mGluR1} des SOM-INS augmente l'envergure de la PLT aux synapses collatérales de Schaffer/ cellules pyramidales et inhibe la transmission extrahippocampique, sans interférence avec l'encodage du contexte : il y a apprentissage. Synapses excitatrices (cercles pleins), synapses inhibitrices (cercles vides), force de la transmission synaptique des SOM-INS augmentée *via* la cL-LTP_{mGluR1} (+). Interférence du stimulus aversif avec l'encodage du contexte (étoile verte). Inhibition de l'interférence (croix rouge).

CHAPITRE 5

BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE

- Abraham WC, Mason SE, Demmer J, Williams JM, Richardson CL, Tate WP, Lawlor PA, Dragunow M (1993) Correlations between immediate early gene induction and the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience* 56:717-727.
- Ahmed OJ, Mehta MR (2009) The hippocampal rate code: anatomy, physiology and theory. *Trends in neurosciences* 32:329-338.
- Aiba A, Chen C, Herrup K, Rosenmund C, Stevens CF, Tonegawa S (1994) Reduced hippocampal long-term potentiation and context-specific deficit in associative learning in mGluR1 mutant mice. *Cell* 79:365-375.
- Amaral D, Witter M (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31:571-591.
- Andersen P, Sundberg S, Sveen O, Wigström H (1977) Specific long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices.
- Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, O'Keefe J (2006) *The hippocampus book*: Oxford University Press.
- Barco A, Patterson S, Alarcon JM, Gromova P, Mata-Roig M, Morozov A, Kandel ER (2005) Gene expression profiling of facilitated L-LTP in VP16-CREB mice reveals that BDNF is critical for the maintenance of LTP and its synaptic capture. *Neuron* 48:123-137.
- Baude A, Nusser Z, Roberts JD, Mulvihill E, McIlhinney RA, Somogyi P (1993) The metabotropic glutamate receptor (mGluR1 α) is concentrated at perisynaptic membrane of neuronal subpopulations as detected by immunogold reaction. *Neuron* 11:771-787.
- Benke TA, Luthi A, Isaac JT, Collingridge GL (1998) Modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. *Nature* 393:793-797.
- Bliss TV, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of physiology* 232:331-356.
- Bliss TV, Collingridge GL (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361:31-39.
- Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, Jaffard R (1999) Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 400:671-675.
- Bozdagi O, Shan W, Tanaka H, Benson DL, Huntley GW (2000) Increasing numbers of synaptic puncta during late-phase LTP: N-cadherin is synthesized, recruited to synaptic sites, and required for potentiation. *Neuron* 28:245-259.
- Bruno V, Battaglia G, Kingston A, O'Neill M, Catania M, Di Grezia R, Nicoletti F (1999) Neuroprotective activity of the potent and selective mGlu1a metabotropic glutamate receptor antagonist, (+)-2-methyl-4-carboxyphenylglycine (LY367385): comparison with LY357366, a broader spectrum

- antagonist with equal affinity for mGlu1a and mGlu5 receptors. *Neuropharmacology* 38:199-207.
- Buhl E, Han Z, Lorinczi Z, Stezhka V, Karnup S, Somogyi P (1994) Physiological properties of anatomically identified axo-axonic cells in the rat hippocampus. *Journal of neurophysiology* 71:1289-1307.
- Buzsáki G, Lai-Wo S L, Vanderwolf CH (1983) Cellular bases of hippocampal EEG in the behaving rat. *Brain Research Reviews* 6:139-171.
- Choi S, Klingauf J, Tsien RW (2000) Postfusional regulation of cleft glutamate concentration during LTP at 'silent synapses'. *Nature neuroscience* 3:330-336.
- Chrobak JJ, Buzsáki G (1998) Operational dynamics in the hippocampal-entorhinal axis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 22:303-310.
- Cloetta D, Thomanetz V, Baranek C, Lustenberger RM, Lin S, Oliveri F, Atanasoski S, Ruegg MA (2013) Inactivation of mTORC1 in the developing brain causes microcephaly and affects gliogenesis. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 33:7799-7810.
- Collingridge G, Kehl S, McLennan Ht (1983) Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *The Journal of physiology* 334:33-46.
- Collingridge GL (1985) Long term potentiation in the hippocampus: mechanisms of initiation and modulation by neurotransmitters. *Trends in Pharmacological Sciences* 6:407-411.
- Cope D, Maccaferri G, Marton L, Roberts J, Cobden P, Somogyi P (2002) Cholecystokinin-immunopositive basket and Schaffer collateral-associated interneurons target different domains of pyramidal cells in the CA1 area of the rat hippocampus. *Neuroscience* 109:63-80.
- Costa-Mattioli M, Sossin WS, Klann E, Sonenberg N (2009) Translational control of long-lasting synaptic plasticity and memory. *Neuron* 61:10-26.
- Croce A, Pelletier JG, Tartas M, Lacaille JC (2010) Afferent-specific properties of interneuron synapses underlie selective long-term regulation of feedback inhibitory circuits in CA1 hippocampus. *The Journal of physiology* 588:2091-2107.
- Csicsvari J, Hirase H, Czurko A, Mamiya A, Buzsáki G (1999) Fast network oscillations in the hippocampal CA1 region of the behaving rat. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 19:1-4.
- Dahlhaus R, Hines RM, Eadie BD, Kannangara TS, Hines DJ, Brown CE, Christie BR, El-Husseini A (2010) Overexpression of the cell adhesion protein neuroligin-1 induces learning deficits and impairs synaptic plasticity by altering the ratio of excitation to inhibition in the hippocampus. *Hippocampus* 20:305-322.

- Davis S, Butcher S, Morris R (1992) The NMDA receptor antagonist D-2-amino-5-phosphonopentanoate (D-AP5) impairs spatial learning and LTP in vivo at intracerebral concentrations comparable to those that block LTP in vitro. *The Journal of neuroscience* 12:21-34.
- Deisseroth K, Bito H, Tsien RW (1996) Signaling from synapse to nucleus: postsynaptic CREB phosphorylation during multiple forms of hippocampal synaptic plasticity. *Neuron* 16:89-101.
- Dufner A, Thomas G (1999a) Ribosomal S6 kinase signaling and the control of translation. *Experimental cell research* 253:100-109.
- Dufner A, Thomas G (1999b) Ribosomal S6 kinase signaling and the control of translation. *Experimental cell research* 253:100-109.
- Evans RH, Francis AA, Watkins JC (1977) Selective antagonism by Mg²⁺ of amino acid-induced depolarization of spinal neurones. *Experientia* 33:489-491.
- Ferraguti F, Cobden P, Pollard M, Cope D, Shigemoto R, Watanabe M, Somogyi P (2004) Immunolocalization of metabotropic glutamate receptor 1alpha (mGluR1alpha) in distinct classes of interneuron in the CA1 region of the rat hippocampus. *Hippocampus* 14:193-215.
- Freund TF, Buzsaki G (1996) Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* 6:347-470.
- Frey U, Krug M, Reymann KG, Matthies H (1988) Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro. *Brain research* 452:57-65.
- Gkogkas CG, Khoutorsky A, Ran I, Rampakakis E, Nevarko T, Weatherill DB, Vasuta C, Yee S, Truitt M, Dallaire P, Major F, Lasko P, Ruggero D, Nader K, Lacaille JC, Sonenberg N (2013) Autism-related deficits via dysregulated eIF4E-dependent translational control. *Nature* 493:371-377.
- Gonzalez GA, Montminy MR (1989) Cyclic AMP stimulates somatostatin gene transcription by phosphorylation of CREB at serine 133. *Cell* 59:675-680.
- Graber TE, McCamphill PK, Sossin WS (2013) A recollection of mTOR signaling in learning and memory. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, NY)* 20:518-530.
- Gray EG (1959) Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: an electron microscope study. *Journal of Anatomy* 93:420.
- Harris KD, Hirase H, Leinekugel X, Henze DA, Buzsáki G (2001) Temporal interaction between single spikes and complex spike bursts in hippocampal pyramidal cells. *Neuron* 32:141-149.
- Hay N, Sonenberg N (2004) Upstream and downstream of mTOR. *Genes & development* 18:1926-1945.
- Hayashi Y, Shi S-H, Esteban JA, Piccini A, Poncer J-C, Malinow R (2000) Driving AMPA receptors into synapses by LTP and CaMKII: requirement for GluR1 and PDZ domain interaction. *Science (New York, NY)* 287:2262-2267.
- Hebb DO (1949) *The organization of behavior: A neuropsychological theory*: Wiley.

- Hong EJ, McCord AE, Greenberg ME (2008) A Biological Function for the Neuronal Activity-Dependent Component of *Bdnf* Transcription in the Development of Cortical Inhibition. *Neuron* 60:610-624.
- Huang YY, Li XC, Kandel ER (1994) cAMP contributes to mossy fiber LTP by initiating both a covalently mediated early phase and macromolecular synthesis-dependent late phase. *Cell* 79:69-79.
- Im HI, Nakajima A, Gong B, Xiong X, Mamiya T, Gershon ES, Zhuo M, Tang YP (2009) Post-training dephosphorylation of eEF-2 promotes protein synthesis for memory consolidation. *PLoS one* 4:e7424.
- Impey S, Obrietan K, Wong ST, Poser S, Yano S, Wayman G, Deloulme JC, Chan G, Storm DR (1998) Cross talk between ERK and PKA is required for Ca²⁺ stimulation of CREB-dependent transcription and ERK nuclear translocation. *Neuron* 21:869-883.
- Ishizuka N, Cowan WM, Amaral DG (1995) A quantitative analysis of the dendritic organization of pyramidal cells in the rat hippocampus. *Journal of Comparative Neurology* 362:17-45.
- Jacinto E, Loewith R, Schmidt A, Lin S, Ruegg MA, Hall A, Hall MN (2004) Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nature cell biology* 6:1122-1128.
- Jones MW, Wilson MA (2005) Theta rhythms coordinate hippocampal–prefrontal interactions in a spatial memory task. *PLoS biology* 3:e402.
- Kaang BK, Kandel ER, Grant SG (1993) Activation of cAMP-responsive genes by stimuli that produce long-term facilitation in *Aplysia* sensory neurons. *Neuron* 10:427-435.
- Kandel ER (2001) The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science (New York, NY)* 294:1030-1038.
- Kandel ER, J. H., Jessel, T. M. (2000) *Principles of Neural Sciences*, 4th Edition Edition: McGraw-Hill.
- Kawaguchi Y, Kubota Y (1996) Physiological and morphological identification of somatostatin- or vasoactive intestinal polypeptide-containing cells among GABAergic cell subtypes in rat frontal cortex. *The Journal of neuroscience* 16:2701-2715.
- Kelleher RJ, 3rd, Govindarajan A, Tonegawa S (2004a) Translational regulatory mechanisms in persistent forms of synaptic plasticity. *Neuron* 44:59-73.
- Kelleher RJ, 3rd, Govindarajan A, Jung HY, Kang H, Tonegawa S (2004b) Translational control by MAPK signaling in long-term synaptic plasticity and memory. *Cell* 116:467-479.
- Kepecs A, Fishell G (2014) Interneuron cell types are fit to function. *Nature* 505:318-326.
- Klausberger T, Somogyi P (2008) Neuronal diversity and temporal dynamics: the unity of hippocampal circuit operations. *Science (New York, NY)* 321:53-57.

- Klausberger T, Magill PJ, Márton LF, Roberts JDB, Cobden PM, Buzsáki G, Somogyi P (2003) Brain-state- and cell-type-specific firing of hippocampal interneurons in vivo. *Nature* 421:844-848.
- Krug M, Lössner B, Ott T (1984) Anisomycin blocks the late phase of long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats. *Brain research bulletin* 13:39-42.
- Kullmann DM, Lamsa KP (2007) Long-term synaptic plasticity in hippocampal interneurons. *Nature reviews Neuroscience* 8:687-699.
- Lacaille J-C, Williams S (1990) Membrane properties of interneurons in stratum oriens-alveus of the CA1 region of rat hippocampus *in vitro*. *Neuroscience* 36:349-359.
- Lacaille J, Mueller A, Kunkel D, Schwartzkroin P (1987) Local circuit interactions between oriens/alveus interneurons and CA1 pyramidal cells in hippocampal slices: electrophysiology and morphology. *The Journal of neuroscience* 7:1979-1993.
- Laezza F, Doherty JJ, Dingledine R (1999) Long-term depression in hippocampal interneurons: joint requirement for pre- and postsynaptic events. *Science (New York, NY)* 285:1411-1414.
- Lamsa K, Heeroma JH, Kullmann DM (2005) Hebbian LTP in feed-forward inhibitory interneurons and the temporal fidelity of input discrimination. *Nature neuroscience* 8:916-924.
- Lamsa KP, Heeroma JH, Somogyi P, Rusakov DA, Kullmann DM (2007a) Anti-Hebbian long-term potentiation in the hippocampal feedback inhibitory circuit. *Science (New York, NY)* 315:1262-1266.
- Lamsa KP, Heeroma JH, Somogyi P, Rusakov DA, Kullmann DM (2007b) Anti-Hebbian long-term potentiation in the hippocampal feedback inhibitory circuit. *Science (New York, NY)* 315:1262-1266.
- Lapointe V, Morin F, Ratte S, Croce A, Conquet F, Lacaille JC (2004) Synapse-specific mGluR1-dependent long-term potentiation in interneurons regulates mouse hippocampal inhibition. *The Journal of physiology* 555:125-135.
- Le Vasseur M, Ran I, Lacaille JC (2008) Selective induction of metabotropic glutamate receptor 1- and metabotropic glutamate receptor 5-dependent chemical long-term potentiation at oriens/alveus interneuron synapses of mouse hippocampus. *Neuroscience* 151:28-42.
- Leao RN, Mikulovic S, Leao KE, Munguba H, Gezelius H, Enjin A, Patra K, Eriksson A, Loew LM, Tort AB, Kullander K (2012) OLM interneurons differentially modulate CA3 and entorhinal inputs to hippocampal CA1 neurons. *Nature neuroscience* 15:1524-1530.
- Lee KS (1983) Cooperativity among afferents for the induction of long-term potentiation in the CA1 region of the hippocampus. *The Journal of Neuroscience* 3:1369-1372.
- Lei S, McBain CJ (2004a) Two Loci of expression for long-term depression at hippocampal mossy fiber-interneuron synapses. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 24:2112-2121.

- Lei S, McBain CJ (2004b) Two Loci of expression for long-term depression at hippocampal mossy fiber-interneuron synapses. *The Journal of neuroscience* 24:2112-2121.
- Lorente de Nó R (1934) Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *Journal für Psychologie und Neurologie*.
- Lovett-Barron M, Kaifosh P, Kheirbek MA, Danielson N, Zaremba JD, Reardon TR, Turi GF, Hen R, Zemelman BV, Losonczy A (2014) Dendritic inhibition in the hippocampus supports fear learning. *Science (New York, NY)* 343:857-863.
- Maccaferri G (2005) Stratum oriens horizontal interneurone diversity and hippocampal network dynamics. *The Journal of physiology* 562:73-80.
- Martin KC, Casadio A, Zhu H, Yaping E, Rose JC, Chen M, Bailey CH, Kandel ER (1997) Synapse-specific, long-term facilitation of aplysia sensory to motor synapses: a function for local protein synthesis in memory storage. *Cell* 91:927-938.
- Martin S, Grimwood P, Morris R (2000) Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annual review of neuroscience* 23:649-711.
- McBain CJ, Fisahn A (2001) Interneurons unbound. *Nature reviews Neuroscience* 2:11-23.
- McNaughton BL, Douglas R, Goddard GV (1978) Synaptic enhancement in fascia dentata: cooperativity among coactive afferents. *Brain research* 157:277-293.
- Nakauchi S, Brennan RJ, Boulter J, Sumikawa K (2007) Nicotine gates long-term potentiation in the hippocampal CA1 region via the activation of $\alpha 2^*$ nicotinic ACh receptors. *European Journal of Neuroscience* 25:2666-2681.
- Neves G, Cooke SF, Bliss TV (2008) Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nature reviews Neuroscience* 9:65-75.
- Nguyen PV, Abel T, Kandel ER (1994) Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP. *Science (New York, NY)* 265:1104-1107.
- Nicoll RA, Malenka RC (1995) Contrasting properties of two forms of long-term potentiation in the hippocampus.
- Nicoll RA, Schmitz D (2005) Synaptic plasticity at hippocampal mossy fibre synapses. *Nature reviews Neuroscience* 6:863-876.
- Oliet SH, Malenka RC, Nicoll RA (1997) Two distinct forms of long-term depression coexist in CA1 hippocampal pyramidal cells. *Neuron* 18:969-982.
- Palmer M, Irving A, Seabrook G, Jane D, Collingridge G (1997) The group I mGlu receptor agonist DHPG induces a novel form of LTD in the CA1 region of the hippocampus. *Neuropharmacology* 36:1517-1532.

- Pelkey KA, Lavezzari G, Racca C, Roche KW, McBain CJ (2005) mGluR7 is a metaplastic switch controlling bidirectional plasticity of feedforward inhibition. *Neuron* 46:89-102.
- Pelletier JG, Lacaille JC (2008) Long-term synaptic plasticity in hippocampal feedback inhibitory networks. *Progress in brain research* 169:241-250.
- Perez Y, Morin F, Lacaille JC (2001) A hebbian form of long-term potentiation dependent on mGluR1a in hippocampal inhibitory interneurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98:9401-9406.
- 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. *Nature neuroscience* 16:1068-1076.
- Poncer JC, Esteban JA, Malinow R (2002) Multiple mechanisms for the potentiation of AMPA receptor-mediated transmission by alpha-Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 22:4406-4411.
- Proud CG (2009) mTORC1 signalling and mRNA translation. *Biochemical Society transactions* 37:227-231.
- Pyapali GK, Sik A, Penttonen M, Buzsaki G, Turner DA (1998) Dendritic properties of hippocampal CA1 pyramidal neurons in the rat: intracellular staining in vivo and in vitro. *Journal of Comparative Neurology* 391:335-352.
- Ramon y Cajal D (1893) *Nuevo concepto de la histologia de los centros nerviosos.*
- Ran I, Laplante I, Lacaille JC (2012) CREB-dependent transcriptional control and quantal changes in persistent long-term potentiation in hippocampal interneurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 32:6335-6350.
- Ran I, Laplante I, Bourgeois C, Pepin J, Lacaille P, Costa-Mattioli M, Pelletier J, Sonenberg N, Lacaille JC (2009) Persistent transcription- and translation-dependent long-term potentiation induced by mGluR1 in hippocampal interneurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29:5605-5615.
- Ran I, Gkogkas CG, Vasuta C, Tartas M, Khoutorsky A, Laplante I, Parsyan A, Nevarko T, Sonenberg N, Lacaille JC (2013) Selective regulation of GluA subunit synthesis and AMPA receptor-mediated synaptic function and plasticity by the translation repressor 4E-BP2 in hippocampal pyramidal cells. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 33:1872-1886.
- Ribak CE, Vaughn JE, Saito K (1978) Immunocytochemical localization of glutamic acid decarboxylase in neuronal somata following colchicine inhibition of axonal transport. *Brain research* 140:315-332.
- Royer S, Zemelman BV, Losonczy A, Kim J, Chance F, Magee JC, Buzsaki G (2012) Control of timing, rate and bursts of hippocampal place cells by dendritic and somatic inhibition. *Nature neuroscience* 15:769-775.

- Ruediger S, Vittori C, Bednarek E, Genoud C, Strata P, Sacchetti B, Caroni P (2011) Learning-related feedforward inhibitory connectivity growth required for memory precision. *Nature* 473:514-518.
- Rutherford LC, Nelson SB, Turrigiano GG (1998) BDNF has opposite effects on the quantal amplitude of pyramidal neuron and interneuron excitatory synapses. *Neuron* 21:521-530.
- Sagar HJ, Cohen NJ, Corkin S, Growdon JH (1985) Dissociations among processes in remote memory. *Annals of the New York Academy of Sciences* 444:533-535.
- Schmechel D, Vickrey B, Fitzpatrick D, Elde R (1984) GABAergic neurons of mammalian cerebral cortex: widespread subclass defined by somatostatin content. *Neuroscience letters* 47:227-232.
- Schwartzkroin PA, Mathers LH (1978) Physiological and morphological identification of a nonpyramidal hippocampal cell type. *Brain research* 157:1-10.
- Scoville WB, Milner B (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 20:11-21.
- Sik A, Penttonen M, Ylinen A, Buzsáki G (1995) Hippocampal CA1 interneurons: an in vivo intracellular labeling study. *The Journal of neuroscience* 15:6651-6665.
- Sik A, Hajos N, Gulacsi A, Mody I, Freund TF (1998) The absence of a major Ca²⁺ signaling pathway in GABAergic neurons of the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:3245-3250.
- Silberberg G, Markram H (2007) Disynaptic inhibition between neocortical pyramidal cells mediated by Martinotti cells. *Neuron* 53:735-746.
- Soltész I, Bourassa J, Deschenes M (1993) The behavior of mossy cells of the rat dentate gyrus during theta oscillations in vivo. *Neuroscience* 57:555-564.
- Somogyi P, Klausberger T (2005) Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus. *The Journal of physiology* 562:9-26.
- Somogyi P, Hodgson A, Smith AD, Nunzi MG, Gorio A, Wu J (1984) Different populations of GABAergic neurons in the visual cortex and hippocampus of cat contain somatostatin- or cholecystokinin-immunoreactive material. *The Journal of neuroscience* 4:2590-2603.
- Squire LR (1992) Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological review* 99:195.
- Squire LR, Alvarez P (1995) Retrograde amnesia and memory consolidation: a neurobiological perspective. *Current opinion in neurobiology* 5:169-177.
- Stevens CF, Wang Y (1994) Changes in reliability of synaptic function as a mechanism for plasticity.
- Stoica L, Zhu PJ, Huang W, Zhou H, Kozma SC, Costa-Mattioli M (2011) Selective pharmacogenetic inhibition of mammalian target of Rapamycin complex I (mTORC1) blocks long-term synaptic

- plasticity and memory storage. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 108:3791-3796.
- Tabuchi K, Blundell J, Etherton MR, Hammer RE, Liu X, Powell CM, Südhof TC (2007) A neuroligin-3 mutation implicated in autism increases inhibitory synaptic transmission in mice. Science (New York, NY) 318:71-76.
- Topolnik L, Congar P, Lacaille J-C (2005) Differential regulation of metabotropic glutamate receptor-and AMPA receptor-mediated dendritic Ca²⁺ signals by presynaptic and postsynaptic activity in hippocampal interneurons. The Journal of neuroscience 25:990-1001.
- Topolnik L, Azzi M, Morin F, Kougioumoutzakis A, Lacaille JC (2006) mGluR1/5 subtype-specific calcium signalling and induction of long-term potentiation in rat hippocampal oriens/alveus interneurons. The Journal of physiology 575:115-131.
- Tricoire L, Pelkey KA, Erkkila BE, Jeffries BW, Yuan X, McBain CJ (2011) A blueprint for the spatiotemporal origins of mouse hippocampal interneuron diversity. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 31:10948-10970.
- Tully T, Bourtchouladze R, Scott R, Tallman J (2003) Targeting the CREB pathway for memory enhancers. Nature Reviews Drug Discovery 2:267-277.
- van Hooft JA, Giuffrida R, Blatow M, Monyer H (2000) Differential expression of group I metabotropic glutamate receptors in functionally distinct hippocampal interneurons. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 20:3544-3551.
- Vasuta C, Laplante I, Elayoubi K, Huang W, Lacaille J-C (2012) Long-term plasticity in identified classes of somatostatin- and parvalbumin - expressing interneurons in the mouse hippocampus. Neuroscience Abstract.
- Wang L, Lawrence JC, Jr., Sturgill TW, Harris TE (2009) Mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) activity is associated with phosphorylation of raptor by mTOR. The Journal of biological chemistry 284:14693-14697.
- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF (2006) Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. Science (New York, NY) 313:1093-1097.
- Wigström H, Gustafsson B (1985) On long-lasting potentiation in the hippocampus. a proposed mechanism for its dependence on coincident pre-and postsynaptic activity. Acta physiologica scandinavica 123:519-522.
- Winograd T (1975) Frame representations and the declarative/procedural controversy. Representation and understanding: Studies in cognitive science:185-210.
- Wu ZL, Thomas SA, Villacres EC, Xia Z, Simmons ML, Chavkin C, Palmiter RD, Storm DR (1995) Altered behavior and long-term potentiation in type I adenylyl cyclase mutant mice. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 92:220-224.

Xu W, Morishita W, Buckmaster PS, Pang ZP, Malenka RC, Südhof TC (2012) Distinct neuronal coding schemes in memory revealed by selective erasure of fast synchronous synaptic transmission. *Neuron* 73:990-1001.

Zalutsky RA, Nicoll RA (1990) Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons. *Science (New York, NY)* 248:1619-1624.

Zola-Morgan SM, Squire LR (1990) The primate hippocampal formation: evidence for a time-limited role in memory storage. *Science (New York, NY)* 250:288-290.