

Université de Montréal

Rôle de la somatostatine dans la plasticité synaptique des interneurons somatostatinerghiques de  
l'hippocampe

Par Anne-Sophie Racine

Département de neurosciences  
Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales en vue de l'obtention du grade  
de Maîtrise ès en sciences (M. Sc.)  
en neurosciences

Avril 2021

© Anne-Sophie Racine, 2021

Ce mémoire intitulé

Rôle de la somatostatine dans la plasticité synaptique des interneurons somatostatinerrgiques de  
l'hippocampe

Présenté par  
Anne-Sophie Racine

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Dre Arlette Kolta  
Présidente- Rapporteure

Dr Jean-Claude Lacaille  
Directeur de recherche

Dr Ciaran Murphy-Royal  
Membre du jury



## Résumé

Dans la région CA1 de l'hippocampe, une population d'interneurones exprimant la somatostatine (SOM-INs) est reconnue pour une potentialisation à long terme (PLT) dépendante des récepteurs métabotropes du glutamate de type 1a (mGluR1a) à leurs synapses excitatrices provenant des cellules pyramidales (CP). Il a récemment été démontré que cette PLT est induite par l'apprentissage contextuel lié à la peur, illustrant l'importance de cette PLT des SOM-INs dans l'apprentissage et la mémoire. Cependant, l'implication du neuropeptide somatostatine (SST) dans cette PLT demeure inconnue. Dans la présente étude, le rôle de la SST dans la PLT dépendante des mGluR1a a été étudié, tout comme, l'effet de la somatostatine-14 (SST-14) exogène aux synapses excitatrices des SOM-INs. Pour ce faire, des souris transgéniques exprimant la « enhanced yellow fluorescent protein » (eYFP) sous le contrôle du promoteur de la SST ont été utilisées. Des enregistrements électrophysiologiques jumelés à une approche pharmacologique ont été réalisés sur ces souris. Les résultats suggèrent que la SST-14 exogène engendre une PLT persistante grâce aux récepteurs à la somatostatine 1-5 (SST<sub>1-5</sub>), aux synapses excitatrices des SOM-INs, mais n'affecte pas les synapses des CP ou bien des interneurones exprimant la parvalbumine (PV-INs). Cette potentialisation induite par SST-14 était indépendante des récepteurs à l'acide N-méthyl-D-aspartique (NMDAR) et mGluR1a, dépendante de l'activité synaptique concomitante et inhibée par le blocage des récepteurs GABA<sub>A</sub>. De plus, la PLT dépendante des récepteurs mGluR1a a été affectée par l'inhibition des SST<sub>1-5</sub> ou bien par un traitement avec de la cystéamine suggérant un rôle pour de la SST endogène dans cette PLT. Nos résultats suggèrent que la SST endogène pourrait contribuer à la PLT hébbienne aux synapses excitatrices des SOM-INs en contrôlant l'inhibition GABA<sub>A</sub>. La SST aurait alors un rôle dans la modulation de la plasticité à long terme des SOM-INs qui pourrait être important dans la mémoire dépendante de l'hippocampe.

**Mots-clés :** Interneurones GABAergiques, *Somatotropin-release inhibitory factor –SRIF*, *patch clamp*, PLT hébbienne, récepteurs SST<sub>1-5</sub>, inhibition GABA<sub>A</sub>

## Summary

The CA1 region of the hippocampus includes a population of GABAergic interneurons expressing somatostatin (SOM-INs). This type of interneurons displays a long-term potentiation (LTP) dependant on type 1a metabotropic glutamate receptors (mGluR1a) at their excitatory synapses from pyramidal cells (PC). It was recently demonstrated that mGluR1a dependent LTP can be induce by contextual fear learning showing an important role of this LTP in learning and memory. However, the implication of the peptide somatostatin (SST) in this LTP remains unknown. In the present study, the role of SST in mGluR1 dependent LTP and the effect of exogenous somatostatin-14 (SST-14) onto excitatory synapses of SOM-INs were investigated. To do this, transgenic mice expressing enhanced yellow fluorescent protein (eYFP) under the control of the promoter of SST were used. Patch clamp recordings and pharmacological approaches were used with these mice. Results suggested that application of exogenous SST-14 induces a LTP through type 1-5 somatostatin receptors (SST<sub>1-5</sub>) of excitatory synapses of SOM-INs but does not affect synapses of PC or parvalbumin-expressing interneurons (PV-INs). This LTP induced by SST-14 was independent of N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) and mGluR1a, activity dependent, and prevented by blocking GABA<sub>A</sub> receptors. Furthermore, mGluR1a dependent LTP was prevented by inhibition of SST<sub>1-5</sub> and by depletion of SST by cysteamine treatment, suggesting a role of endogenous SST in LTP. Our results indicate that endogenous SST may contribute to Hebbian LTP at excitatory synapses by controlling GABA<sub>A</sub> inhibition. SST would then have a role in regulating SOM-INs LTP that may be important for hippocampus dependent memory processes.

**Key words:** GABAergic interneurons, Somatotropin-release inhibitory factor –SRIF, patch clamp, Hebbian LTP, SST<sub>1-5</sub>, GABA<sub>A</sub> inhibition

# Table des matières

<b>Résumé</b> .....	<b>i</b>
<b>Summary</b> .....	<b>ii</b>
<b>Listes des figures</b> .....	<b>vi</b>
<b>Listes des tableaux</b> .....	<b>vii</b>
<b>Listes des abréviations</b> .....	<b>viii</b>
<b>Remerciements</b> .....	<b>x</b>
<b>Chapitre 1</b>	
<b>Introduction Générale</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Implication de l'hippocampe dans la mémoire</b> .....	<b>2</b>
1.1.1 Apprentissage et types de mémoire.....	2
1.1.2 La mémoire déclarative et le lobe temporal médian .....	2
<b>1.2. Neuroanatomie de l'hippocampe</b> .....	<b>3</b>
<i>1.2.1 Organisation anatomique</i> .....	3
<i>1.2.3 Circuit trisynaptique</i> .....	4
<i>1.2.4 Les cellules pyramidales</i> .....	5
<i>1.2.5 Les interneurons</i> .....	6
<i>1.2.5.1 Classification</i> .....	7
1.2.5.2 Les interneurons somatostatinergeriques.....	8
1.2.5.2.1 Les cellules bistratifiées .....	8
1.2.5.2.2 Les cellules Oriens-lacunosom moleculare (O-LM).....	8
<b>1.3 Plasticité synaptique de l'hippocampe</b> .....	<b>11</b>
<i>1.3.1 Définition</i> .....	11
1.3.2 PLT associative et dépendante des récepteurs NMDA – collatérales de Schaffer et cellules pyramidales du CA1 .....	12
1.3.3 PLT indépendante des récepteurs NMDA – Fibres moussues et cellules pyramidales du CA3 .....	14
1.3.4 Plasticité synaptique des interneurons .....	14
1.3.4.1 PLT hébbienne dépendant des mGluR1a .....	14
1.3.4.1.1 Phase tardive de la PLT hébbienne dépendant des mGluR1a.....	16
1.3.4.1.2 Induction de la PLT hébbienne dépendant des mGluR1a .....	17
<b>1.4. La somatostatine</b> .....	<b>18</b>

1.4.1 Les récepteurs de la somatostatine.....	19
1.4.2 Effets de la somatostatine dans l'hippocampe.....	19
1.4.3 La somatostatine et la mémoire .....	20
 <b>Chapitre 2</b>	
<b>Objectifs du mémoire.....</b>	<b>23</b>
<b>2.1 Objectifs du mémoire.....</b>	<b>24</b>
<b>2.2 Contribution des coauteurs de l'article.....</b>	<b>25</b>
 <b>Chapitre 3</b>	
<b>La somatostatine contribue à la potentialisation à long terme aux synapses excitatrices des interneurons somatostatinerigues de l'hippocampe .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Abstract.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2 Introduction .....</b>	<b>29</b>
<b>3.3 Materials and methods .....</b>	<b>31</b>
3.3.1 <i>Animals</i> .....	31
3.3.2 <i>Transgenic mice lines</i> .....	32
3.3.4 <i>Cysteamine injection</i> .....	32
3.3.5 Acute hippocampal slice preparation.....	32
3.3.6 Cysteamine treated acute hippocampal slices.....	33
3.3.7 Whole-cell current clamp recordings.....	33
3.3.8 Whole-cell voltage clamp recordings .....	34
3.3.9 Somatostatin immunofluorescence .....	34
3.3.10 <i>Statistical analysis</i> .....	35
<b>3.4 Results .....</b>	<b>36</b>
3.4.1 SST-14 induces LTP via SST <sub>1-5</sub> .....	36
3.4.2 SST-14 induced potentiation is independent of NMDAR and mGluR1a.....	38
3.4.3 SST actions on SOM-IN excitatory synapses mediated by GABA <sub>A</sub> inhibition .....	40
<b>3.5 Discussion.....</b>	<b>41</b>
3.5.1 SST-14-induced potentiation is mediated by GABA <sub>A</sub> inhibition .....	42
3.5.2 Mechanisms of SST-induced LTP .....	44
3.5.3 Endogenous SST contributes to mGluR1a-mediated Hebbian LTP.....	44
<b>3.6 References .....</b>	<b>46</b>
<b>3.7 Figure legends.....</b>	<b>50</b>

<b>3.8 Figures .....</b>	<b>55</b>
<b>3.9 Tableau supplémentaire – Statistiques.....</b>	<b>63</b>
<b>Chapitre 4</b>	
<b>Discussion générale .....</b>	<b>67</b>
<b>4.1 Rappel des principaux résultats.....</b>	<b>68</b>
<b>4.2 L’action de la SST sur les synapses excitatrices des SOM-INS est modulée par l’inhibition GABA<sub>A</sub> ..</b>	<b>69</b>
<b>4.3 Rôle de la SST endogène dans la PLT dépendante des mGluR1a .....</b>	<b>71</b>
<b>4.4 La SST induit un effet potentialisateur graduel, persistant et spécifiques aux synapses excitatrices des SOM-INS .....</b>	<b>73</b>
<b>4.5 Nouvelles implications de la SST dans la plasticité synaptique des SOM-INS et la mémoire.....</b>	<b>76</b>
<b>4.6 Perspectives futures .....</b>	<b>79</b>
4.6.1 Différence dans la PLT selon les sexes .....	79
4.6.2 Cibler spécifiquement certains récepteurs SST <sub>1-5</sub> pour mieux comprendre le mécanisme d’action de la SST.....	80
4.6.3 Étudier la SST dans de l’apprentissage et la mémoire.....	81
<b>Chapitre 5</b>	
<b>Bibliographie générale .....</b>	<b>83</b>

## Listes des figures

### Chapitre 1

Figure 1.1 - Organisation laminaire de l'hippocampe.....	4
Figure 1.2 - Circuit trisynaptique de l'hippocampe.....	5
Figure 1.3 - Morphologie de la cellule pyramidale.....	6
Figure 1.4 - Schéma représentatif des types d'interneurones présents dans la région CA1.....	7
Figure 1.5 - Interneurone O-LM.....	9
Figure 1.6 - Circuit synaptique des SOM-INS de la région CA1 de l'hippocampe.....	10
Figure 1.7- Schéma illustrant les propriétés de spécificité et d'associativité de la PLT dépendante des récepteurs NMDA aux synapses CS- CP du CA1.....	12
Figure 1.8 - Schéma illustrant la PLT hébbienne dépendante des mGluR1a.....	17
Figure 1.9 - Illustration des deux isoformes de la SST selon leur composition en acide aminé.....	18

### Chapitre 3

Figure 3.1.....	55
Figure 3.2.....	56
Figure 3.3.....	57
Figure 3.4.....	58
Figure 3.5.....	59
Figure 3.6.....	60
Figure 3.7.....	61
Figure 3.8.....	62

### Chapitre 4

Figure 4.1 Mécanisme de la PLT induite par le peptide SST-14.....	70
Figure 4.2 Mécanisme d'action de la SST endogène lors de la PLT des synapses glutamatergiques des SOM-INS.....	72

## **Listes des tableaux**

### **Chapitre 1**

Tableau I - Localisation des récepteurs et effecteurs de voies métabotropes ..... 19

### **Chapitre 4**

Tableau II - Modèle de souris spécifique ayant une délétion spécifique pour un récepteur de la SST... 81

## Listes des abréviations

AC :	Adénylate cyclase
AMPA :	Acide $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole proprionique
AMPc :	Adénosine monophosphate cyclique
AP5 :	D, L-acide-2-amino-5-phosphonoalérique
ARNm :	Acide ribonucléique messenger
AAV :	Virus adéno-associé
Ca <sup>2+</sup> :	ions calcium
CaMKII :	Ca <sup>2+</sup> -calmoduline-kinase II
CA1 :	corne d'Ammon 1
CA2 :	corne d'Ammon 2
CA3 :	corne d'Ammon 3
CP :	Cellule pyramidale
CP-AMPA :	récepteur AMPA perméable aux ions Ca <sup>2+</sup>
CPSE :	Courant post-synaptique excitateur
CREB	<i>C-AMP response element-binding protein</i>
DHPG :	(S)-3,5-dihydroxyphenylglycine
DL-APV :	Acide 2-amino-5-phosphonoalérique
DLT :	Dépression à long terme
ERK :	<i>extracellular signal-regulated kinase</i>
GABA :	acide $\gamma$ -aminobutyrique
GAD :	<i>glutamic acid decarboxylase</i>
GD :	Gyrus dentelé
HCN :	<i>hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated</i>
IN :	interneurone
ip :	Intrapéritonéale
MA :	Maladie d'Alzheimer
MAPK :	<i>Mitogen-activated protein kinase</i>
Mg <sup>2+</sup> :	ions magnésium
mGluR :	Récepteur métabotrope du glutamate



MPEP :	2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine
mTORC1 :	<i>mammalian target of rapamycin complex 1</i>
NMDAR :	Récepteur Acide N-méthyl-D-aspartique
O-BiStr :	Cellule bistratifiée horizontale
O-LM :	Oriens Lacunosum/moleculare
PI3K :	Phosphoinositide 3-kinase
PKA :	Protéine kinase A
PLT :	Potentialisation à long terme
PPSE :	Potentiel post-synaptique excitateur
PPR :	<i>Paired-pulse ratio</i>
PTP :	Phosphotyrosine phosphatase
PV :	Parvalbumine
PV-IN :	Interneurone parvalbuminergique
S6K	protéine ribosomique S6 kinase
SNC :	Système nerveux central
SOM-IN :	Interneurone somatostatinergique
SST :	Somatostatine
SST-14 :	Somatostatine 14 exogène
SST <sub>1-5</sub> :	Récepteur de la somatostatine
TRP :	Canal <i>transient receptor potential</i>
V-BiStr	Cellules bistratifiée verticale
VIP :	Peptide vasoactif intestinal

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres de mon jury d'évaluation de mémoire de maîtrise, Dre Arlette Kolta ainsi que le Dr Ciaran Murphy-Royal, pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture et la correction de ce mémoire.

Je désire également remercier mon directeur de recherche, Dr Jean-Claude Lacaille, pour son chaleureux accueil dans son laboratoire ainsi que pour ses judicieux conseils tout au long de mon parcours à la maîtrise en neurosciences.

Je souhaite exprimer mes plus sincères remerciements aux autres membres du laboratoire plus spécialement à Dre Isabel Laplante, Dr Abdessatar Khlaifia, Dre Azam Asgarihafshejani et le Dr Julien Artinian qui ont contribué de façon significative à mon apprentissage depuis le tout début, lors de mon stage de fin de baccalauréat à l'été 2017 jusqu'à la fin de mon parcours aux cycles supérieurs en neurosciences. Je tiens également à remercier Dr François-Xavier Michon pour sa contribution à certaines expérimentations lorsque la charge de travail était grande et que je ne pouvais pas y arriver seule.

Je désire remercier la direction du programme du doctorat de 1<sup>er</sup> cycle de médecine qui m'a exceptionnellement accordé une année de suspension entre ma première année de doctorat et ma seconde année afin de terminer cette maîtrise.

Un énorme merci à mes amis et étudiants à la maîtrise avec moi, Sandrine St-Onge et Frédéric Fiore, pour votre soutien et vos rires constants. Un merci spécial à Mona Ouirzane pour l'influence que tu as eue dans mon parcours. Tu m'as guidé et éclairé, ce qui a fait en sorte que j'ai ce parcours-ci aujourd'hui.

Finalement, un immense merci à mes parents qui m'ont soutenu, écouté et compris tout au long de mon parcours universitaire. Vous m'avez toujours encouragé à poursuivre ce que j'entreprenais même quand je vous ai annoncé que je souhaitais postuler au doctorat de médecine alors que j'étais à mi-chemin dans mon parcours de maîtrise. Je vous promets qu'un jour je vais terminer mes études universitaires.

À tous, merci

## **Chapitre 1**

### **Introduction générale**

## **1.1 Implication de l'hippocampe dans la mémoire**

### ***1.1.1 Apprentissage et types de mémoire***

L'apprentissage se définit comme l'acquisition d'un changement de comportement en réponse à un stimulus externe (Sweatt 2010). Cette définition peut sembler plus abstraite lorsqu'appliquée à l'humain. Il est ainsi possible de résumer l'apprentissage: l'acquisition de nouvelles connaissances étant sujettes à être accumulées à long terme, puis réutilisées ultérieurement. La mémoire, quant à elle, est le processus dans lequel les connaissances sont emmagasinées (Sweatt 2010). La mémoire étant étudiée depuis plusieurs décennies, il est ainsi possible de subdiviser la mémoire. Deux catégories majeures permettent de la classer: la mémoire non déclarative ou dite implicite regroupant la mémoire procédurale qui implique le striatum, le conditionnement classique simple faisant appel à l'amygdale et le cervelet ainsi que l'apprentissage non associatif nécessitant les voies des réflexes (Milner, Squire et al. 1998). La seconde catégorie est mémoire déclarative aussi nommée mémoire explicite associés aux faits et aux événements impliquant le lobe temporal médian (Milner, Squire et al. 1998).

### ***1.1.2 La mémoire déclarative et le lobe temporal médian***

Il a été souligné ci-haut que le lobe temporal médian serait la principale structure requise pour la mémoire associée aux faits et aux événements, c'est-à-dire la mémoire déclarative. Il faut remonter vers la fin des années 1950 pour comprendre d'où a pris naissance l'hypothèse que le lobe temporal médian serait un acteur important dans la mémoire déclarative. Dr William Scoville et la neuropsychologue Brenda Milner menaient à l'époque une étude neuropsychologique sur des patients cérébrolésés (Scoville and Milner 1957). Ils ont rapporté le cas particulier du patient H.M. Ce dernier avait subi une excision bilatérale du lobe temporal médian pour tenter de remédier aux nombreuses crises épileptiques dont il était victime. À la suite de l'intervention, ce dernier s'est retrouvé avec une amnésie rétrograde touchant les onze dernières années, c'est-à-dire qu'il n'avait plus de souvenirs des onze dernières années. Il souffrait également d'une amnésie antérograde, c'est-à-dire, qu'il était incapable de former de nouvelles mémoires d'événements survenus après la chirurgie. De façon intéressante, ces déficits mnésiques concernaient seulement la mémoire déclarative qui concerne les faits et événements. La mémoire procédurale et à court terme n'étaient pas affectées (Scoville and

Milner 1957). Ce cas qui a largement été étudié a permis de mettre en évidence le rôle de l'hippocampe, principale structure du lobe temporal médian, dans la mémoire déclarative.

## 1.2. Neuroanatomie de l'hippocampe

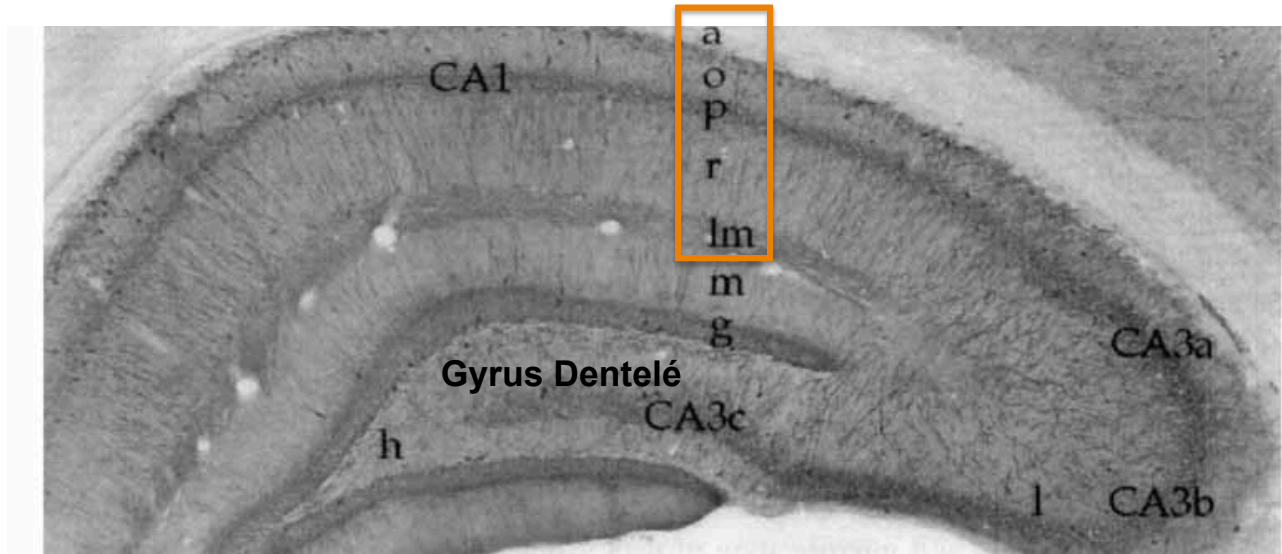
### 1.2.1 Organisation anatomique

L'hippocampe est un archicortex présent bilatéralement dans le lobe temporal médian. Cette structure fait partie de la formation hippocampique composée du cortex entorhinal, du subiculum, de la corne d'Ammon (CA) ainsi que du gyrus dentelé (GD) (Andersen, Morris et al. 2007). La corne d'Ammon comporte trois régions : CA1, CA2, CA3. Dans le présent mémoire, le terme hippocampe fait référence à la corne d'Ammon.

### 1.2.2 Organisation cytoarchitectonique

L'hippocampe est composé de cinq couches laminaires superposées comportant différents types cellulaires (Andersen, Morris et al. 2007) (Figure 1.1).

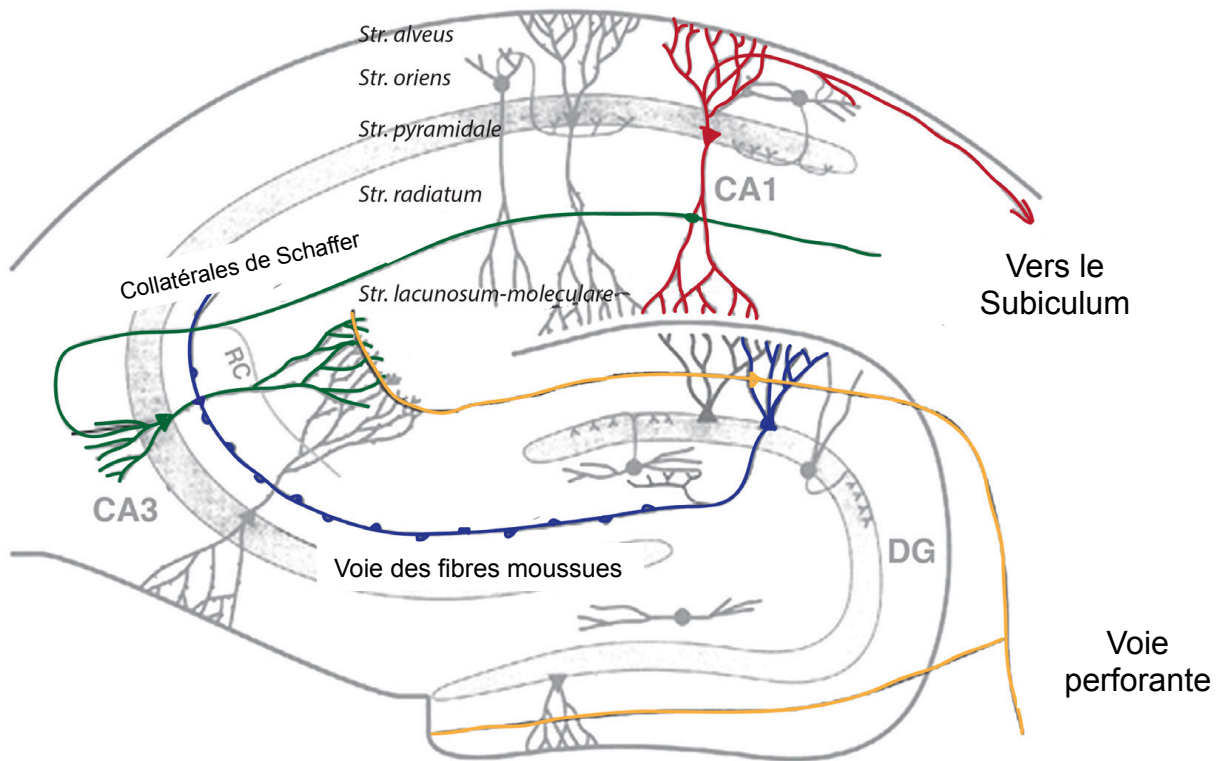
1. *L'alvéus* : Couche supérieure composée des fibres myélinisées, principalement les axones des cellules pyramidales (CP) projetant vers le subiculum.
2. *Stratum oriens* : Cette couche contient les dendrites basales des CP, plusieurs types d'interneurones et des collatérales des CP locales.
3. *Stratum pyramidale* : Elle comporte les corps cellulaires des CP ayant une organisation très compacte.
4. *Stratum radiatum* : Il s'agit de la couche composée majoritairement de la portion proximale des dendrites apicales des CP. Au niveau de la région du CA3 seulement, le *stratum lucidum*, s'insère entre le *stratum pyramidale* et le *stratum radiatum*. Cette couche est composée des fibres moussues, c'est-à-dire des axones des cellules granulaires du GD projetant sur les CP du CA3.
5. *Stratum lacunosum moleculare* : Elle comporte les dendrites apicales distales des CP, des faisceaux provenant du cortex entorhinal et du thalamus ainsi que plusieurs types d'interneurones.



**Figure 1.1 - Organisation laminaire de l'hippocampe.** Photomicrographie d'une coupe coronale de l'hippocampe dorsal illustrant les couches du CA1 encadrées en orange et du Gyrus dentelé. CA1 : (a) alveus, (o) oriens, (p) pyramidale, (r) radiatum, (lm) lacunosum moleculare. Sous région CA3a, CA3b, CA3c : (l) lucidum. Gyrus dentelé : (m) moléculaire, (g) granulaire, (h) hilus. Figure adapté de (Freund and Buzsaki 1996).

### 1.2.3 Circuit trisynaptique

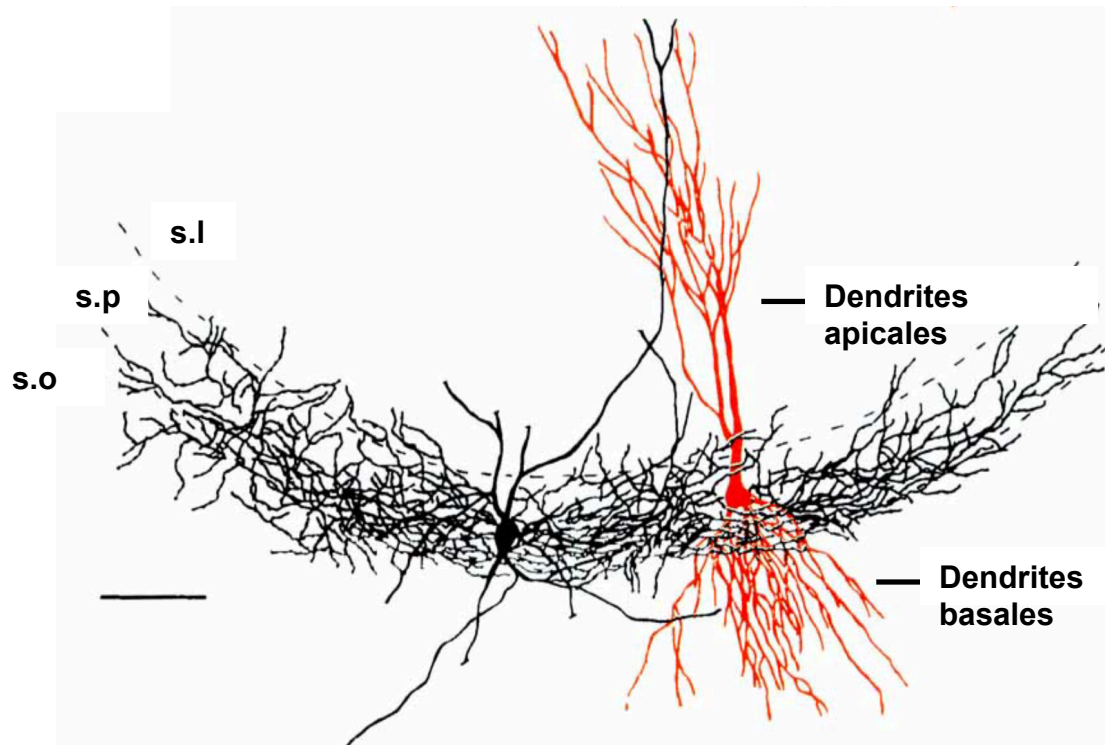
Le circuit trisynaptique constitue la connectivité intrinsèque de l'hippocampe. Il s'agit d'un circuit principalement unidirectionnel composé de synapses excitatrices. Les neurones provenant majoritairement des couches II, III du cortex entorhinal projettent leur axone sur les dendrites des cellules granulaires du GD. Cela correspond à la **voie perforante**. Ensuite, les axones des cellules granulaires du GD vont projeter à leur tour vers les CP du CA3 formant la **voie des fibres moussues**. Finalement, axones des CP du CA3 sont la dernière composante de ce circuit trisynaptique faisant synapse sur les dendrites apicales et basales des CP du CA1 dans le stratum radiatum et le stratum oriens respectivement (Amaral and Witter 1989, Andersen, David Amaral et al. 2007). Il s'agit des **collatérales de Schaffer**. Il est important de mentionner qu'une partie des axones des CP provenant du cortex entorhinal vont projeter directement vers les CP du CA1 et vers le subiculum constituant la **voie temporo-ammonique**. (Figure 1.2).



**Figure 1.2 - Circuit trisynaptique de l'hippocampe.** Schéma illustrant les trois composantes du circuit trisynaptique de l'hippocampe : 1. La voie perforante 2. La voie des fibres moussues 3. Les collatérales de Schaffer. Schéma adapté de (Daumas, Ceccom et al. 2009).

#### 1.2.4 Les cellules pyramidales

En s'attardant aux types cellulaires de l'hippocampe, il est inévitable d'aborder les travaux de l'historien espagnol Santiago Ramón y Cajal. Les travaux de Ramón y Cajal ont permis d'identifier deux types de neurones dans la corne d'Ammon: les neurones pyramidaux et les neurones non pyramidaux. Les neurones pyramidaux correspondent aux CP, alors que les neurones non-pyramidaux correspondent aux interneurons. Tout d'abord, les CP ont un corps cellulaire triangulaire et sont reconnus pour avoir des axones voyageant sur une longue distance (Ramón y Cajal 1893). Ce type cellulaire excitateur et glutamatergique compose le *stratum pyramidale* des régions CA1, CA2 et CA3 où l'on retrouve les corps cellulaires positionnés côte-à-côte. Elles sont également décrites comme des neurones multipolaires : leur axone se retrouve dans *l'alveus* dans le CA1 et dans le *stratum radiatum* pour le CA3, alors que leurs dendrites basales se retrouvent dans le *stratum oriens* et les dendrites apicales dans les *strata radiatum/ lacunosum moleculare* (Figure 1.3).



**Figure 1.3 - Morphologie de la cellule pyramidale.** Reconstruction d'une cellule pyramidale, en rouge, de la région CA3 de l'hippocampe. (s.o) stratum oriens, (s.p) stratum pyramidale, (s.l) stratum lucidum. Figure adaptée de (Freund and Buzsaki 1996).

### 1.2.5 Les interneurones

Les neurones non pyramidaux, également appelés interneurones (INs), sont le deuxième type de neurones de la corne d'Ammon identifiés par les travaux de Cajal. Au contraire des CP, les INs projettent leur axone localement (Lorente De Nó 1934). Ils sont associés à la transmission inhibitrice GABAergique qui a été validée par la localisation exclusivement interneuronale de l'enzyme GAD (glutamic acid decarboxylase), responsable de la synthèse de l'acide  $\gamma$  - aminobutyrique (GABA) (Ribak, Vaughn et al. 1978). Concernant l'hippocampe, les INs GABAergiques provenant du circuit inhibiteur intrinsèque de l'hippocampe représentent environ 10 à 15% des neurones totaux. Il s'agit d'une population hautement hétérogène avec différents sous-types pouvant être classifiés par leurs propriétés morphologiques, leur connectivité, leurs propriétés électrophysiologiques ainsi que leurs marqueurs moléculaires (Tricoire, Pelkey et al. 2011, Kepecs and Fishell 2014). Dans les prochaines sections, les INs de la région CA1 de l'hippocampe seront abordés puisqu'ils sont le principal sujet de ce mémoire.



### 1.2.5.1 Classification

Il existe une diversité impressionnante de sous-populations d'INs dans la région de CA1. Les travaux de Freund et Buzsaki en 1996 ont été parmi les premiers à faire la revue de tous les types d'INs de l'hippocampe en se basant sur leur anatomie ainsi que sur leur connectivité (Freund and Buzsaki 1996). Cela a ensuite laissé place à d'autres types de classifications. Ainsi, les travaux des deux dernières décennies ont permis d'établir des classifications des INs selon leurs origines développementales, leur profil d'expression moléculaire, leurs propriétés intrinsèques électrophysiologiques ainsi que leur distribution temporelle de décharge (Tricoire, Pelkey et al. 2011, Kepecs and Fishell 2014, Pelkey, Chittajallu et al. 2017, Booker and Vida 2018). La figure 1.4 provenant de la revue de Booker et Vida de 2018 illustre la diversité des INs. Pour la suite de ce mémoire, les INs exprimant la somatostatine (SOM-INs) seront davantage abordés puisqu'ils sont spécifiquement ciblés dans cette étude.

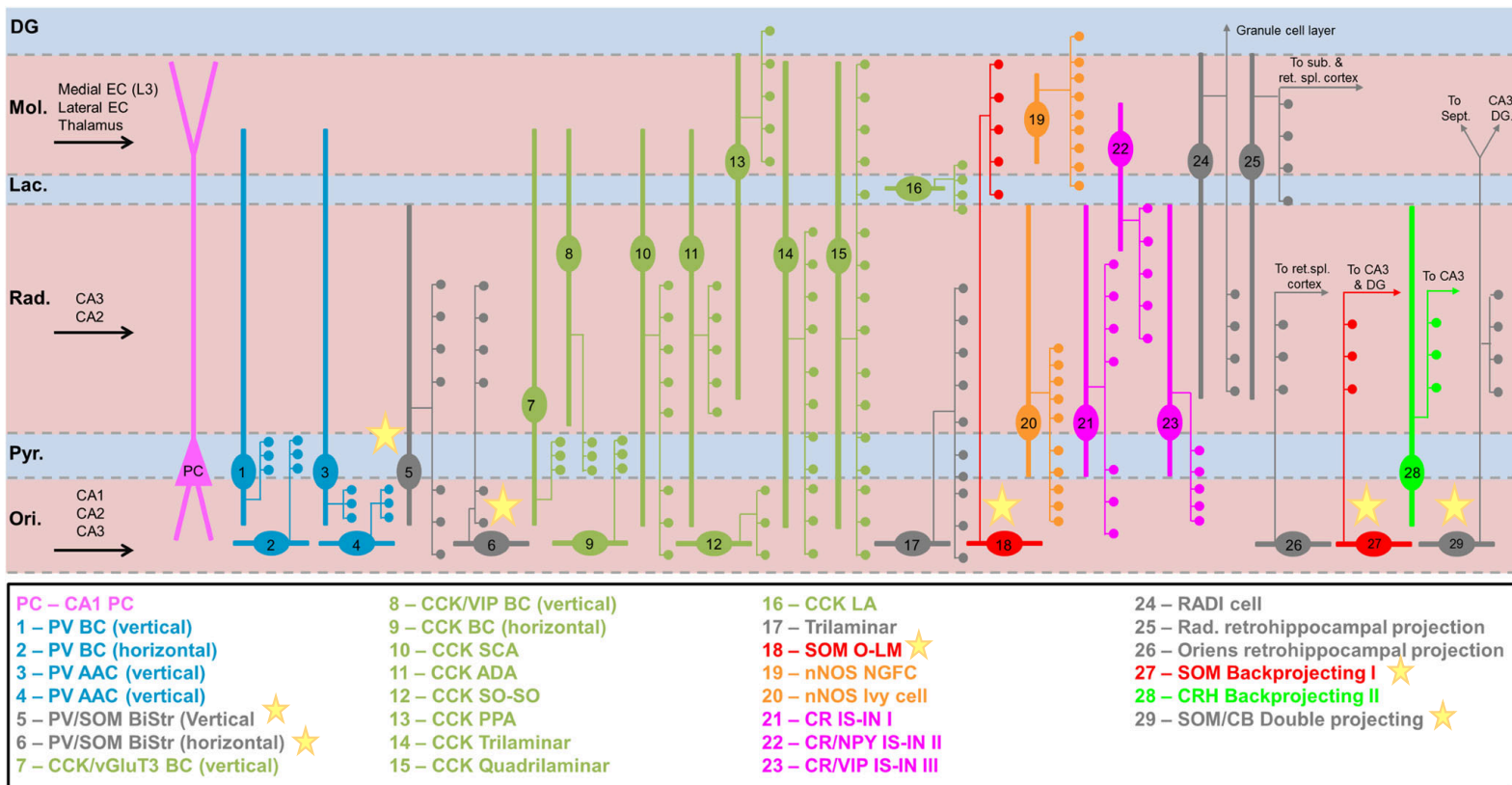


Figure 1.4 - Schéma représentatif des types d'interneurones présents dans la région CA1. Illustration adaptée de (Booker and Vida 2018).

### **1.2.5.2 Les interneurones somatostatinerigiques**

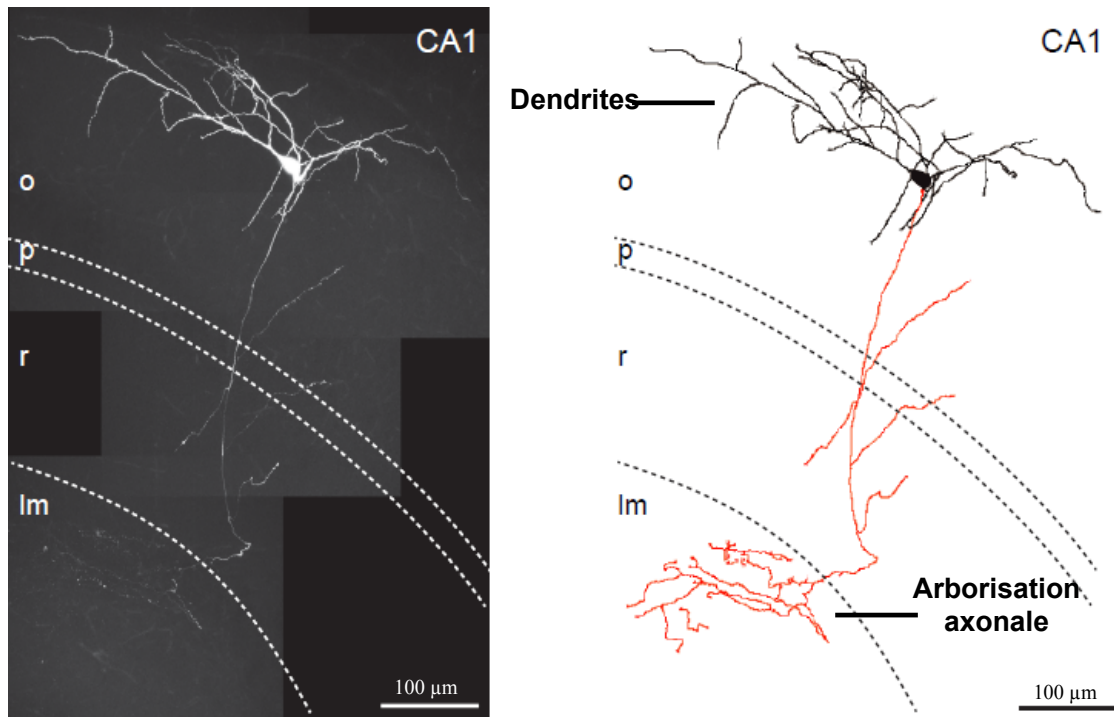
Plusieurs types d'INs de la région du CA1 de l'hippocampe expriment le neuropeptide somatostatine (SST). Les deux types principaux d'INs exprimant ce peptide sont les cellules bistratifiées et les cellules *Oriens-Lacunosum Moleculare* (O-LM).

#### **1.2.5.2.1 Les cellules bistratifiées**

Les cellules bistratifiées sont des INs exprimant la SST ainsi que la parvalbumine (PV) (Baude, Bleasdale et al. 2007). Il existe deux types de cellules bistratifiées : les cellules horizontales (O-BiStr) et les cellules bistratifiées verticales (V-BiStr). Les O-BiStr ont leur soma autour du *stratum pyramidale*. Leur arborisation axonale se ramifie densément dans *les strata oriens* et *radiatum* formant ainsi plusieurs contacts avec les dendrites apicales des CP (Maccaferri, Roberts et al. 2000). Quant aux V-BiStr, leur soma se situe près du *stratum pyramidale* également et leurs dendrites orientées verticalement s'étendent du *stratum oriens* jusqu'au *stratum radiatum* avec quelques dendrites dans le *stratum lacunosum moleculare* (Halasy, Buhl et al. 1996).

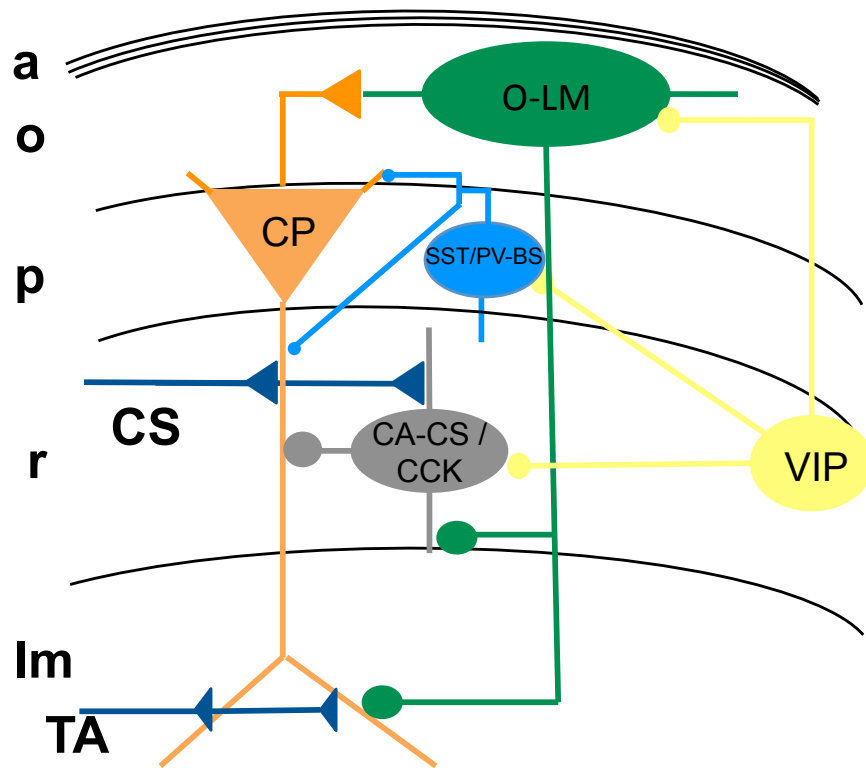
#### **1.2.5.2.2 Les cellules Oriens-lacunosom moleculare (O-LM)**

Les O-LM sont le type cellulaire exprimant la SST le plus étudié dans l'hippocampe. Elles représentent environ 4,5% des INs de l'hippocampe (Bezair and Soltesz 2013). Ce type cellulaire doit son nom à son anatomie bien définie : le corps cellulaire est localisé à la frontière entre l'*alveus* et le *stratum oriens*, les dendrites se retrouvent dans le *stratum oriens* parallèle à l'*alveus*, puis l'axone parcourt les *strata pyramidale* et *radiatum* afin de s'arboriser densément dans la couche *lacunosum moleculare* (Figure 1.5) (Lacaille, Mueller et al. 1987, Maccaferri, Roberts et al. 2000).



**Figure 1.5 - Interneurone O-LM. Image en microscopie confocale d'un interneurone O-LM dans la région CA1 de l'hippocampe.** (o) oriens, (p) pyramidale, (r) radiatum, (lm) lacunosum-moleculaire. Image adaptée de (Artinian, Jordan et al. 2019).

Les afférences excitatrices que reçoivent les O-LM proviennent majoritairement (> 75%) des CP locales du CA1 et génèrent d'importants potentiels post-synaptiques excitateurs (PPSE) chez les O-LM (Blasco-Ibanez and Freund 1995, Ouardouz and Lacaille 1995). Elles reçoivent également des afférences cholinergiques provenant du septum, du noyau septal médial et de la strie diagonale de Broca (Lovett-Barron, Turi et al. 2012, Sun, Nguyen et al. 2014). Les O-LM reçoivent des afférences inhibitrices du septum, mais principalement d'INs locaux exprimant le peptide intestinal vasoactif (VIP) (Figure 1.6). (Tyan, Chamberland et al. 2014).



**Figure 1.6 - Circuit synaptique des SOM-INs de la région CA1 de l'hippocampe.** Schéma simplifié représentant la connectivité entre les divers types de neurones dans la région CA1 de l'hippocampe. Les CP excitent les SOM-INs qui exercent une inhibition sur ces CP. Les SOM-INs inhibent également des INs CCK<sup>+</sup> et les cellules associées aux collatérales de Schaffer. Les SOM-INs sont principalement inhibés par les INs VIP<sup>+</sup>. (a) alveus, (o) oriens, (p) pyramidale, (r) radiatum, (Im) lacunosum moléculaire, (CS) collatérales de Schaffer, (TA) voie temporo-ammonique, (CP) cellule pyramidale, (O-LM) cellule oriens/lacunosum-moléculaire, (SST/PV-BS) parvalbumine/somatostatine-cellules bistratifiées, (CA-CS) cellules associées aux collatérales de Schaffer, (CCK) INs positifs à la cholécystokinine, (VIP) INs positifs au VIP. © Anne-Sophie Racine

Ensuite, l'arborisation axonale dense des O-LM permet d'inhiber principalement les dendrites apicales et basales des CP, mais également des cellules à paniers, des bistratifiées et de plusieurs types d'INs du *stratum radiatum* (Freund and Buzsaki 1996, Elfant, Pal et al. 2008) Ainsi, cette boucle d'excitation-inhibition entre les O-LM et les CP permet de contrôler les décharges en bouffées des CP (Royer, Zemelman et al. 2012). Il est important de mentionner que la temporalité (Jones and Wilson 2005), le mode (Harris, Hirase et al. 2001) et le taux des décharges (Ahmed and Mehta 2009) en bouffées des cellules pyramidales permettent d'acquérir les informations nécessaires pour l'encodage d'un contexte lors d'une tâche d'apprentissage de la peur liée à un contexte. Les O-LM semblent avoir comme fonction de contrôler le mode de décharge des CP (Royer, Zemelman et al. 2012). Les

interneurones exprimant la parvalbumine (PV-INs), qui eux produisent une inhibition péri-somatique, encadrent la temporalité des décharges des CP (Royer, Zemelman et al. 2012). Cela souligne les différents rôles importants de plusieurs types d'INs dans l'hippocampe et la mémoire. L'implication des INs somatostatinergergiques dans la mémoire sera évoquée dans les prochaines sections.

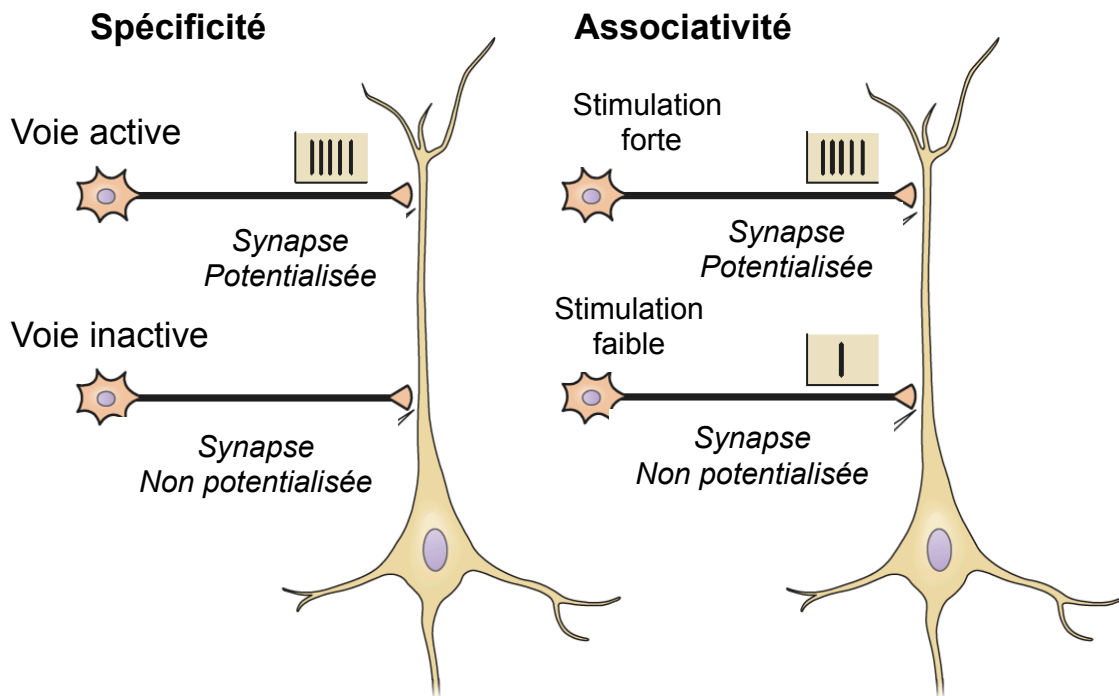
## **1.3 Plasticité synaptique de l'hippocampe**

### ***1.3.1 Définition***

Les phénomènes de plasticité synaptique constituent les substrats physiologiques de l'apprentissage et de la mémoire (Kandel, Dudai et al. 2014). Ils se caractérisent par des changements de l'activité de la synapse qui se manifestent par une augmentation ou une diminution de la transmission synaptique selon des échelles de temps variables, soit à court ou long terme. Dans le système nerveux central (SNC), les deux phénomènes les mieux étudiés sont la potentialisation à long terme (PLT) et la dépression à long terme (DLT). Découverte dans les années 70, la PLT peut être définie comme étant un renforcement synaptique persistant dans le temps obtenu après une certaine stimulation répétée (Bliss and Lomo 1973). La PLT peut, entre autres, être induite par des trains de stimulations à haute fréquence (100 Hz ou plus) ou de façon chimique (Bliss and Lomo 1973, Ran, Laplante et al. 2009). Quant à la DLT, elle est définie comme une diminution de la force synaptique persistante dans le temps à la suite de certaines stimulations (Bear and Abraham 1996). La DLT peut être induite à des synapses inactives pendant que des synapses convergentes sur la même cible post-synaptique que ces dernières sont stimulées à haute fréquence (Levy and Steward 1979). Il s'agit de la DLT hétérosynaptique (Levy and Steward 1979). Il est également possible de générer la DLT lorsqu'une synapse est stimulée à basse fréquence (Teyler and Alger 1976, Dudek and Bear 1992). C'est ce qui est appelé la DLT homosynaptique. La PLT et la DLT peuvent être exprimées par les synapses excitatrices et par les synapses inhibitrices. Leurs mécanismes moléculaires sont multiples et peuvent changer selon le type de la synapse, la région cérébrale étudiée, l'âge, l'état pathologique ainsi que le protocole de conditionnement (Lynch 2004, Kandel, Dudai et al. 2014). Dans le présent mémoire, la PLT sera abordée dans les prochaines sections puisqu'il s'agit de la forme de plasticité synaptique étudiée.

### 1.3.2 PLT associative et dépendante des récepteurs NMDA – collatérales de Schaffer et cellules pyramidales du CA1

Les collatérales de Schaffer, axones des CP du CA3, projettent des afférences excitatrices glutamatergiques sur les CP du CA1. La stimulation à haute fréquence des collatérales de Schaffer entraîne la potentialisation de la transmission glutamatergique aux synapses collatérales de Schaffer – CP du CA1 (Andersen, Sundberg et al. 1977). Cette PLT possède certaines caractéristiques (Figure 1.7). Dans un premier temps, cette PLT est spécifique aux synapses actives. Ainsi, seulement les synapses activées lors de la tétanisation seront potentialisées (Andersen, Sundberg et al. 1977). Cette PLT est également dite «associative», c'est-à-dire, si une synapse est faiblement stimulée et qu'elle est insuffisante pour induire une PLT, une fois couplée à une forte stimulation d'une autre synapse, la PLT sera induite dans les deux synapses (McNaughton, Douglas et al. 1978). Pour terminer, cette LTP est également dite «coopérative» puisqu'une seule synapse peut être fortement stimulée pour générer la PLT ou bien plusieurs synapses peuvent être faiblement stimulées et coopérer afin de générer une PLT (Lee 1983).



**Figure 1.7- Schéma illustrant les propriétés de spécificité et d'associativité de la PLT dépendante des récepteurs NMDA aux synapses CS- CP du CA1. A) Spécificité : seulement les synapses actives seront potentialisées. B) Associativité : La stimulation de la voie 2 n'est pas assez forte pour induire une PLT, alors que la stimulation la voie 1 induit une PLT. Illustration adaptée de (Purves, Augustine et al. 2012).**

Cette PLT est dite hébbienne, c'est-à-dire qu'elle correspond au postulat émis par Donald Hebb en 1949 qui stipule que l'activation de l'élément pré et post synaptique de façon simultanée permet un renforcement de la synapse (Hebb 1949). La PLT aux synapses collatérales de Schaffer – CP du CA1 est dépendante des récepteurs glutamatergique N-méthyl-D-aspartate (NMDA) (Collingridge 1985). Il est bien connu que ces récepteurs sont voltages dépendants en raison de l'ion magnésium ( $Mg^{2+}$ ) obstruant le pore de ce canal ionique. Ainsi, pour que ce récepteur soit activé dans la PLT aux synapses collatérales de Schaffer – CP du CA1, deux conditions doivent être remplies : 1) la libération pré-synaptique du glutamate et sa fixation au récepteur NMDA, 2) une dépolarisation de la membrane post-synaptique pour dégager l'ion  $Mg^{2+}$  du pore du canal (Scharfman and Sarvey 1985). Cela explique donc le caractère hébbien de la PLT ainsi que les caractéristiques de spécificité, d'associativité et de coopérativité (Collingridge 1985). Ainsi, l'ouverture des récepteurs NMDA engendre une entrée massive de calcium ( $Ca^{2+}$ ) dans le neurone post-synaptique permettant d'activer le complexe  $Ca^{2+}$ - calmoduline- kinase II (CaMKII) (Malinow, Madison et al. 1988) et la protéine kinase A (PKA) (Frey, Huang et al. 1993). Ces évènements précédents permettent l'expression de la PLT résultant en une augmentation de libération de glutamate du neurone pré-synaptique ainsi que de la phosphorylation et l'insertion des récepteurs acide  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionique (AMPA) au neurone post-synaptique (Andersen, David Amaral et al. 2007).

La PLT se présente selon deux phases temporelles. La phase précoce nécessite de faibles stimulations pour la générer et survient dans la première heure. Cette phase est indépendante de la synthèse protéique et résulte principalement de la phosphorylation rapide de protéines déjà synthétisées et présentes dans les éléments pré et post synaptiques (Frey, Krug et al. 1988). Au niveau pré-synaptique, il y a une augmentation de la probabilité de relâche de neurotransmetteurs (Stevens and Wang 1994) et une quantité accrue de neurotransmetteur libéré par chaque vésicule à la suite d'un potentiel d'action (Choi, Klingauf et al. 2000). Pour le neurone post-synaptique, il y a une augmentation de la conductance unitaire des récepteurs AMPA (Benke, Luthi et al. 1998) et également l'insertion de nouveaux récepteurs AMPA à la membrane post-synaptique (Hayashi, Shi et al. 2000). La phase tardive de la PLT est induite par des stimuli de plus forte intensité et nécessite l'expression de nouveaux gènes, la synthèse d'ARN messager (ARNm) ainsi que de nouvelles protéines, menant à des changements structuraux durables aux synapses (Kandel, Dudai et al. 2014). Cette phase de PLT peut être maintenue jusqu'à plusieurs jours *in vivo* (Abraham, Mason et al. 1993).

### ***1.3.3 PLT indépendante des récepteurs NMDA – Fibres moussues et cellules pyramidales du CA3***

Afin d'illustrer les différents mécanismes moléculaires de la PLT, la potentialisation des synapses entre cellules granulaires et CP du CA3 sera brièvement abordée. Cette PLT implique le neurone pré-synaptique, la cellule granulaire, et ne requiert pas l'activation des récepteurs NMDA. Elle est produite par un influx de  $Ca^{2+}$  dans la terminaison du pré-synaptique qui active les adénylates cyclases (AC) 1 et 8. Elles vont ensuite augmenter la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC). L'AMPC va permettre d'augmenter la relâche de neurotransmetteur en activant la PKA qui phosphoryle Rab3A et RIM1 $\alpha$ , des protéines associées à l'exocytose de vésicules synaptiques, et en modulant des canaux hyperpolarisants (HCN) (Nicoll and Schmitz 2005).

### ***1.3.4 Plasticité synaptique des interneurones***

Les sections précédentes abordaient la PLT des CP. En effet, la PLT de ces cellules a largement été étudiée dans les 50 dernières années. Longtemps, les chercheurs croyaient que les INs ne pouvaient exprimer une quelconque forme de PLT. Il faudra attendre dans les années 80 pour voir les résultats d'investigation démontrant plusieurs mécanismes de PLT aux synapses excitatrices des INs et ce, sur plusieurs types d'interneurones (Kullmann and Lamsa 2007). Les trois mécanismes de PLT largement étudiés aux synapses excitatrices des INs sont la PLT hébbienne dépendante des récepteurs NMDA, la PLT non-hébbienne dépendante des récepteurs AMPA perméables au calcium (CP-AMPA) ainsi que la PLT hébbienne dépendante des récepteurs glutamatergiques métabotropes de type 1a (mGluR1a) (Topolnik 2012). En raison de la présente étude, seulement la PLT dépendante des mGluR1a sera abordée dans les prochaines sections puisqu'il s'agit du type de PLT étudié dans ce mémoire.

#### ***1.3.4.1 PLT hébbienne dépendant des mGluR1a***

Dans la région CA1 de l'hippocampe, les synapses excitatrices que forment les axones des CP sur les INs positifs à la SST expriment une PLT. Cette PLT nécessite l'activation simultanée de l'élément pré et post-synaptique, d'où le caractère hébbien de cette potentialisation (Perez, Morin et al. 2001). En effet, il doit y avoir une stimulation à hautes fréquences du neurone pré-synaptique couplée à une dépolarisation du neurone post-synaptique pour induire cette PLT (Perez, Morin et al. 2001,



Lapointe, Morin et al. 2004). Par contre, les mécanismes de la PLT des SOM-IN (Figure 1.8) sont différents de ceux de la PLT des PC.

Tout d'abord, plusieurs observations indiquent que cette PLT ne provient pas d'une propagation di-synaptique de la PLT aux synapses collatérales de Schaffer – CP du CA1. Il a été rapporté que l'induction de la PLT avec un protocole de stimulation à haute fréquence du neurone pré-synaptique couplé à une dépolarisation du neurone post-synaptique en présence d'acide 2-amino-5-phosphonoalérique (DL-APV) induit une PLT aux synapses excitatrices des SOM-INS (Perez, Morin et al. 2001). Ce qui n'est pas le cas pour la PLT aux synapses collatérales de Schaffer – CP du CA1 (Morris, Anderson et al. 1986). Cela suggère que les NMDARs ne sont pas impliqués dans la PLT aux synapses excitatrices des SOM-INS. De plus, cette PLT peut être induite aux synapses potentiellement unitaires des SOM-INS activées par stimulation minimale (Perez, Morin et al. 2001, Vasuta, Artinian et al. 2015). Ces éléments soutiennent qu'un mécanisme distinct supporte la PLT aux synapses excitatrices des SOM-INS.

Aussi, il a été démontré qu'il n'est pas possible d'induire la PLT à ces synapses en présence de LY367385, un antagoniste spécifique aux mGluR1a (Perez, Morin et al. 2001). Également, il ne semble pas possible d'induire cette PLT aux synapses excitatrices des SOM-INS de souris transgéniques ayant une délétion pour des gènes des mGluR1 (Lapointe, Morin et al. 2004). Ces observations ont permis d'établir un rôle important des mGluR1a dans cette PLT.

Plusieurs études ont suivi afin d'élucider le mécanisme derrière cette potentialisation. Ainsi, les mGluR1a post-synaptiques seraient activés grâce à la libération pré-synaptique de glutamate ce qui stimulerait les voies de Src et de *l'extracellular signal-regulated kinase* (ERK1/2). Ces voies permettraient l'ouverture des canaux cationiques non spécifiques de type *Transient receptor potential* (TRP) ainsi que la mobilisation de  $Ca^{2+}$  des réserves intracellulaires (Topolnik, Azzi et al. 2006). Ces récepteurs vont permettre l'entrée de  $Ca^{2+}$  dans le neurone post-synaptique (Topolnik, Azzi et al. 2006). Ce type de PLT semble être spécifique à ce type d'INS en raison de leur forte expression de récepteurs mGluR1a (Somogyi and Klausberger 2005). En plus d'être spécifique à un type d'INS, cette PLT est également spécifique aux synapses des SOM-INS ayant des mGluRII en pré-synaptique (Croce, Pelletier et al. 2010).

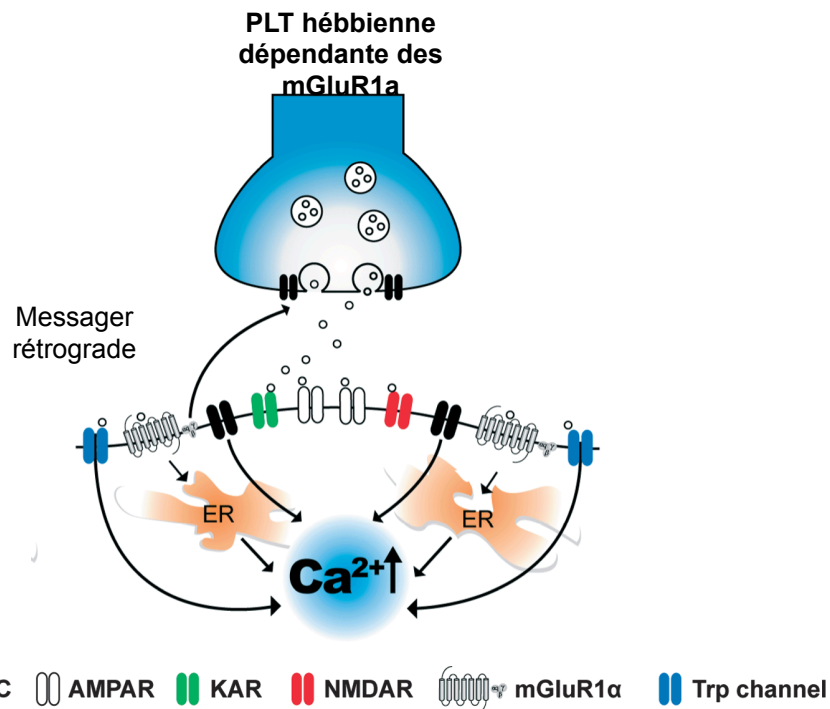
L'expression de cette PLT semble se manifester par des mécanismes pré- et post-synaptiques. Après l'induction de cette PLT aux synapses activées par stimulation minimale, il est possible d'observer, au niveau post-synaptique, une diminution du taux d'échec des courants post-synaptiques

excitateurs (CPSE) et une augmentation de l'amplitude de ceux-ci sans échecs (Perez, Morin et al. 2001, Lapointe, Morin et al. 2004). Ensuite, il y a également des changements du «paired-pulse ratio» (PPR) qui constitue le ratio de l'amplitude du seconde CPSE sur le premier CPSE ce qui évoque des changements au niveau pré-synaptique (Lapointe, Morin et al. 2004).

#### ***1.3.4.1.1 Phase tardive de la PLT hébbienne dépendant des mGluR1a***

Certaines études ont également rapporté une phase tardive de la PLT dépendante mGluR1a (Ran, Laplante et al. 2009, Ran, Laplante et al. 2012, Artinian, Jordan et al. 2019). Cette PLT est inhibée par l'application d'inhibiteurs de la transcription d'ARNm et de la traduction de protéines suggérant la nécessité de ces mécanismes pour la phase tardive (Ran, Laplante et al. 2009). Lors de cette phase, l'activation des mGluR1a engendre le recrutement de la phosphoinositide 3-kinase (PI3K) et la voie ERK/*mitogen-activated protein kinase* (MAPK) résultant en la phosphorylation de *mammalian target of rapamycin complex 1* (mTORC1) (Ran, Laplante et al. 2009). Ensuite, mTORC1 activerait la protéine ribosomique S6 kinase (S6K) ainsi que eIF4E dans le but de générer la traduction de nouvelles protéines (Artinian, Jordan et al. 2019). L'activation des mGluR1a produit également l'activation du facteur de transcription *cAMP response element-binding protein* (CREB) pour la transcription de nouveaux ARNm (Ran, Laplante et al. 2009, Ran, Laplante et al. 2012).

L'expression de la phase tardive de la PLT dépendante des mGluR1a génère également des changements pré- et post-synaptiques. Ces mécanismes ont été étudiés dans des tranches organotypiques d'hippocampe ainsi que dans des tranches aigües d'hippocampe. Lors des expériences avec des tranches organotypiques, une diminution du PPR des CPSE a été évoquée ainsi qu'une augmentation de la fréquence des CPSE miniature ce qui suggère des mécanismes pré-synaptiques (Ran, Laplante et al. 2009, Artinian, Jordan et al. 2019). Ensuite, une augmentation de la *potency* et de l'amplitude des CPSE miniature a été répertoriée suggérant l'implication de mécanismes post-synaptiques (Ran, Laplante et al. 2009, Artinian, Jordan et al. 2019). Lors de l'étude de cette PLT avec des tranches aigües d'hippocampe, l'induction électrique de cette PLT a engendré une augmentation de la *potency* des CPSE et également une diminution du PPR (Artinian, Jordan et al. 2019). Cependant, lors de l'induction chimique de cette PLT dans des tranches aigües, seulement l'augmentation de la *potency* des CPSE a été observée (Artinian, Jordan et al. 2019). L'ensemble de ces observations illustre l'implication de mécanismes pré- et post-synaptiques dans la phase tardive de la PLT dépendante des mGluR1a.



**Figure 1.8 - Schéma illustrant la PLT hébbienne dépendante des mGluR1a.** La libération de glutamate permet l'activation des mGluR1a, KAR et AMPAR. Les mGluR1a activés engendrent l'activation des canaux TRP générant une entrée de  $Ca^{2+}$ . Les réserves intracellulaires sont également sollicitées pour augmenter le  $Ca^{2+}$  dans le neurone post-synaptique pour l'expression de cette PLT. Adaptée de (Topolnik 2012)

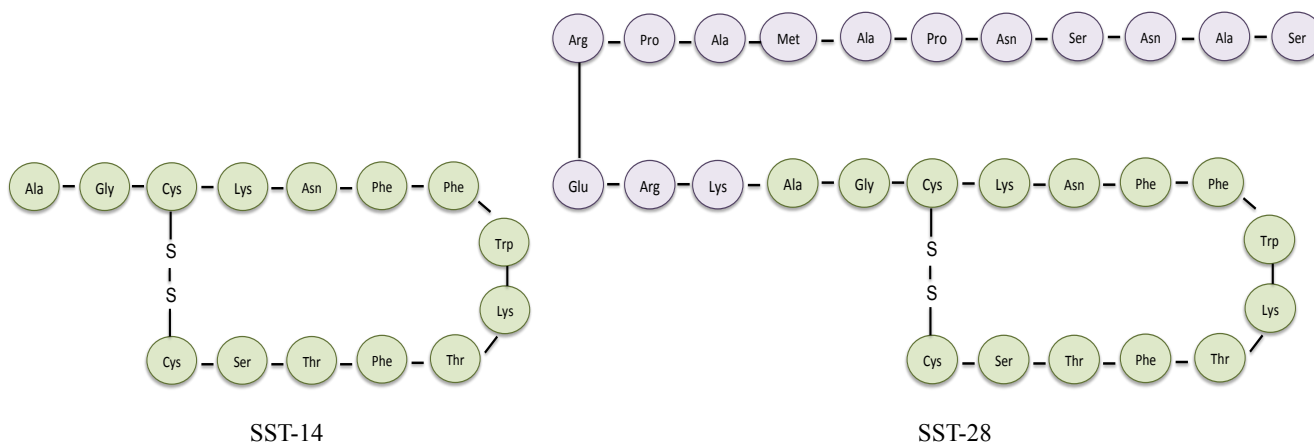
#### ***1.3.4.1.2 Induction de la PLT hébbienne dépendant des mGluR1a***

Quelques études ont permis de démontrer plusieurs façons d'induire ce type de PLT aux synapses excitatrices des INs exprimant la SST. Tout d'abord, la PLT hébbienne dépendante des mGluR1a peut être induite avec un protocole de stimulation électrique qui est constitué de trois trains de stimulation composés de 5 bouffées à 250 ms d'intervalle et chaque bouffée comprend 4 impulsions à 100 Hz (Perez, Morin et al. 2001). Trente secondes séparent chaque train (Perez, Morin et al. 2001). Cette PLT peut également être induite de façon chimique à l'aide d'agent pharmacologique, par l'application de (S)-3,5-dihydroxyphenylglycine (DHPG) un agoniste des mGluR1 et 5, en présence du 2-méthyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP), un antagoniste des mGluR5 (Ran, Laplante et al. 2009). La stimulation pharmacologique est répétée trois fois à 30 min d'intervalle (Ran, Laplante et al. 2009). Ce type de protocole permet d'induire une phase tardive de PLT dépendante de la voie

PI3K/AKT1mTORC1 pour la transcription et la traduction de protéine (Ran, Laplante et al. 2009). De plus, l'apprentissage contextuel lié à la peur peut également induire cette PLT dépendante des mGluR1a et de mTORC1 aux synapses excitatrices des SOM-INs dans la région CA1 (Artinian, Jordan et al. 2019).

### 1.4. La somatostatine

La SST est un peptide ayant été découvert et isolé de l'hypothalamus d'ovins dans les années 70 par un groupe de chercheurs du Salk Institute en Californie (Brazeau, Vale et al. 1973). Ces derniers étudiaient l'hormone de croissance et souhaitaient isoler le facteur pouvant favoriser la libération de cette hormone (Brazeau, Vale et al. 1973). C'est ainsi qu'ils sont parvenus à isoler la «somatotropin-release inhibiting factor» (SRIF), c'est-à-dire la SST qui a pour fonction primaire d'inhiber l'hormone de croissance (Brazeau, Vale et al. 1973). La SST isolée comporte 14 acides aminés (SST-14). Quelques années plus tard, une seconde isoforme de la SST composée de 28 acides aminés a été isolée du duodénum de porc (Pradayrol, Jornvall et al. 1980) (figure 1.9). Les deux isoformes proviennent du même gène et sont générées via un clivage alternatif d'une préproprotéine (Epelbaum 1986). Il est à noter que la SST-28 a été identifiée également dans le SNC, mais l'isoforme la plus présente dans le SNC demeure la SST-14 (Epelbaum 1986).



**Figure 1.9 Illustration des deux isoformes de la SST selon leur composition en acide aminé.** SST-14 : somatostatine 14, SST-28 : somatostatine 28. © Anne-Sophie Racine

### 1.4.1 Les récepteurs de la somatostatine

La SST se lie à 5 types de récepteurs (SST<sub>1-5</sub>) à 7 passages transmembranaires couplés à des protéines G (tableau I) (Liguz-Leczna, Urban-Ciecko et al. 2016). Les 5 récepteurs ont été identifiés dans l'hippocampe, structure d'intérêt dans le présent mémoire. Les récepteurs 2, 4 et 5 sont localisés de façon post-synaptique, alors que le récepteur 1 est localisé de façon pré-synaptique et le récepteur 3 extrasynaptique (Liguz-Leczna, Urban-Ciecko et al. 2016). Les cinq types de récepteurs sont tous localisés sur des gènes différents situés sur des chromosomes différents. L'homologie de leur séquence d'ADN codant pour ces récepteurs varie entre 39-57% (Olias, Viollet et al. 2004). Malgré leur divergence, l'activation de ces 5 récepteurs possède certaines cibles de signalisations métabotropes communes : inhibition AC, activation phosphotyrosine phosphatase (PTP) et MAPK. Les cibles particulières à chaque récepteur se retrouvent dans le tableau II (Liguz-Leczna, Urban-Ciecko et al. 2016).

**Tableau I - Localisation des récepteurs et effecteurs de voies métabotropes**

	SST <sub>1</sub>	SST <sub>2</sub>	SST <sub>3</sub>	SST <sub>4</sub>	SST <sub>5</sub>
<b>Affinité pour SST<sub>14</sub> et SST<sub>28</sub></b>	SST <sub>14</sub> = SST <sub>28</sub>	SST <sub>14</sub> = SST <sub>28</sub>	SST <sub>14</sub> = SST <sub>28</sub>	SST <sub>14</sub> = SST <sub>28</sub>	SST <sub>14</sub> < SST <sub>28</sub>
<b>Famille protéine G couplée aux récepteurs</b>	G <sub>i</sub> / G <sub>o</sub>	G <sub>i</sub> / G <sub>o</sub> G <sub>q</sub> / G <sub>11</sub>	G <sub>i</sub> / G <sub>o</sub> G <sub>q</sub> / G <sub>11</sub>	G <sub>i</sub> / G <sub>o</sub>	G <sub>i</sub> / G <sub>o</sub> G <sub>q</sub> / G <sub>11</sub>
<b>Effecteurs spécifiques à chaque récepteur</b>	PLC NHEI canaux Ca <sup>2+</sup> canaux K <sup>+</sup> AMPA/Kainate	PLC PLD canaux Ca <sup>2+</sup> canaux K <sup>+</sup> AMPA/Kainate	PLC NHEI canaux K <sup>+</sup>	PLC NHEI PLA canaux Ca <sup>2+</sup> canaux K <sup>+</sup>	canaux Ca <sup>2+</sup> canaux K <sup>+</sup>
<b>Localisation synaptique</b>	Principalement présynaptique	Post-synaptique	Extra-synaptique	Post-synaptique	Post-synaptique

**Abréviations :** PLC – phospholipase C, NHEI – Na<sup>+</sup>/ H<sup>+</sup> échangeur d'ions, PLD – phospholipase D, PLA – phospholipase A. Adapté de (Liguz-Leczna, Urban-Ciecko et al. 2016).

### 1.4.2 Effets de la somatostatine dans l'hippocampe

La SST est emmagasinée dans de larges vésicules de sécrétion plus loin de la zone active que les neurotransmetteurs classiques. Tout comme les autres neuropeptides, des potentiels d'actions à haute fréquence sont nécessaires pour engendrer la libération de la SST. Il a été démontré que l'action de la SST prend plus de temps à être présente et qu'elle perdure davantage dans le temps que les neurotransmetteurs classiques (Baraban and Tallent 2004). Les travaux de Fontana et al, en 1996, ont

suggéré que le glutamate engendrait la libération de SST via l'activation des récepteurs ionotropiques NMDA et AMPA (Fontana, De Bernardi et al. 1996).

La SST peut agir via des mécanismes pré- et post-synaptiques. Les effets observés de la SST peuvent sembler contradictoires. Tout d'abord, SST aurait un effet principalement inhibiteur en hyperpolarisant les CP grâce à l'activation de courants potassiques de type M et de courants potassiques de fuite (Pittman and Siggins 1981, Moore, Madamba et al. 1988, Schweitzer, Madamba et al. 1998). Il a également été suggéré que la SST diminuerait la densité des épines dendritiques suite à une application prolongée sur les cellules en culture (Hou and Yu 2013). Cependant, il a également été démontré que la SST pouvait également avoir un effet excitateur sur les CP en induisant la dépolarisation membranaire, en augmentant les potentiels post-synaptiques excitateurs (PPSE) ainsi que l'activité spontanée et évoquée (Olpe, Balcar et al. 1980, Delfs and Dichter 1983, Scharfman and Schwartzkroin 1989). La SST potentialise également la PLT aux synapses de la voie perforante et des cellules granulaires du GD (Nakata, Saito et al. 1996). Ainsi, les actions répertoriées de la SST sont multiples et parfois contradictoires. Cela pourrait être en partie dû à la différence des doses de SST utilisées d'une étude à une autre, l'endroit sur la cellule où la SST est appliquée, le type d'enregistrement effectué et le type de préparation d'hippocampe. Les mécanismes d'action de la SST demeurent donc d'actualité à investiguer.

### ***1.4.3 La somatostatine et la mémoire***

Depuis les années 80, le rôle de la SST dans la mémoire a été examiné dans plusieurs études. Tout d'abord, certaines études ont rapporté un effet de la SST lors de tâches comportementales dépendantes de l'hippocampe. Les premières expérimentations ont été effectuées lors de tâches d'évitement actif (« active avoidance task ») chez le rat (Vecsei, Kiraly et al. 1984). Il s'agit d'une tâche où l'animal doit apprendre à se déplacer vers une seconde pièce afin d'éviter une décharge électrique couplée à un signal sonore ou visuel (Jänicke and Coper 1996). Le déplacement du rat en réponse au signal sonore ou visuel afin d'éviter le choc électrique est le comportement conditionné. Les chercheurs ont ensuite mesuré l'extinction du comportement conditionné, en présentant le signal sonore ou visuel seul. Il a été rapporté que les rats injectés de façon intracérébrovasculaire avec de la SST avaient une diminution de l'extinction de l'évitement actif (Vecsei, Kiraly et al. 1984). D'un autre côté, l'injection de la cystéamine, un composé réduisant les réserves de SST, avait comme effet d'augmenter l'extinction de l'évitement passif suggérant possiblement moins de mémoire concernant

le comportement conditionné (Vecsei, Kiraly et al. 1984). Cette expérience permet d'émettre l'hypothèse que la SST pourrait avoir un rôle dans la mémoire. Le même groupe de chercheurs a également étudié l'amnésie induite par les décharges électriques lors des tâches d'évitement actif (Vecsei, Bollok et al. 1983, Vecsei, Kiraly et al. 1984). Ils ont pu conclure que la SST préviendrait l'amnésie induite par les électrochocs lors de ces tâches.

Ensuite, l'effet de la diminution des réserves de SST par la cystéamine a été étudié lors de la tâche d'évitement passif (« passive avoidance task ») (Bakhit and Swerdlow 1986, Martel, Dutar et al. 2012). Pour cette tâche, le rat est placé dans un compartiment bien éclairé et il doit apprendre à y rester afin d'éviter le choc dans le compartiment sombre. Les résultats obtenus suggèrent fortement que la diminution de SST engendre des déficits de mémoire lors de cette tâche (Bakhit and Swerdlow 1986). Inversement, l'injection de SST améliore les performances des rats lors de ce même test (Vecsei and Widerlov 1988). Cela vient encore une fois soutenir l'hypothèse de l'implication de la SST dans la mémoire. De plus, les chercheurs d'une autre étude se sont intéressés à la période de consolidation de la mémoire dans la tâche d'évitement passif. Ces derniers ont administré la cystéamine dans la période critique après l'apprentissage pour ensuite effectuer la tâche à nouveau 72 heures plus tard (Haroutunian, Mantin et al. 1987). Les résultats obtenus illustrent des déficits de mémoire reliés de façon dépendante à la dose de cystéamine reçue (Haroutunian, Mantin et al. 1987).

En s'attardant spécifiquement au gène de la SST, des souris transgéniques ayant une délétion du gène de la SST éprouvent des déficits de mémoire associée au contexte par la peur, alors que l'apprentissage auditif lié à la peur demeure intact (Kluge, Stoppel et al. 2008). Il est intéressant de mentionner que ces déficits de mémoire associée au contexte par la peur sont plus importants chez la souris ayant une double délétion pour le gène de la SST que pour une souris ayant une simple délétion de ce gène (Kluge, Stoppel et al. 2008). De plus, la PLT aux synapses des collatérales de Schaffer avec les CP du CA1 est moindre chez ces souris transgéniques ayant une double délétion du gène de la SST que chez les souris contrôle (Kluge, Stoppel et al. 2008). Cela permet de soutenir l'implication possible de la SST dans la mémoire puisqu'en plus de déficits dans des tâches de mémoire dépendante de l'hippocampe, l'altération de la plasticité synaptique est également rapportée chez une souris ayant une délétion du gène de la SST (Kluge, Stoppel et al. 2008).

Finalement, une étude s'est attardée aux SST<sub>1-5</sub> afin d'étudier le rôle de la SST dans la mémoire. Les chercheurs ont combiné une approche pharmacologique et des tâches comportementales. Ils ont démontré que l'injection d'un agoniste du SST<sub>4</sub> engendre des déficits de mémoire spatiale, mais

améliore la mémoire indicée (Gastambide, Viollet et al. 2009). Cependant, l'injection d'agoniste des récepteurs SST<sub>1</sub>, SST<sub>2</sub> ou SST<sub>3</sub> n'impacte pas ces types de mémoire (Gastambide, Viollet et al. 2009). L'étude suggère un rôle potentiel du SST<sub>4</sub> dans la sélection des stratégies de l'apprentissage (Gastambide, Viollet et al. 2009).

Plusieurs études comportementales ont donc suggéré l'implication de ce peptide dans la mémoire. Toutefois, dans la présente étude, le rôle de ce peptide à l'échelle cellulaire/synaptique sera investigué afin de déterminer les possibles mécanismes d'action de la SST dans la PLT, un des mécanismes cellulaires impliqué dans l'apprentissage et la mémoire.



**Chapitre 2**  
**Objectifs du mémoire**

## 2.1 Objectifs du mémoire

Les INs GABAergiques sont essentiels dans la régulation des circuits synaptiques. Il est possible de distinguer de nombreux sous-types d'INs inhibiteurs sur la base de critères morphologiques, moléculaires et physiologiques (Tricoire, Pelkey et al. 2011). Parmi ceux-ci, la sous-population exprimant la SST dans la région CA1 de l'hippocampe, les SOM-INs, est connue pour moduler, en partie, l'activité des CP via l'inhibition dendritique (Lovett-Barron, Turi et al. 2012). La plasticité synaptique de ces INs a été grandement étudiée au cours des dernières années afin de mieux comprendre le rôle de cette sous-population de cellules inhibitrices (Perez, Morin et al. 2001, Topolnik, Azzi et al. 2006). L'un de ces mécanismes de plasticité synaptique est la PLT hébbienne dépendante des mGluR1a survenant aux synapses excitatrices des SOM-INs (Perez, Morin et al. 2001). Cette PLT est spécifique aux SOM-INs en raison de leur forte expression des mGluR1a (Perez, Morin et al. 2001) et possède également une phase persistante dépendante de la transcription et de la voie PI3K/AKT/mTORC1 pour la traduction des protéines (Ran, Laplante et al. 2009).

Dans un second temps, cette PLT a été examinée pour son implication directe dans l'apprentissage et la mémoire. En effet, l'apprentissage du contexte lié à la peur induit la PLT dépendante des mGluR1a (Artinian, Jordan et al. 2019). De plus, la régulation à la hausse ou la baisse de mTORC1 spécifiquement dans les SOM-INs affecte la consolidation de la mémoire spatiale et du contexte associé à la peur (Artinian, Jordan et al. 2019). La SST a également été étudiée dans divers contextes d'apprentissage suggérant un rôle de ce peptide dans la mémoire (Vecsei, Bollok et al. 1983, Vecsei, Kiraly et al. 1984, Kluge, Stoppel et al. 2008, Gastambide, Viollet et al. 2009).

Considérant les informations précédentes sur la plasticité synaptique des SOM-INs et sur le peptide SST, quelques questions s'imposent. Est-ce que la SST endogène a un rôle dans la plasticité synaptique de ces INs dont la PLT dépendante des mGluR1a? Est-ce que la SST exogène pourrait avoir un effet quelconque aux synapses excitatrices des SOM-INs? Ce sont des questions importantes afin de comprendre le rôle de ce type d'INs et l'importance de ce peptide dans les fonctions de ces INs. Ainsi, le présent mémoire a pour objectifs i) d'étudier l'implication de la SST endogène dans la PLT dépendante des mGluR1a, et ii) d'examiner les actions de la SST exogène aux synapses excitatrices des SOM-INs ainsi que les mécanismes impliqués.

Afin de réaliser ces objectifs, l'implication de la SST endogène dans la PLT dépendante des mGluR1a sera testée de deux façons : 1) à l'aide d'un antagoniste des récepteurs de la SST, et 2) en affectant directement les réserves endogènes de ce peptide. De plus, l'effet de l'application du peptide

exogène SST-14 sera étudié aux synapses excitatrices des SOM-INs, ainsi que son mécanisme d'action, grâce à une combinaison d'approches électrophysiologiques et pharmacologiques.

Dans son ensemble, le présent mémoire démontre un rôle de la SST dans la PLT dépendante des mGluR1a. De plus, la SST engendre une potentialisation d'au moins 30 minutes aux synapses excitatrices des SOM-INs. Cette potentialisation serait possible grâce à un mécanisme indirect impliquant l'inhibition de ces synapses via le récepteur GABA<sub>A</sub>. En somme, ce mémoire suggère un rôle du peptide SST dans la plasticité synaptique des interneurons somatostatinerigiques qui pourrait sous-tendre son implication dans l'apprentissage et la mémoire dépendante 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. Anne-Sophie Racine a effectué toutes les expériences d'électrophysiologie. François-Xavier Michon a contribué en effectuant certains enregistrements d'électrophysiologiques. Isabel Laplante a effectué les expériences d'immunofluorescence. La rédaction de l'article a été effectuée par Anne-Sophie Racine et révisée par les coauteurs. Toutes les figures ont également été réalisées par Anne-Sophie Racine.

## **Chapitre 3**

**La somatostatine contribue à la potentialisation à long terme aux synapses excitatrices des interneurons somatostatinerigiques de l'hippocampe**

**Somatostatin contributes to long-term potentiation at excitatory synapses onto hippocampal somatostatinergic interneurons**

Anne-Sophie Racine, François-Xavier Michon, Isabel Laplante, Jean-Claude Lacaille

Centre for Interdisciplinary Research on Brain and Learning, Research Group on the Central Nervous System, Department of Neurosciences, Université de Montréal, P.O. Box 6128, Station Downtown, Montreal, Qc H3C 3J7, Canada

Article préparé pour soumission à *Molecular Brain*

### 3.1 Abstract

Somatostatin-expressing interneurons (SOM-INs) are a major subpopulation of GABAergic cells in CA1 hippocampus that receive excitation from pyramidal cells (PCs), and, in turn, provide feedback inhibition onto PC dendrites. Excitatory synapses onto SOM-INs show a Hebbian long-term potentiation (LTP) mediated by type 1a metabotropic glutamate receptors (mGluR1a) that is implicated in hippocampus-dependent learning. The neuropeptide somatostatin (SST) is also critical for hippocampal long-term synaptic plasticity, as well as learning and memory. SST effects on hippocampal PCs are well documented, but its actions on inhibitory interneurons remain largely undetermined. In the present work, we investigate the involvement of SST in long-term potentiation of CA1 SOM-IN excitatory synapses using pharmacological approaches targeting the somatostatinergic system and whole cell recordings in slices from transgenic mice expressing eYFP in SOM-INs. We report that application of exogenous SST-14 induces long-term potentiation of excitatory postsynaptic potentials synapses of SOM-INs via somatostatin type 1-5 receptors (SST<sub>1-5</sub>) but does not affect synapses of PC or parvalbumin-expressing interneurons (PV-INs). Hebbian LTP in SOM-INs was prevented by inhibition of SST<sub>1-5</sub> and by depletion of SST by cysteamine treatment, suggesting a critical role of endogenous SST in LTP. LTP of SOM-IN excitatory synapses induced by SST-14 was independent of NMDAR and mGluR1a, activity-dependent, and prevented by blocking GABA<sub>A</sub> receptor function. Our results indicate that endogenous SST may contribute to Hebbian LTP at excitatory synapses of SOM-INs by controlling GABA<sub>A</sub> inhibition, uncovering a novel role for SST in regulating long-term synaptic plasticity in somatostatinergic cells that may be important for hippocampus-dependent memory processes.

#### KEYWORDS

GABA interneurons; Somatotropin-release inhibitory factor - SRIF; whole cell recordings; cysteamine; SST<sub>1-5</sub> receptors; disinhibition; GABA<sub>A</sub> inhibition; Hebbian LTP

## 3.2 Introduction

Hippocampal GABAergic interneurons are highly heterogeneous with different types distinguished according to their morphology, connectivity, physiologic characteristics, and molecular markers (Tricoire, Pelkey et al. 2011). Somatostatin-expressing interneurons (SOM-INs) are a major subpopulation of GABAergic cells (Freund and Buzsaki 1996). Characteristically, CA1 SOM-INs receive a major excitation from local pyramidal cells (PCs), and, in turn, provide feedback inhibition onto dendrites of PCs (Pelkey, Chittajallu et al. 2017). SOM-INs are comprised of distinct subtypes, including the Oriens-Lacunosum/Moleculare (O-LM) cells, bistratified cells, and also projection cells with additional subicular, retro-hippocampal or septal projections (Bezaire and Soltesz 2013, Pelkey, Chittajallu et al. 2017). SOM-INs regulate PC synaptic integration (Lovett-Barron, Turi et al. 2012), action potential rate and burst firing (Royer, Zemelman et al. 2012) as well as synaptic plasticity (Leao, Mikulovic et al. 2012, Vasuta, Artinian et al. 2015, Artinian, Jordan et al. 2019), and play a critical role in contextual fear learning (Lovett-Barron, Kaifosh et al. 2014, Sharma, Sood et al. 2020).

A notable feature of CA1 SOM-INs is the long-term plasticity occurring at their excitatory synapses. These synapses show a Hebbian long-term potentiation (LTP) mediated by type 1a metabotropic glutamate receptors (mGluR1a) (Perez, Morin et al. 2001, Vasuta, Artinian et al. 2015, Booker and Vida 2018). Excitatory synapses onto parvalbumin-expressing interneurons (PV-INs) do not display this form of long-term plasticity (Vasuta, Artinian et al. 2015). In addition, SOM-INs excitatory synapses show a late form of mGluR1a-dependent LTP, that can last from a few to 24 hours and involves mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) mediated translation (Ran, Laplante et al. 2009, Ran, Laplante et al. 2012, Artinian, Jordan et al. 2019). Interestingly, cell-specific conditional down-regulation of mTORC1 in SOM-INs impairs late mGluR1a-dependent LTP, as well as contextual fear and spatial memory consolidation (Artinian, Jordan et al. 2019). Conversely, conditional up-regulation of mTORC1 activity in SOM-INs facilitates late mGluR1a-dependent LTP, as well as hippocampal-dependent memory (Artinian, Jordan et al. 2019). Contextual fear learning induces mGluR1a- and mTORC1-dependent LTP at SOM-IN excitatory synapses, suggesting a critical implication of SOM-IN long-term synaptic plasticity in hippocampal learning and memory (Artinian, Jordan et al. 2019). More recently, cell-specific conditional knock-in of the non-phosphorylatable translation initiation factor eIF2 $\alpha$  (eIF2 $\alpha^{S51A}$ ) in SOM interneurons was found to upregulate general mRNA translation in these cells and be sufficient to gate CA1 network plasticity and increase long-

term contextual fear memory, further supporting a critical role of SOM-INs in hippocampal long-term memory consolidation (Sharma, Sood et al. 2020).

Somatostatin (SST; also known as somatotropin-release inhibitory factor, SRIF) is a peptide expressed in central nervous system. It was first discovered in the hypothalamus where it exerts an inhibitory action on growth hormone (Brazeau, Vale et al. 1973). SST is implicated in multiple brain functions like olfaction, vision, cognition and locomotion, as well as in pathologies such as Alzheimer's disease, schizophrenia and major chronic depression (Martel, Dutar et al. 2012). SST acts via five metabotropic receptors (SST<sub>1-5</sub>) that are coupled to G proteins and target many effectors (Gunther, Tulipano et al. 2018). SST<sub>1-5</sub> have a wide distribution in brain with overlapping regional localization of receptor types (Schulz, Handel et al. 2000). In the hippocampus, mRNA for all five SST<sub>1-5</sub> is present, although expression is weaker for SST<sub>5</sub> (Spary, Maqbool et al. 2008, Zou, Somvanshi et al. 2017). Subcellular localization of SST<sub>1-5</sub> is highly specific to the receptor type. SST<sub>1</sub> is targeted pre-synaptically to axons, while SST<sub>2,4,5</sub> are mostly distributed post-synaptically to neuronal somata and dendrites, and SST<sub>3</sub> appears excluded from classic pre- and post-synaptic sites (Schulz, Handel et al. 2000). Consistent with the subcellular localization of its receptors, SST modulates neuronal activity via both pre- and post-synaptic mechanisms (Martel, Dutar et al. 2012, Gunther, Tulipano et al. 2018). In the hippocampus, SST hyperpolarizes PCs by activation of two distinct K<sup>+</sup> currents (M-current and voltage-insensitive leak current) (Pittman and Siggins 1981, Moore, Madamba et al. 1988, Schweitzer, Madamba et al. 1998). SST also induces a presynaptic inhibition of excitatory synaptic transmission in hippocampal PCs (Tallent and Siggins 1997). The presynaptic inhibition may involve a G-protein mediated inhibition of N-type voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels (Ishibashi and Akaike 1995, Baratta, Lamp et al. 2002) and activation of presynaptic K<sup>+</sup> channels (Tallent and Siggins 1997). Although SST presynaptic inhibition of hippocampal excitatory synaptic transmission is well documented, presynaptic inhibition of GABAergic inhibitory synaptic transmission has also been reported (Scharfman and Schwartzkroin 1989) as in other brain regions (Momiya and Zaborszky 2006).

SST is critical for hippocampal long-term synaptic plasticity, as well as learning and memory. Depletion of SST by cysteamine treatment, or knock-out of the SST gene in transgenic mice, impairs contextual fear memory but not auditory fear learning (Kluge, Stoppel et al. 2008). The memory impairment is associated with a decrease in LTP in CA1 PCs (Kluge, Stoppel et al. 2008). Interestingly, blocking LTP at excitatory synapses of SOM-INs was found to impair contextual fear



memory and facilitation of LTP in PCs by SOM-INs (Artinian, Jordan et al. 2019). The analogous effects of manipulating SST or SOM-IN synaptic plasticity on contextual fear memory and PC synaptic plasticity, suggest a possible link between SST and long-term plasticity at SOM-IN excitatory synapses.

Here, we investigate the involvement of SST in long-term potentiation of CA1 SOM-IN excitatory synapses using pharmacological approaches targeting the somatostatinergic system and whole cell recordings in slices from transgenic mice expressing eYFP in SOM-INs. We report that application of exogenous somatostatin-14 (SST-14) induces long-term potentiation of excitatory postsynaptic potentials (EPSPs) of SOM-INs via SST<sub>1-5</sub>, but not of PC and PV-IN synapses. Also, Hebbian LTP in SOM-INs was prevented by inhibition of SST<sub>1-5</sub> and depletion of SST by cysteamine treatment, suggesting a critical role of endogenous SST in LTP. LTP of SOM-IN synapses induced by SST-14 was independent of NMDAR and mGluR1a, activity-dependent, and prevented by blocking GABA<sub>A</sub> receptor function. Our results indicate that endogenous SST may contribute to Hebbian LTP at excitatory synapses of SOM-INs by controlling GABA<sub>A</sub> inhibition, uncovering a novel role for SST in regulating long-term synaptic plasticity in somatostatinergic cells that may be important for hippocampus-dependent memory processes.

### **3.3 Materials and methods**

#### **3.3.1 Animals**

All animal procedures and experiments were performed in accordance with Université de Montréal Animal Care Committee (Comité de déontologie de l'expérimentation sur les animaux, CDEA) and followed the guidelines of the Canadian Council on Animal Care. Experiments were carried out on mice (5-8 week-old males for electrophysiology, and from both sexes for immunofluorescence). Mice were housed 2–5 per cage and given *ad libitum* access to food and water, in temperature (~22°C) and humidity (~55%) controlled rooms with a normal 12h light/dark cycle.

### **3.3.2 Transgenic mice lines**

Transgenic mice expressing Cre-dependent enhanced yellow fluorescent protein (eYFP) in SOM-INs (SOM-eYFP mice) were generated by crossing a knock-in mouse with an internal ribosome entry site (IRES)-linked Cre recombinase gene downstream of the *Sst* locus (*Sst*<sup>ires-Cre</sup>; The Jackson laboratory, Bar Harbour, ME JAX #013044) with *Rosa26*<sup>Isl-eYFP</sup> reporter mice (Ai3; JAX #007903). Mice expressing eYFP in parvalbumin interneurons (PV-eYFP mice) were generated by crossing *Pvalb*<sup>ires-Cre</sup> mice (JAX #008069) with *Rosa26*<sup>Isl-eYFP</sup> reporter mice (Ai3; JAX #007903).

### **3.3.4 Cysteamine injection**

To study somatostatin depletion, SOM-eYFP mice were injected intraperitoneally (IP) with 150 mg/kg cysteamine (Sigma-Aldrich; M6500) or saline (Srikant and Patel 1984). Cysteamine was diluted with bacteriostatic NaCl 0.9% (Hospira). After 4 hours, mice were anaesthetized with isoflurane inhalation and then decapitated to obtain acute hippocampal slices, as described below. Some mice were deeply anesthetized with sodium pentobarbital (MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario, Canada) and were perfused transcardially, first with ice-cold 0.1M phosphate buffer (PB), then with 4% para-formaldehyde in 0.1M PB (PFA) and the brain isolated. Post-fixed brains were cryoprotected in 30% sucrose and coronal brain sections (50 µm thick) were obtained for immunofluorescence.

### **3.3.5 Acute hippocampal slice preparation**

SOM-eYFP or PV-eYFP mice were anaesthetized with isoflurane inhalation and then decapitated. The brain was rapidly removed and placed in ice-cold sucrose-based solution containing (in mM): 75 sucrose, 87 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 7 MgSO<sub>4</sub>, 0.5 CaCl<sub>2</sub>, 11.6 ascorbic acid, 3.1 pyruvic acid, 25 D-glucose et 25 NaHCO<sub>3</sub> (pH 7.3 ± 0.05; 300 ± 5 mOsmol/L). A block of tissue containing the hippocampus was obtained from each hemisphere and 300 µm thick transverse hippocampal slices were prepared with a Leica VT1000S vibratome. Slices were transferred for a 30 minute recovery period in artificial cerebrospinal fluid (ACSF) containing the following (in mM) 124 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 26 NaHCO<sub>3</sub>, 1.3 MgSO<sub>4</sub>, 10 D-glucose, 2.5 CaCl<sub>2</sub> (pH 7.3–7.4, 295–305 mOsmol/L) at 30°C and subsequently maintained at room temperature (20–22°C) for at least 60

min, until use. Both cutting solution and ACSF were saturated with 95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>.

### ***3.3.6 Cysteamine treated acute hippocampal slices***

Hippocampal slices were obtained as above and transferred in oxygenated ACSF containing cysteamine (200 μM) or ACSF alone, for 1 hour at room temperature. Slices were then used for electrophysiological whole cell recording (as described below) or fixed overnight at 4°C with 4% PFA, rinsed with PB 0.1M, cryoprotected in 30% sucrose/PB 0.1M and re-sectioned (50 μm) using a freezing microtome (Leica SM200R, Germany) for immunofluorescence.

### ***3.3.7 Whole-cell current clamp recordings***

Slices were transferred to a submersion chamber perfused with ACSF (3-4 ml/min) at 31 ± 0.5°C. CA1 interneurons expressing eYFP, or pyramidal cells not expressing eYFP, were identified using an upright microscope (Zeiss Axioskop, Toronto, Canada) with a water-immersion long-working distance objective (40X N-Achroplan, Zeiss, Toronto, Canada), epifluorescence lamp (FluoArc N HBO 103, Zeiss, Toronto, Canada) and an infrared digital video camera (Infinity 3, Lumenera, Ottawa, Canada). Whole-cell current clamp recordings were obtained using borosilicate glass pipettes (2–5MΩ; WPI) filled with intracellular solution containing (in mM): 120 KMeSO<sub>4</sub>, 10 KCl, 10 HEPES, 0.5 EGTA, 10 Na<sub>2</sub>-phosphocreatine, 2.5 MgATP, 0.3 NaGTP (pH 7.4, 300 mOsmol/L). Data were acquired using a Multiclamp 700B amplifier (Molecular Devices), digitized at 20 kHz using Digidata 1440A and pClamp 10 (Molecular Devices). Recordings were low-pass filtered at 2 kHz. Access resistance was regularly monitored during experiments and data was included only if the holding current was stable and access resistance varied less than 20% of initial value. Excitatory postsynaptic potentials (EPSPs) were evoked using constant current pulses (50 μs duration) via a concentric bipolar Pt/Ir electrode (FHC) placed in stratum oriens near the alveus, 100 μm lateral from the recorded cell soma. Membrane potential was held at -60 mV by constant current injection. EPSPs were evoked during a hyperpolarizing current step (5–10 mV, 0.5–1 s duration) to avoid action potential generation. Paired stimulations (50 ms inter-event interval) were given at 0.1 Hz. LTP was induced by three episodes (at 30s intervals) of theta-burst stimulation (TBS) of afferents (five bursts, each consisting of four pulses at 100 Hz, with a 250 ms interburst interval).

### 3.3.8 Whole-cell voltage clamp recordings

The protocol for slice preparation was as described above, except that CA1-CA3 regions were disconnected by a surgical cut. Glass pipettes were filled with intracellular solution containing (in mM) : 120 CsMeSO<sub>3</sub>, 5 CsCl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 10 HEPES, 0.5 EGTA, 10 Na<sub>2</sub>-phosphocreatine, 2 ATP-Tris, 0.4 GTP-Tris, 0.1 spermine, 2 QX314 (pH 7.2–7.3; 280 ± 5 mOsmol). Excitatory postsynaptic currents (EPSCs) were evoked using constant current pulses (50µs duration) via an ACSF-filled bipolar theta-glass electrode (Harvard Apparatus) positioned 100 µm lateral to the recorded cell soma at the border between CA1 stratum oriens and the alveus. EPSCs were evoked at 0.5 Hz using minimal stimulation adjusted to obtain approximately 50% success events and 50% failures (paired stimulation with 50 ms interval). EPSCs were recorded in the presence of DL-amino-5-phosphonovaleric acid (APV; 50 µM, abcam #120004) and SR-95531 (gabazine, 5µM; abcam #120042) to block NMDA and GABA<sub>A</sub> receptors, respectively. For experiments with TBS-induced LTP of EPSCs, the ACSF contained 4 mM Mg<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> to reduce spontaneous EPSC activity (Perez, Morin et al. 2001). EPSCs and EPSPs were usually characterized in one cell per slice, and the different experimental conditions were interleaved. Responses were analyzed off-line using Clampfit (pClamp 10; Molecular Devices), GraphPad (Prism 7.2), SPSS 26 (IBM). Amplitude of EPSP and EPSC (average peak response; including failures for EPSCs), success rate (successes/total stimulations) and potency (amplitude excluding failures) of EPSCs, were averaged in 5 min bins over the total 35-40 min period of recordings.

### 3.3.9 Somatostatin immunofluorescence

Sections were permeabilized with 0.3% Triton X-100 in 0.1M PB (15 min) and unspecific binding was blocked with 10% normal goat serum in 0.1% Triton X-100 and 0.1M PB (1h). Sections were incubated 24-48 hours at 4°C with mouse monoclonal somatostatin antibody (1/500; Santa Cruz Biotechnology; Dallas, TX), and subsequently at room temperature with Rhodamine-Red™ X-conjugated goat anti-mouse IgG2b (1/200; 90 min; Jackson Immunoresearch Labs; West Grove, PA). Sections were mounted in ProLong™ Diamond (Life technologies; Carlsbad, CA) and images were acquired using a confocal microscope (LSM880; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) at excitation 488 and 543 nm. Images were acquired using the exact same parameters fixed on control slices (ACSF) or mice (saline). The intensity of the somatostatin immunofluorescence, in *oriens-alveus* region of the

CA1 hippocampus was quantified using ImageJ software (National Institute of Health; <https://github.com/imagej/imagej1>) by comparing integrated density in cells corrected for background fluorescence. For experiments with cysteamine IP injection, cell fluorescence was measured typically in 44-63 fields of view per animal coming from 3-4 sections and averaged per animal. A total of 3 animals per group coming from 3 independent experiments were analyzed (total of 397 cells for saline; 441 cells for cysteamine). For acute slices, cell fluorescence was measured typically in 3-49 fields of view per slice coming from 2-4 sections and averaged per slice. A total of 3 animals coming from 3 independent experiments were analyzed (total of 714 cells for ACSF; 713 cells for cysteamine).

### *Pharmacology*

The neuropeptide somatostatin (SST-14; Abcam #141206) was diluted daily in ACSF at 5 $\mu$ M and perfused for 5 minutes and then washed-out during whole cell recordings of EPSPs/EPSCs. In some experiments, cyclosomatostatin (Abcam #141211), a non-selective SST<sub>1-5</sub> antagonist was dissolved in DMSO and applied at a final concentration of 1 $\mu$ M in ACSF. It was perfused for 5 minutes before and during SST-14 application, and then washed out. In TBS LTP experiments, cyclostomatostatin was perfused for 10 minutes before and during TBS, and then washed out. In some experiments, 40 $\mu$ M LY367385 (Tocris #1237), a mGluR1a selective antagonist, or 50 $\mu$ M DL-APV (Abcam #120004), a NMDAR selective antagonist, were diluted in ACSF and perfused throughout the recording period (40 minutes).

### **3.3.10 Statistical analysis**

No statistical methods were used to predetermine sample size but our sample sizes are comparable to those used generally in the field. Statistical analysis was performed using SPSS statistics 26 (IBM). For experiments with two groups with repeated measures in each group, a two-way mixed ANOVA was performed. Outliers were removed if values of studentized residuals were greater than  $\pm 3$ . Normality of data distribution was validated by Skewness and Kurtosis values. The assumption of homogeneity of variance was assessed by Levene's test of equality of error variances. The assumption of sphericity was assessed by Mauchly's test of sphericity. If the assumption of sphericity was violated, a Greenhouse-Geisser correction was applied. If two-way ANOVA showed a significant interaction between group and time, the interaction was decomposed with a univariate analysis of variance and one-way repeated measure ANOVA (rmANOVA). Univariate analysis of

variance was used to compare between groups at each time point. rmANOVA with Dunnett's multiple comparisons was used to compare each time point inside the same group to baseline. If no statistical interaction was found, only the main effect of group and time was reported with Bonferroni adjustment for multiple comparisons. In the figures, data are expressed as arithmetic mean  $\pm$  SEM. Asterisks denote statistical significance as calculated by the specified statistical tests (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\*\*\* $p < 0.0001$ ; ns, not significant). Detailed results of all statistical tests referenced per figure are included in a supplemental table (Additional file 1).

### 3.4 Results

The excitatory synapses onto CA1 SOM-INs show long-term plasticity (Vasuta, Artinian et al. 2015, Artinian, Jordan et al. 2019). Here we investigate if the peptide SST-14, that is expressed specifically in SOM-INs, is involved in long-term plasticity of their excitatory synapses, using whole cell recordings in acute slices from SOM-eYFP mice ( $Sst^{ires-Cre}; Rosa26^{lsl-eYFP}$ ) that express of eYFP in SOM-INs (Fig 1a).

#### 3.4.1 SST-14 induces LTP via SST<sub>1-5</sub>

We examined with current clamp recordings the effects of application of exogenous SST-14 on EPSPs evoked in eYFP-expressing SOM-INs in CA1 *stratum oriens*. Bath application of 5 $\mu$ M SST-14 for 5 minutes induced a gradual slow onset potentiation of EPSP amplitude that developed over 10-35 minutes after SST-14 application ( $201.9 \pm 28.1\%$  of control at 25-30 min;  $185.4 \pm 23.4\%$  of control at 30-35 min; Fig 1b, e, f). Similar vehicle application did not induce change in EPSPs over the same time period, ruling out non-specific effects due to recording conditions ( $96.8 \pm 9.4\%$  of control at 25-30 min;  $106.1 \pm 13.4\%$  of control at 30-35 min; Fig 1c, e, f). These results indicate that exogenous SST-14 induces long-term potentiation of EPSPs in SOM-INs.

We verified that the effects of SST-14 were mediated by SST<sub>1-5</sub> using the non-selective SST<sub>1-5</sub> antagonist cyclosomatostatin (Fries, Murphy et al. 1982). Co-application of 1 $\mu$ M cyclosomatostatin with SST-14 blocked the long-lasting increase in EPSP amplitude induced by SST-14 ( $113.4 \pm 9.4\%$  of control at 25-30 min;  $106.8 \pm 11.4\%$  of control at 30-35 min; Fig 1d, e, f). These results indicate that the potentiation induced by exogenous SST-14 is mediated by SST<sub>1-5</sub>, thus ruling out non-specific drug effects of SST-14. Interestingly, bath application of cyclosomatostatin alone, or its vehicle

DMSO, did not affect EPSPs ( $122.7 \pm 12.8\%$  and  $94.0 \pm 13.4\%$  of control at 30-35 min, respectively; Fig 1f), suggesting the absence of endogenous activation of SST<sub>1-5</sub> and modulation of EPSPs during low frequency stimulation alone.

Bath application of SST-14 affected EPSPs but had no effect on cell input resistance in the same cells. Cell input resistance was unchanged during and after SST-14 or vehicle application ( $96.1 \pm 13.3\%$  of control during and  $95.3 \pm 9.1\%$  of control at 30-35 min after SST-14;  $97.1 \pm 8.5\%$  of control during and  $103.8 \pm 8.0\%$  of control at 30-35 min after vehicle; Fig. 1g). Thus, SST-14 effects on EPSPs may not involve postsynaptic changes in cell input resistance.

#### *SST<sub>1-5</sub> antagonist or cysteamine treatment prevent Hebbian LTP*

Excitatory synapses onto CA1 SOM-INs show a mGluR1a-dependent Hebbian LTP (Perez, Morin et al. 2001, Vasuta, Artinian et al. 2015). Since SST-14 induces LTP of EPSPs in SOM-INs via SST<sub>1-5</sub>, next we examined if endogenous SST could be involved in Hebbian LTP.

We used whole cell current clamp recordings to monitor Hebbian LTP elicited in SOM-INs by theta burst stimulation (TBS), and bath application of the SST<sub>1-5</sub> antagonist cyclosomatostatine to test for a possible role of SST (Fig 2a). Cyclosomatostatin or its vehicle (DMSO) were applied 10 minutes prior to and during TBS, and then washed out (Fig. 2b-d). In the presence of DMSO, TBS induced a slow onset LTP of EPSP amplitude ( $157.0 \pm 16.7\%$  of control at 5-10 min;  $175.3 \pm 17.2\%$  of control at 10-15 min;  $190.3 \pm 19.2\%$  of control at 15-20 min;  $190.4 \pm 19.4\%$  of control at 20-25 min;  $187.7 \pm 16.2\%$  of control at 25-30 min; Fig 2d, e). However, in the presence of 1  $\mu$ M cyclosomatostatin, a concentration that prevents SST-14 potentiation of EPSPs, TBS failed to induce LTP of EPSP amplitude ( $97.1 \pm 13.1\%$  of control at 25-30 min; Fig. 2d, e). These results suggest that endogenous SST may be released and activate SST<sub>1-5</sub> in Hebbian LTP induced by TBS in SOM-INs

To investigate the implication of endogenous SST in Hebbian LTP by a different approach, we used cysteamine, a compound that depletes SST levels in brain and other tissues (Szabo and Reichlin 1981, Sagar, Landry et al. 1982). Mice received an intraperitoneal (IP) injection of cysteamine (150 mg/kg) and hippocampal slices were harvested 4 hours later. The effect of cysteamine injection on SST levels in hippocampus was verified with immunofluorescence. SST immunofluorescence in CA1 SOM-INs expressing eYFP was decreased in cysteamine injected mice relative to vehicle injected mice ( $58.3 \pm 9.7\%$  of control; Fig 3a), suggesting an effective lowering of SST levels in SOM-INs. Next, we examined Hebbian LTP in SOM-INs in slices of mice after vehicle or cysteamine IP injection. In vehicle injected mice, TBS elicited long-term potentiation of EPSP

amplitude ( $145.8 \pm 12.9\%$  of control at 15-20 min,  $147.5 \pm 11.8\%$  of control at 20-25 min and  $160.7 \pm 9.6\%$  of control at 25-30 min) (Fig 3b, c). In cysteamine injected mice, TBS failed to induce LTP of EPSP amplitude, but instead a slow onset depression of EPSPs was elicited ( $75.3 \pm 7.7\%$  of control at 15-20 min,  $69.6 \pm 8.7\%$  at 20-25 min and  $60.1 \pm 8.5\%$  of control at 25-30 min; Fig 3b, c). Thus, lowering SST levels in SOM-INs by cysteamine IP injection, prevents Hebbian LTP induced by TBS.

To rule out extra-hippocampal effects of cysteamine IP injection, hippocampal slices from untreated mice were incubated in ACSF containing  $200\mu\text{M}$  cysteamine for 1 hour. In cysteamine-treated slices, SST immunofluorescence was decreased in CA1 SOM-INs compared to vehicle-treated slices ( $76.9 \pm 6.1\%$  of control; Fig 3d). Whole cell recordings showed that TBS failed to induce LTP of EPSP amplitude in SOM-INs of cysteamine treated-slices ( $89.2 \pm 8.4\%$  of control at 10-15 min,  $89.4 \pm 9.0\%$  at 15-20 min and  $83.3 \pm 8.5\%$  of control at 25-30 min). In contrast, TBS elicited LTP in SOM-INs of vehicle-treated slices ( $143.3 \pm 14.8\%$  of control at 10-15 min,  $150.3 \pm 14.0\%$  of control at 15-20 min and  $143.3 \pm 9.1\%$  of control at 25-30 min; Fig. 3e, f). Thus, lowering hippocampal SST levels interferes with Hebbian LTP induced by TBS in SOM-INs.

Taken together, the results of these experiments with cyclostatin and cysteamine suggest that TBS may lead to the release of endogenous SST and the activation SST<sub>1-5</sub> in Hebbian LTP in SOM-INs.

### ***3.4.2 SST-14 induced potentiation is independent of NMDAR and mGluR1a***

NMDA receptors (NMDAR) and metabotropic glutamate 1a receptors (mGluR1a) are involved in synaptic plasticity in hippocampal interneurons (Perez, Morin et al. 2001, Kullmann and Lamsa 2007). We examined a possible implication of these receptors in SST-14-induced LTP in SOM-INs. First we examined if NMDARs were implicated by including the antagonist DL-APV ( $50\mu\text{M}$ ) in the ACSF for the duration of the experiment. Bath application of SST-14 in presence of DL-APV, induced a gradual LTP of EPSPs ( $183.9 \pm 30.5\%$  of control at 30-35 min) that was similar to the LTP elicited by SST-14 without DL-APV ( $183.8 \pm 17.8\%$  of control at 30-35 min) (Fig 4a,b). Thus, SST-14-induced LTP does not require NMDARs.

Similarly, we examined the possible role of mGluR1a by including the antagonist LY367385 ( $40\mu\text{M}$ ) in the ACSF. Application of SST-14 in the presence of LY367385 elicited LTP of EPSPs ( $178.8 \pm 23.1\%$  of control at 30-35 min) that was not different from the LTP induced by SST-14 in the absence of



LY367385 ( $161.5 \pm 17.4\%$  of control at 30-35min) (Fig 4c, d). In both groups, LTP developed gradually (EPSP amplitude  $169.7 \pm 3.3\%$  of control at 25-30 min and  $170.1 \pm 3.4\%$  of control at 30-35 min). Therefore, SST-14-induced LTP does not involve mGluR1a.

In the above series of experiments with DL-APV and LY 367385, we used paired stimulation to measure the paired-pulse ratio of EPSPs in cells that received SST-14 in the absence of antagonists. Paired-pulse facilitation was similar before (-5 to 0 min;  $2.116 \pm 0.113$ ) and after (30 to 35 min;  $2.254 \pm 0.184$ ) SST-14 application (Fig 4e). These results suggest an absence of presynaptic changes during SST-14-induced LTP.

To shed further light on the mechanisms involved in the SST-14-induced LTP, we examined if LTP is dependent on synaptic activity during SST-14 application. EPSPs were recorded during a 5 min baseline period and stimulation was interrupted. SST-14 was applied for 5 minutes and washed-out for another 5 minutes, without stimulation. Stimulation was resumed and EPSPs recorded for 30 minutes (Fig 5a-c). Application of vehicle ( $127.2 \pm 16.7\%$  of control at 25-30 min) or SST-14 ( $166.2 \pm 17.8\%$  of control at 25-30min) produced similar effects with only a transient potentiation of EPSP amplitude (Fig 5c). EPSP amplitude was not different at 35-40 min after application of vehicle ( $119.7 \pm 16.6\%$  of control) or SST-14 ( $160.6 \pm 21.1\%$  of control) (Fig 5c,d). These results suggest that, although interruption of stimulation induces a rebound potentiation in both groups, SST-14-induced LTP of EPSPs may require synaptic stimulation in the presence of the peptide.

The mGluR1a-dependent Hebbian LTP found at excitatory synapses onto SOM-INs and is not observed at synapses onto PV-INs (Vasuta, Artinian et al. 2015). Therefore, we examined if application of SST-14 affects EPSPs of PV-INs using a similar recording paradigm from PV-INs of PV-eYFP mice (Fig. 6a). After bath application of vehicle or SST-14, EPSP amplitude increased similarly in both groups ( $140.4 \pm 10.0\%$  of control at 10-15 min;  $139.9 \pm 9.8\%$  of control at 15-20 min;  $148.8 \pm 12.5\%$  of control at 20-25 min;  $148.1 \pm 11.7\%$  of control at 25-30 min;  $153.2 \pm 12.1\%$  of control at 30-35min; Fig. 6b, c, d). These results suggest that, under our recording conditions, EPSPs of PV-INs show spontaneous run-up over time. Moreover, application of SST-14 produced similar results as vehicle (Fig. 6h), suggesting that SST-14-induced potentiation may not occur at excitatory synapses onto PV-INs.

Excitatory synapses onto SOM-INs originate mostly from CA1 pyramidal cells (PCs). The actions of SST-14 on CA1 PCs are complex and both inhibitory and excitatory effects of SST-14 have been reported (Pittman and Siggins 1981, Scharfman and Schwartzkroin 1988, Scharfman and Schwartzkroin 1989). As

SST-14 effects on SOM-IN EPSPs could arise from indirect effects on PCs, we examined if SST-14 affects EPSPs in PCs. EPSPs were recorded from CA1 PCs in slices from SOM-eYFP mice and SST-14 was applied under similar conditions. Application of either SST-14 or vehicle did not affect EPSP amplitude in PCs (SST-14 group,  $102.8 \pm 10.0\%$  of control at 30-35 min; Vehicle group,  $95.6\% \pm 6.6\%$  of control at 30-35 min; Fig 6 e-g, i), indicating a lack of SST-14 effect on PC EPSPs. These results suggest that SST-14-induced LTP of EPSPs in SOM-INs may not arise from a di-synaptic effect via CA1 PCs.

### ***3.4.3 SST actions on SOM-IN excitatory synapses mediated by GABA<sub>A</sub> inhibition***

To gain more insight on the mechanisms of SST-14-induced LTP, we investigated the effects of SST-14 on putative single fiber excitatory postsynaptic currents (EPSCs) evoked by minimal stimulation (Perez et al 2001; Croce et al 2010). Non-NMDAR-mediated EPSCs were recorded in whole cell voltage clamp mode from SOM-INs in the presence of NMDA and GABA<sub>A</sub> receptor antagonists, DL-APV and gabazine respectively (Fig. 7a, b, c). EPSC amplitude was not affected by bath application of 5 $\mu$ M SST-14 ( $77.8 \pm 13.3\%$  of control at 30-35 min) or vehicle ( $99.9 \pm 40.3\%$  of control at 30-35min) (Fig. 7c-g), suggesting a lack of lasting effect of SST-14 on excitatory postsynaptic currents in these conditions.

Given this lack of effect of SST-14 on EPSCs, we examined if the SST<sub>1-5</sub> antagonist cyclosomatostatin affected TBS-induced LTP of EPSCs evoked by minimal stimulation. TBS given in the presence of DMSO elicited a slow onset LTP of EPSC amplitude ( $153.6 \pm 20.9\%$  of control at 30-35 min; Fig. 7 d, f, g). Application of TBS in the presence of cyclosomatostatine produced LTP of EPSC amplitude that was not different from LTP elicited in DMSO ( $184.1 \pm 17.6\%$  of control at 30-35 min; Fig. 7 e, f, g). These results indicate that blocking SST<sub>1-5</sub> did not affect LTP of pharmacologically isolated non-NMDAR-mediated EPSCs.

As the non-NMDAR-mediated EPSCs in the previous experiments were pharmacologically isolated in the presence of the GABA<sub>A</sub> receptor antagonist gabazine and in slices with CA3-CA1 surgical cuts, we examined if the long-lasting effects of SST-14 on EPSPs was due to an indirect action via GABA<sub>A</sub> receptors. We tested the effects of SST-14 on EPSPs of SOM-INs in normal slices, slices with a CA3-CA1 cut, or slices with a CA3-CA1 cut and gabazine. Application of SST-14 in normal slices evoked a gradual long-term increase in EPSP amplitude ( $124.4 \pm 5.1\%$  of control at 0-5 min,  $166.3 \pm 17.0\%$  of control at 5-10 min,  $193.3 \pm 26.2\%$  of control at 10-15 min,  $187.3 \pm 23.2\%$  of

control at 15-20 min,  $202.0 \pm 22.7$  of control at 20-25 min,  $221.8 \pm 25.4\%$  of control at 25-30 min,  $251.2 \pm 34.2\%$  of control at 30-35 min; Fig 8 a,d,e). SST-14 application in slices with a CA3-CA1 cut produced a similar long-lasting potentiation of EPSP amplitude ( $168.5 \pm 18.4\%$  of control at 10-15 min,  $165.8 \pm 19.8\%$  of control at 15-20 min,  $182.1 \pm 22.5\%$  of control at 20-25 min,  $214.1 \pm 22.1\%$  of control at 25-30 min,  $211.7 \pm 22.8\%$  of control at 30-35 min; Fig. 8 b,d,e). In contrast, SST-14 application in slices with a CA3-CA1 surgical cut and in the presence of gabazine did not affect EPSP amplitude ( $94.0 \pm 15.6\%$  of control at 25-30 min,  $105.5 \pm 13.4\%$  of control at 30-35 min; Fig. 8 c,d,e), indicating that antagonism of GABA<sub>A</sub> receptors blocked the SST-14-induced potentiation of EPSPs. Thus, SST actions in LTP of excitatory synapses of SOM-INs may be indirectly mediated via GABA<sub>A</sub> inhibition (Fig. 8 f).

### 3.5 Discussion

In the present work, we uncover a critical involvement of the peptide SST in long-term potentiation at excitatory synapses of hippocampal SOM-INs. We found that application of exogenous SST-14 induces long-term potentiation of EPSPs in SOM-INs via SST<sub>1-5</sub> (Figure 1). Application of SST-14 did not affect EPSPs in PCs or PV-INs (Figure 6). TBS-induced Hebbian LTP of EPSPs in SOM-INs was prevented by inhibition of SST<sub>1-5</sub> (Figure 2) and by depletion of hippocampal SST by cysteamine treatment (Figure 3), suggesting a significant role of endogenous SST in LTP. LTP of SOM-IN EPSPs induced by SST-14 did not involve changes in paired-pulse ratio of synaptic responses (Figure 4), was independent of NMDAR and mGluR1a (Figure 4) and was dependent on concomitant synaptic activity (Figure 5). Importantly, we observed that SST-14 did not affect non-NMDAR-mediated EPSCs recorded during GABA<sub>A</sub> receptor blockade, and that the SST<sub>1-5</sub> antagonist cyclosomatostatine did not affect TBS-induced LTP of these EPSCs (Figure 7). Finally, pharmacological block GABA<sub>A</sub> receptor function prevented SST-14-induced potentiation of EPSPs (Figure 8), indicating that SST-14 long-term potentiation of excitatory synaptic responses is an indirect effect via GABA<sub>A</sub> inhibition.

Our results suggest the following model of the contribution of endogenous SST in Hebbian LTP at excitatory synapses of SOM-INs (Figure 8): theta burst stimulation of PC axons (i) releases glutamate at PC synapse onto SOM-IN, (ii) eliciting EPSP and action potential firing in SOM-IN, (iii) leading to SST release from SOM-IN, (iv) activation of SST<sub>1-5</sub> on GABAergic terminal afferent, (v) inhibition of GABA release, (vi) disinhibition of pre- or postsynaptic compartment of the

glutamatergic synapse, and (vii) potentiation of EPSP in SOM-IN. Our findings uncover a novel role for SST in long-term plasticity of excitatory synapses onto somatostatinergic cells by indirectly regulating GABA<sub>A</sub> inhibition.

### ***3.5.1 SST-14-induced LTP of SOM-INs excitatory synapses***

The observed long-lasting potentiation of EPSPs in SOM-INs by SST-14 contrasts with the previously described SST actions in hippocampal PCs. Bath-applied SST-14 was reported to decrease evoked and spontaneous EPSCs in pyramidal cells (Tallent and Siggins 1997). These effects were acute, occurring within 2-4 min of application onset, and rapidly (2-4 min) reversible. Consistent with these previous observations, we did not find long-lasting effects of SST-14 on EPSPs in PCs, suggesting that SST-14 long-term effects on SOM-IN excitatory synapses do not arise from di-synaptic actions at PC afferent synapses, but is specific to synapses onto interneurons. Moreover, SST-14 did not affect excitatory synaptic responses of PV-INs, indicating that SST-14 long-term effects may be specific to excitatory synapses onto somatostatinergic cells.

Hippocampal PCs are also hyperpolarized by bath application of SST-14 via activation of postsynaptic K<sup>+</sup> conductances (Pittman and Siggins 1981, Moore, Madamba et al. 1988, Schweitzer, Madamba et al. 1998). These are also acute effects, reversible in minutes, that are unlikely to contribute to the slow onset and long-lasting potentiation of EPSPs in SOM-INs. Furthermore, SST-14-induced hyperpolarization of PCs reduces action potential firing (Pittman and Siggins 1981), and thus would be expected to reduce presynaptic activation of PCs and decrease EPSPs in SOM-INs. Although SST-14 has been reported to depolarize and excite PCs (Scharfman and Schwartzkroin 1988), these effects are produced by local application of SST-14 and are not observed with bath application (Schweitzer et al 1998). Thus, these direct membrane effects of SST-14 on PCs are distinct from the long-lasting actions of SST-14 on SOM-IN excitatory synapses observed here.

### ***3.5.2 SST-14-induced potentiation is mediated by GABA<sub>A</sub> inhibition***

SST-14-induced potentiation of EPSPs was prevented by the GABA<sub>A</sub> antagonist gabazine, indicating that SST-14 actions are mediated indirectly via GABA<sub>A</sub> inhibition. The mechanism by which SST<sub>1-5</sub> activation acts via GABA<sub>A</sub> inhibition to increase synaptic excitation remains to be clarified. However, SST<sub>1-5</sub> are coupled to presynaptic inhibition via inhibition of voltage-gated Ca<sup>2+</sup>

channels and activation of  $K^+$  currents (Martel, Dutar et al. 2012, Gunther, Tulipano et al. 2018). Thus, via such mechanisms, activation of SST<sub>1-5</sub> could inhibit release from GABAergic terminals, blocking GABA<sub>A</sub> inhibition at the PC synapse onto SOM-IN, resulting in potentiation at this synapse via disinhibition. Inhibition of GABAergic synaptic transmission in PC was reported by local application of SST-14 (Scharfman Schwartzkoin 1989). However, bath application of SST-14 was reported to inhibit selectively synaptic excitation without affecting inhibition in PCs (Tallent Siggins 1997). SST-14 actions in hippocampal interneurons also appear complex with report of depolarization and hyperpolarization (Scharfman Schwartzkoin 1988). In other brain regions, SST was found to decrease GABA release (Martel et al 2012).

Whether SST actions are mediated via GABA<sub>A</sub> inhibition acting pre- or post-synaptically at the PC to SOM-IN synapse remains unclear. Paired-pulse ratio was unchanged during and after SST-14 application (Figure 4), suggesting no presynaptic changes in transmitter release. However, the excitatory synapses from PC to SOM-INs are composed of calcium-permeable AMPA receptors, and paired stimulation of synaptic responses can be affected also by postsynaptic AMPAR mechanisms (Croce, Pelletier et al. 2010). SOM-INs receive postsynaptic GABA<sub>A</sub> mediated inhibition (Booker and Vida 2018), notably from interneuron-selective interneurons expressing vasoactive intestinal peptide (Acsady, Gorcs et al. 1996, Tyan, Chamberland et al. 2014), and these could be targeted by SST. However, we did not observe changes in cell input resistance during and after SST-14 application (Figure 1), suggesting no postsynaptic change. However, cell input resistance was measured at the soma and synaptic inhibition may occur at more remote dendritic sites (Tyan, Chamberland et al. 2014). Further experiments will be required to elucidate the pre- and/or post-synaptic GABA<sub>A</sub> mechanisms involved in the disinhibitory actions of SST at SOM-IN excitatory synapses.

Our results with the antagonist cyclosomatostatine are also consistent with an effect of endogenous SST released after theta burst stimulation contributing to long-term potentiation at the PC to SOM-IN synapse indirectly via GABA<sub>A</sub> inhibition. Application of SST-14 failed to modify non-NMDAR-mediated EPSCs recorded in the presence of gabazine (Figure 7). In addition, the SST<sub>1-5</sub> antagonist cyclosomatostatine did not affect TBS-induced LTP of non-NMDAR-mediated EPSCs recorded in the presence of gabazine (Figure 7). However, SST-14 and cyclosomatostatin showed effects on EPSPs recorded with GABA<sub>A</sub> inhibition intact (Figures 1 and 2). These results suggest that, under physiologically relevant conditions, release of endogenous SST by theta burst stimulation contributes to long-term potentiation at PC to SOM-IN synapses indirectly via GABA<sub>A</sub> inhibition.

### ***3.5.3 Mechanisms of SST-induced LTP***

Although synaptic plasticity in some hippocampal interneurons involves NMDARs (Kullman Lamsaa 2007), mGluR1a-mediated Hebbian LTP in SOM-INs does not (Perez et al 2001). Consistent with this notion, our results indicate that SST-14-induced LTP in SOM-INs is unaffected by the NMDAR antagonist DL-APV, and thus does not involve NMDARs.

Hebbian LTP requires mGluR1a activation (Perez et al 2001) and our results indicate that SST-14 actions that lead to LTP of EPSPs occur downstream of mGluR1a activation since the antagonist LY367385 does not prevent SST-14-induced potentiation. Moreover, the long-lasting actions of SST-14 are activity-dependent and require concomitant synaptic activity during application of SST-14. These findings indicate that SST-14 actions on GABA<sub>A</sub> inhibition require synaptic activity during SST<sub>1-5</sub> activation to lead to long-lasting changes. Intriguingly, long-lasting reduction of synaptic inhibition by local application of SST was previously reported in PCs (Scharfman Schwartzkroin 1989) but not with bath application (Tallent and Siggins 1997). Further experiments focusing on GABA<sub>A</sub> inhibition of SOM-INs will be necessary to explain the activity-dependent disinhibitory actions of SST-14 in SOM-INs.

### ***3.5.4 Endogenous SST contributes to mGluR1a-mediated Hebbian LTP***

Our results with the SST<sub>1-5</sub> antagonist cyclosomatostatine suggest that, under physiologically relevant conditions, theta burst stimulation causes release of endogenous SST which contributes to LTP at SOM-IN excitatory synapses via GABA<sub>A</sub> disinhibition. The release of endogenous SST is frequency-dependent, as EPSPs elicited at 0.1 Hz are unaffected by the antagonist (Figure 1). During the LTP induction protocol, theta burst stimulation elicits EPSPs that cause action potential burst firing in SOM-INs (Vasuta et al 2015), conditions that are sufficient to cause release of endogenous SST. Such an activity-dependent release of SST is consistent with recent evidence that release of endogenous SST in acute prefrontal cortex slices is induced by frequency-dependent (>10 Hz) optogenetic stimulation of SOM-INs (Dao, Brockway et al. 2019) and that release of endogenous somatostatine in cultured hippocampal neurons is stimulated by AMPA receptor activation (Fontana, De Bernardi et al. 1996).

SST was previously shown to be critical for hippocampal long-term synaptic plasticity, as well as learning and memory. Depletion of SST by cysteamine treatment, or knock-out of the SST

gene in transgenic mice, impairs hippocampus-dependent contextual fear memory but not hippocampus-independent auditory fear learning (Kluge, Stoppel et al. 2008). The memory impairment is associated with a decrease in LTP in CA1 PCs (Kluge, Stoppel et al. 2008), as well as at mossy-fiber CA3 PCs synapses (Matsuoka, Kaneko et al. 1991). Interestingly, blocking LTP at excitatory synapses of SOM-INs was found to impair contextual fear memory, and reduce the facilitation of LTP in PCs by SOM-INs (Artinian et al., 2019). Our findings that endogenous SST plays a critical role in LTP at SOM-IN excitatory synapses, suggest that impairments in LTP in CA1 pyramidal cells and deficits in contextual fear memory caused by SST depletion/knockout (Kluge, Stoppel et al. 2008) may be due to loss of SST-mediated LTP at SOM-IN synapses (Artinian et al., 2019). Thus, the role of SST in long-term synaptic plasticity of SOM-INs uncovered here may be crucially implicated in SST regulation of hippocampal learning and memory.

### 3.6 References

- Acsady, L., T. J. Gorcs and T. F. Freund (1996). "Different populations of vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive interneurons are specialized to control pyramidal cells or interneurons in the hippocampus." Neuroscience **73**(2): 317-334.
- Artinian, J., A. Jordan, A. Khlaifia, E. Honore, A. La Fontaine, A. S. Racine, I. Laplante and J. C. Lacaille (2019). "Regulation of Hippocampal Memory by mTORC1 in Somatostatin Interneurons." J Neurosci **39**(43): 8439-8456.
- Baratta, M. V., T. Lamp and M. K. Tallent (2002). "Somatostatin depresses long-term potentiation and Ca<sup>2+</sup> signaling in mouse dentate gyrus." J Neurophysiol **88**(6): 3078-3086.
- Bezaire, M. J. and I. Soltesz (2013). "Quantitative assessment of CA1 local circuits: knowledge base for interneuron-pyramidal cell connectivity." Hippocampus **23**(9): 751-785.
- Booker, S. A. and I. Vida (2018). "Morphological diversity and connectivity of hippocampal interneurons." Cell Tissue Res **373**(3): 619-641.
- Brazeau, P., W. Vale, R. Burgus, N. Ling, M. Butcher, J. Rivier and R. Guillemin (1973). "Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone." Science **179**(4068): 77-79.
- Croce, A., J. G. Pelletier, M. Tartas and J. C. Lacaille (2010). "Afferent-specific properties of interneuron synapses underlie selective long-term regulation of feedback inhibitory circuits in CA1 hippocampus." J Physiol **588**(Pt 12): 2091-2107.
- Dao, N. C., D. F. Brockway and N. A. Crowley (2019). "In Vitro Optogenetic Characterization of Neuropeptide Release from Prefrontal Cortical Somatostatin Neurons." Neuroscience **419**: 1-4.
- Fontana, G., R. De Bernardi, F. Ferro, A. Gemignani and M. Raiteri (1996). "Characterization of the glutamate receptors mediating release of somatostatin from cultured hippocampal neurons." J Neurochem **66**(1): 161-168.
- Freund, T. F. and G. Buzsaki (1996). "Interneurons of the hippocampus." Hippocampus **6**(4): 347-470.
- Fries, J. L., W. A. Murphy, J. Sueiras-Diaz and D. H. Coy (1982). "Somatostatin antagonist analog increases GH, insulin, and glucagon release in the rat." Peptides **3**(5): 811-814.
- Gunther, T., G. Tulipano, P. Dournaud, C. Bousquet, Z. Csaba, H. J. Kreienkamp, A. Lupp, M. Korbonits, J. P. Castano, H. J. Wester, M. Culler, S. Melmed and S. Schulz (2018). "International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CV. Somatostatin Receptors: Structure, Function, Ligands, and New Nomenclature." Pharmacol Rev **70**(4): 763-835.



- Ishibashi, H. and N. Akaike (1995). "Somatostatin modulates high-voltage-activated Ca<sup>2+</sup> channels in freshly dissociated rat hippocampal neurons." *J Neurophysiol* **74**(3): 1028-1036.
- Kluge, C., C. Stoppel, C. Szinyei, O. Stork and H. C. Pape (2008). "Role of the somatostatin system in contextual fear memory and hippocampal synaptic plasticity." *Learn Mem* **15**(4): 252-260.
- Kullmann, D. M. and K. P. Lamsa (2007). "Long-term synaptic plasticity in hippocampal interneurons." *Nat Rev Neurosci* **8**(9): 687-699.
- Leao, R. N., S. Mikulovic, K. E. Leao, H. Munguba, H. Gezelius, A. Enjin, K. Patra, A. Eriksson, L. M. Loew, A. B. Tort and K. Kullander (2012). "OLM interneurons differentially modulate CA3 and entorhinal inputs to hippocampal CA1 neurons." *Nat Neurosci* **15**(11): 1524-1530.
- Lovett-Barron, M., P. Kaifosh, M. A. Kheirbek, N. Danielson, J. D. Zaremba, T. R. Reardon, G. F. Turi, R. Hen, B. V. Zemelman and A. Losonczy (2014). "Dendritic inhibition in the hippocampus supports fear learning." *Science* **343**(6173): 857-863.
- Lovett-Barron, M., G. F. Turi, P. Kaifosh, P. H. Lee, F. Bolze, X. H. Sun, J. F. Nicoud, B. V. Zemelman, S. M. Sternson and A. Losonczy (2012). "Regulation of neuronal input transformations by tunable dendritic inhibition." *Nat Neurosci* **15**(3): 423-430, S421-423.
- Martel, G., P. Dutar, J. Epelbaum and C. Viollet (2012). "Somatostatinergic systems: an update on brain functions in normal and pathological aging." *Front Endocrinol (Lausanne)* **3**: 154.
- Matsuoka, N., S. Kaneko and M. Satoh (1991). "A facilitatory role of endogenous somatostatin in long-term potentiation of the mossy fiber-CA3 system in guinea-pig hippocampus." *Neurosci Lett* **129**(2): 177-180.
- Momiyama, T. and L. Zaborszky (2006). "Somatostatin presynaptically inhibits both GABA and glutamate release onto rat basal forebrain cholinergic neurons." *J Neurophysiol* **96**(2): 686-694.
- Moore, S. D., S. G. Madamba, M. Joels and G. R. Siggins (1988). "Somatostatin augments the M-current in hippocampal neurons." *Science* **239**(4837): 278-280.
- Pelkey, K. A., R. Chittajallu, M. T. Craig, L. Tricoire, J. C. Wester and C. J. McBain (2017). "Hippocampal GABAergic Inhibitory Interneurons." *Physiol Rev* **97**(4): 1619-1747.
- Perez, Y., F. Morin and J. C. Lacaille (2001). "A hebbian form of long-term potentiation dependent on mGluR1a in hippocampal inhibitory interneurons." *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**(16): 9401-9406.

- Pittman, Q. J. and G. R. Siggins (1981). "Somatostatin hyperpolarizes hippocampal pyramidal cells in vitro." Brain Res **221**(2): 402-408.
- Ran, I., I. Laplante, C. Bourgeois, J. Pepin, P. Lacaille, M. Costa-Mattioli, J. Pelletier, N. Sonenberg and J. C. Lacaille (2009). "Persistent transcription- and translation-dependent long-term potentiation induced by mGluR1 in hippocampal interneurons." J Neurosci **29**(17): 5605-5615.
- Ran, I., I. Laplante and J. C. Lacaille (2012). "CREB-dependent transcriptional control and quantal changes in persistent long-term potentiation in hippocampal interneurons." J Neurosci **32**(18): 6335-6350.
- Royer, S., B. V. Zemelman, A. Losonczy, J. Kim, F. Chance, J. C. Magee and G. Buzsaki (2012). "Control of timing, rate and bursts of hippocampal place cells by dendritic and somatic inhibition." Nat Neurosci **15**(5): 769-775.
- Sagar, S. M., D. Landry, W. J. Millard, T. M. Badger, M. A. Arnold and J. B. Martin (1982). "Depletion of somatostatin-like immunoreactivity in the rat central nervous system by cysteamine." J Neurosci **2**(2): 225-231.
- Scharfman, H. E. and P. A. Schwartzkroin (1988). "Further studies of the effects of somatostatin and related peptides in area CA1 of rabbit hippocampus." Cell Mol Neurobiol **8**(4): 411-429.
- Scharfman, H. E. and P. A. Schwartzkroin (1989). "Selective depression of GABA-mediated IPSPs by somatostatin in area CA1 of rabbit hippocampal slices." Brain Res **493**(2): 205-211.
- Schulz, S., M. Handel, M. Schreff, H. Schmidt and V. Holtt (2000). "Localization of five somatostatin receptors in the rat central nervous system using subtype-specific antibodies." J Physiol Paris **94**(3-4): 259-264.
- Schweitzer, P., S. G. Madamba and G. R. Siggins (1998). "Somatostatin increases a voltage-insensitive K<sup>+</sup> conductance in rat CA1 hippocampal neurons." J Neurophysiol **79**(3): 1230-1238.
- Sharma, V., R. Sood, A. Khlaifia, M. J. Eslamizade, T. Y. Hung, D. Lou, A. Asgarihafshejani, M. Lalzar, S. J. Kiniry, M. P. Stokes, N. Cohen, A. J. Nelson, K. Abell, A. P. Possemato, S. Gal-Ben-Ari, V. T. Truong, P. Wang, A. Yiannakas, F. Saffarzadeh, A. C. Cuello, K. Nader, R. J. Kaufman, M. Costa-Mattioli, P. V. Baranov, A. Quintana, E. Sanz, A. Khoutorsky, J. C. Lacaille, K. Rosenblum and N. Sonenberg (2020). "eIF2 $\alpha$  controls memory consolidation via excitatory and somatostatin neurons." Nature **586**(7829): 412-416.
- Spary, E. J., A. Maqbool and T. F. Batten (2008). "Expression and localisation of somatostatin receptor subtypes sst1-sst5 in areas of the rat medulla oblongata involved in autonomic regulation." J Chem Neuroanat **35**(1): 49-66.

- Srikant, C. B. and Y. C. Patel (1984). "Cysteamine-induced depletion of brain somatostatin is associated with up-regulation of cerebrocortical somatostatin receptors." Endocrinology **115**(3): 990-995.
- Szabo, S. and S. Reichlin (1981). "Somatostatin in rat tissues is depleted by cysteamine administration." Endocrinology **109**(6): 2255-2257.
- Tallent, M. K. and G. R. Siggins (1997). "Somatostatin depresses excitatory but not inhibitory neurotransmission in rat CA1 hippocampus." J Neurophysiol **78**(6): 3008-3018.
- Tricoire, L., K. A. Pelkey, B. E. Erkkila, B. W. Jeffries, X. Yuan and C. J. McBain (2011). "A blueprint for the spatiotemporal origins of mouse hippocampal interneuron diversity." J Neurosci **31**(30): 10948-10970.
- Tyan, L., S. Chamberland, E. Magnin, O. Camire, R. Francavilla, L. S. David, K. Deisseroth and L. Topolnik (2014). "Dendritic inhibition provided by interneuron-specific cells controls the firing rate and timing of the hippocampal feedback inhibitory circuitry." J Neurosci **34**(13): 4534-4547.
- Vasuta, C., J. Artinian, I. Laplante, S. Hebert-Seropian, K. Elayoubi and J. C. Lacaille (2015). "Metaplastic Regulation of CA1 Schaffer Collateral Pathway Plasticity by Hebbian MGluR1a-Mediated Plasticity at Excitatory Synapses onto Somatostatin-Expressing Interneurons." eNeuro **2**(4).
- Zou, S., R. K. Somvanshi and U. Kumar (2017). "Somatostatin receptor 5 is a prominent regulator of signaling pathways in cells with coexpression of Cannabinoid receptors 1." Neuroscience **340**: 218-231.

### 3.7 Figure legends

#### Figure 1.

SST-14 induces a long-term potentiation of EPSPs in SOM-INs via SST<sub>1-5</sub>. **a** Fluorescence images showing eYFP expression in SOM-INs in hippocampus of SOM-eYFP mouse. **b, c, d** Current clamp recording of EPSPs (top) and time plots of EPSP amplitude from representative cells receiving 5 $\mu$ M SST-14 (**b**), vehicle (**c**) or SST-14 in the presence of 1 $\mu$ M of the SST<sub>1-5</sub> antagonist cyclosomatostatin (cycl. + SST-14) (**d**). EPSPs are average for -5 to 0 min baseline (pre) and 30 to 35 min after application (post). **e** Summary time plots of EPSPs (normalized to baseline), showing potentiation of EPSPs after SST-14 application (green), prevented by co-application of the SST<sub>1-5</sub> antagonist cyclosomatostatin (orange), and lack of effect of vehicle application (black). For SST-14 group, n = 10 cells and 9 mice, rmANOVA, Dunnett's multiple comparisons (25-30 min p = 0.025, 30-35 min p = 0.023). For vehicle group, n = 9 cells and 6 mice, rmANOVA p = 0.864. For cyclostomatostatin + SST-14 group, n = 8 cells and 5 mice, rmANOVA p = 0.382. **f** Summary bar graph of EPSP amplitude at 30-35 minutes after application, showing long-term potentiation after SST-14, and no effect after either SST-14 with SST<sub>1-5</sub> antagonist, vehicle, cyclosomatostatin alone, or DMSO (vehicle for cyclosomatostatin) (Veh vs SST-14 group, two-way mixed ANOVA, univariate analysis at 30-35min p = 0.010; SST-14 vs Cycl. + SST-14 group, two-way mixed ANOVA, univariate analysis at 30-35min p = 0.002; Cycl. + SST-14 vs Cycl. and vs DMSO group, two-way mixed ANOVA p = 0.602). **g** Summary bar graph showing no change in cell input resistance before (-5-0 min), during (0-5 min) and after (30-35 min) vehicle or SST-14 application. Two-way mixed ANOVA, p = 0.554. \* p < 0.05; \*\* p < 0.01; ns: not significant.

#### Figure 2

SST<sub>1-5</sub> antagonist cyclosomatostatin prevents Hebbian LTP. **a** Image showing microelectrodes configuration for stimulation and recording during TBS-induced LTP experiments. **b, c** Current clamp recording of EPSPs (top) and time plots of EPSP amplitude from representative cells receiving TBS in the presence of DMSO (0.01%) (**b**) or the SST<sub>1-5</sub> antagonist cyclosomatostatin (1 $\mu$ M) (**c**). **d** Summary time plots of EPSPs (normalized to baseline), showing that TBS in the presence of DMSO induces LTP of EPSPs (blue), but TBS in the presence of cyclosomatostatin does not (back). For DMSO group, n = 10 cells and 6 mice, rmANOVA, Dunnett's multiple comparisons (5-10 min p = 0.040, 10-15 min p = 0.009, 15-20 min p = 0.006, 20-25 min p = 0.006, 25-30 min p = 0.002). For cyclosomatostatin group, n = 12 cells

and 6 mice, rmANOVA,  $p = 0.124$ . **e** Summary bar graph of EPSP amplitude at 25-30 minutes after TBS showing LTP in DMSO but not in cyclosumatostatin. Two-way mixed ANOVA with univariate analysis of variance, 25-30 min  $p = 0.0003$ . \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: not significant.

### Figure 3

Cysteamine treatment lowers SST levels and prevents Hebbian LTP. **a** Representative images (left) and summary bar graph (right) showing reduction of SST immunofluorescence in eYFP-expressing SOM-INs after cysteamine injection (vehicle  $n = 3$  mice, cysteamine  $n = 3$  mice, unpaired t-test  $p = 0.047$ ). **b** EPSPs from representative cells (top) and summary time plots of EPSPs (bottom), showing LTP induced by TBS in vehicle injected mice (blue), and absence of LTP (but EPSP depression) in cysteamine injected mice (black). For vehicle group,  $n = 11$  cells and 8 mice, rmANOVA, Dunnett's multiple comparisons (15-20 min  $p = 0.028$ , 20-25 min  $p = 0.016$ , 25-30 min  $p = 0.0007$ ). For cysteamine group,  $n = 11$  cells and 6 mice, rmANOVA, Dunnett's multiple comparisons (15-20 min  $p = 0.040$ , 20-25 min  $p = 0.026$ , 25-30 min  $p = 0.005$ ). **c** Summary bar graph, showing absence of LTP at 25-30 minutes after TBS in cysteamine injected mice (two-way mixed ANOVA with univariate analysis of variance,  $p < 0.0001$ ). **d-f** Similar data presentation showing effects of incubation for one hour of slices with cysteamine. **(d)** Cysteamine treatment reduces SST immunofluorescence in SOM-INs (vehicle  $n = 4$  mice, cysteamine  $n = 4$  mice, unpaired t-test  $p = 0.029$ ). **(e)** Cysteamine treatment prevents TBS induction of LTP. For vehicle group,  $n = 9$  cells and 7 mice, rmANOVA, Dunnett's multiple comparisons (10-15 min  $p = 0.027$ , 15-20 min  $p = 0.008$ , 25-30 min  $p = 0.027$ ). For cysteamine group,  $n = 12$  cells and 7 mice, rmANOVA  $p = 0.097$ . **(f)** Summary bar graph showing absence of LTP after cysteamine treatment (two-way mixed ANOVA with univariate analysis of variance, 25-30 min  $p = 0.0001$ ). \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; ns: not significant.

### Figure 4

LTP induced by SST-14 does not require NMDAR or mGluR1a. **a** Summary time plots of EPSP amplitude for experiments with application of SST-14 in the presence (black) and absence (green) of the NMDAR antagonist DL-APV (50  $\mu\text{M}$ ), indicating a similar slow onset LTP in both groups (SST-14,  $n = 7$  cells, 5 mice; SST-14 + DL-APV,  $n = 8$  cells, 6 mice; two-way mixed ANOVA  $p = 0.781$ , main effect of time  $p < 0.0001$  with Bonferroni's multiple comparisons at 30-35 min  $p = 0.016$ ). **b** Summary bar graph of EPSP amplitude, showing similar LTP at 30-35 minutes post application. **c** Summary time plots of EPSP

amplitude for experiments with application of SST-14 in the presence (black) and absence (green) of the mGluR1a antagonist LY367385 (40  $\mu$ M), showing similar LTP in both groups (SST-14, n = 9 cells, 7 mice; SST-14 + LY 367385, n = 10 cells, 7 mice; two-way mixed ANOVA p = 0.613, main effect of time p < 0.0001 with Bonferroni's multiple comparisons at 25-30 min p = 0.004, 30-35 min p = 0.005). **d** Summary bar graph of EPSP amplitude indicating similar LTP at 30-35 minutes post application. **e** EPSPs from a representative cell receiving paired-pulse stimulation before and after SST-14 application (right) and summary bar graph (left) showing similar paired-pulse ratio before (-5 to 0 min) and after (30-35 min) SST-14 application (n = 16 cells from SST-14 groups in (a) and (c); paired t-test p = 0.531). \* p < 0.05; \*\* p < 0.01; ns: not significant.

### Figure 5

LTP of EPSPs is dependent on synaptic stimulation in the presence of SST-14. **a, b** Examples of EPSPs (top) and summary time plots from representative cells receiving no synaptic stimulation during the 5 min SST-14 (**a**) or vehicle (**b**) application and a 5 min wash-out. **c** Summary time plots of EPSPs for all cells showing a rebound potentiation of EPSP amplitude in both groups (Vehicle, n = 10 cells and 6 mice; SST-14, n = 9 cells and 7 mice; two-way mixed ANOVA p = 0.258; main effect of time p = 0.004 with Bonferroni's multiple comparisons 25-30 min p = 0.029). **d** Summary bar graph showing no difference in EPSP amplitude at 35-40 minutes after SST-14 or vehicle application. \* p < 0.05; ns: not significant.

### Figure 6

SST-14 does not affect EPSPs in PV-INs or PCs. **a** Montage of fluorescence images showing eYFP expression in hippocampal PV-INs from PV-eYFP mouse. **b, c** Examples of EPSPs (top) and time plots of EPSP amplitude (bottom) from representative PV-INs receiving 5 $\mu$ M SST-14 (**b**) or vehicle (**c**). **d** Summary time plots of EPSPs (normalized to baseline) for all cells, showing that with application of either SST-14 (green) or vehicle (black), EPSPs showed a gradual run-up with no difference between vehicle and SST-14 (Vehicle, n = 10 cells and 6 mice; SST-14, n = 9 cells and 6 mice; two-way mixed ANOVA p = 0.141, main effect of time p = 0.0001 with Bonferroni's multiple comparisons at 10-15 min p = 0.29, 15-20 min p = 0.27, 20-25 min p = 0.042, 25-30 min p = 0.021, 30-35min p = 0.010). **e-g** Similar data presentation showing lack of effect of SST-14 on EPSPs recorded in CA1 PCs. Examples of EPSPs (top) and time plots of EPSP amplitude (bottom) from representative cells receiving SST-14 (**e**) or vehicle (**f**). Summary time plots of EPSPs for all cells (**g**), showing that SST-14 (green) or vehicle (black) did not

affect EPSPs in PCs. Two-way mixed ANOVA  $p = 0.506$ . **h-i** Bar graphs of EPSP amplitude in PV-INs (**h**) and PCs (**i**) at 30-35 minutes after SST-14 or vehicle application showing no difference. \*  $p < 0.05$ ; ns: not significant.

### Figure 7

SST-14 and cyclosomatostatine fail to affect pharmacologically isolated non-NMDAR-mediated EPSCs. **a,b** Voltage clamp recording of EPSCs (top) and time plots of EPSC amplitude from representative SOM-INs receiving 5  $\mu$ M SST-14 (**a**) or vehicle (**b**). EPSCs shown are average for -5 to 0 min baseline period (pre) and 30 to 35 min post-application period (post). **c** Summary time plots of EPSCs (normalized to baseline), showing lack of lasting effects on EPSC amplitude after SST-14 application (green) or vehicle application (black) (vehicle,  $n = 11$  cells and 7 mice; SST-14,  $n = 10$  cells and 6 mice; two-way mixed ANOVA  $p = 0.485$ ). **d, e** EPSCs (top) and time plots of EPSC amplitude from representative SOM-INs receiving TBS in the presence of DMSO (**d**) or 1  $\mu$ M cyclosomatostatine (**e**). EPSCs shown are average for -10 to 0 min baseline period (pre) and 25 to 30 min post-TBS period (post). **f** Summary time plots of EPSCs (normalized to baseline), showing similar LTP of EPSC amplitude induced by TBS in DMSO (blue) and cyclosomatostatine (black). For DMSO group,  $n = 9$  cells and 7 mice, Two-way mixed ANOVA  $p = 0.402$ , main effect of time  $p < 0.0001$  with Bonferroni's multiple comparisons at 20-25 min  $p = 0.019$ , 25-30 min  $p = 0.017$ ). **g** Summary bar graph showing no difference in EPSC amplitude at 30-35 minutes after SST-14 or vehicle application and summary bar graph of EPSC amplitude at 25-30 minutes after TBS showing similar LTP in DMSO \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*\*  $p < 0.0001$ ; ns: no significant.

### Figure 8

SST-14-induced LTP of EPSPs is blocked by GABA<sub>A</sub>R antagonism. **a, b, c** EPSPs (top) and time plots of EPSP amplitude from representative SOM-INs receiving 5  $\mu$ M SST-14 in a normal slice (**a**), SST-14 in a slice with CA3-CA1 cut (**b**), or SST-14 in a slice with CA3-CA1 cut and the GABA<sub>A</sub> receptor antagonist gabazine (5  $\mu$ M) (**c**). **d** Summary time plots of EPSPs (normalized to baseline) for all cells, showing LTP of EPSPs after SST-14 application in normal slices (filled green circle) and in slices with CA3-CA1 cut (open green circle), but not after SST-14 application in the presence of gabazine in slices with CA3-CA1 cut (black). For SST-14 in normal slices;  $n = 10$  cells and 7 mice; rmANOVA with Dunnett's multiple comparisons (0-5 min  $p = 0.008$ , 5-10 min  $p = 0.023$ , 10-15 min  $p = 0.033$ , 15-20 min  $p = 0.033$ , 20-25 min  $p = 0.009$ , 25-30 min  $p = 0.007$ , 30-35 min  $p = 0.009$ ). For SST-14 in slices with CA3 cut;  $n = 11$  cells

and 6 mice; rmANOVA with Dunnett's multiples comparisons (10-15 min  $p = 0.023$ , 15-20 min  $p = 0.046$ , 20-25 min  $p = 0.027$ , 25-35 min  $p = 0.003$ , 30-35 min  $p = 0.004$ ). For SST-14 in gabazine;  $n = 11$  cells and 6 mice; rmANOVA  $p = 0.974$ . **e** Summary bar graph of EPSP amplitude at 30-35 minutes, showing absence of long-term changes in EPSP amplitude induced by SST-14 in the presence of gabazine. SST-14 vs SST-14 in gabazine comparison, two-way mixed ANOVA, univariate analysis at 30-35 min  $p = 0.001$ . SST-14 with CA3 cut vs SST-14 with CA3 cut and gabazine comparison, two-way mixed ANOVA, univariate analysis at 30-35 min  $p = 0.001$ . **f** Model of the mechanism of SST actions in LTP of excitatory synapses onto SOM-INs (details in text). \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$



### 3.8 Figures

Fig 1

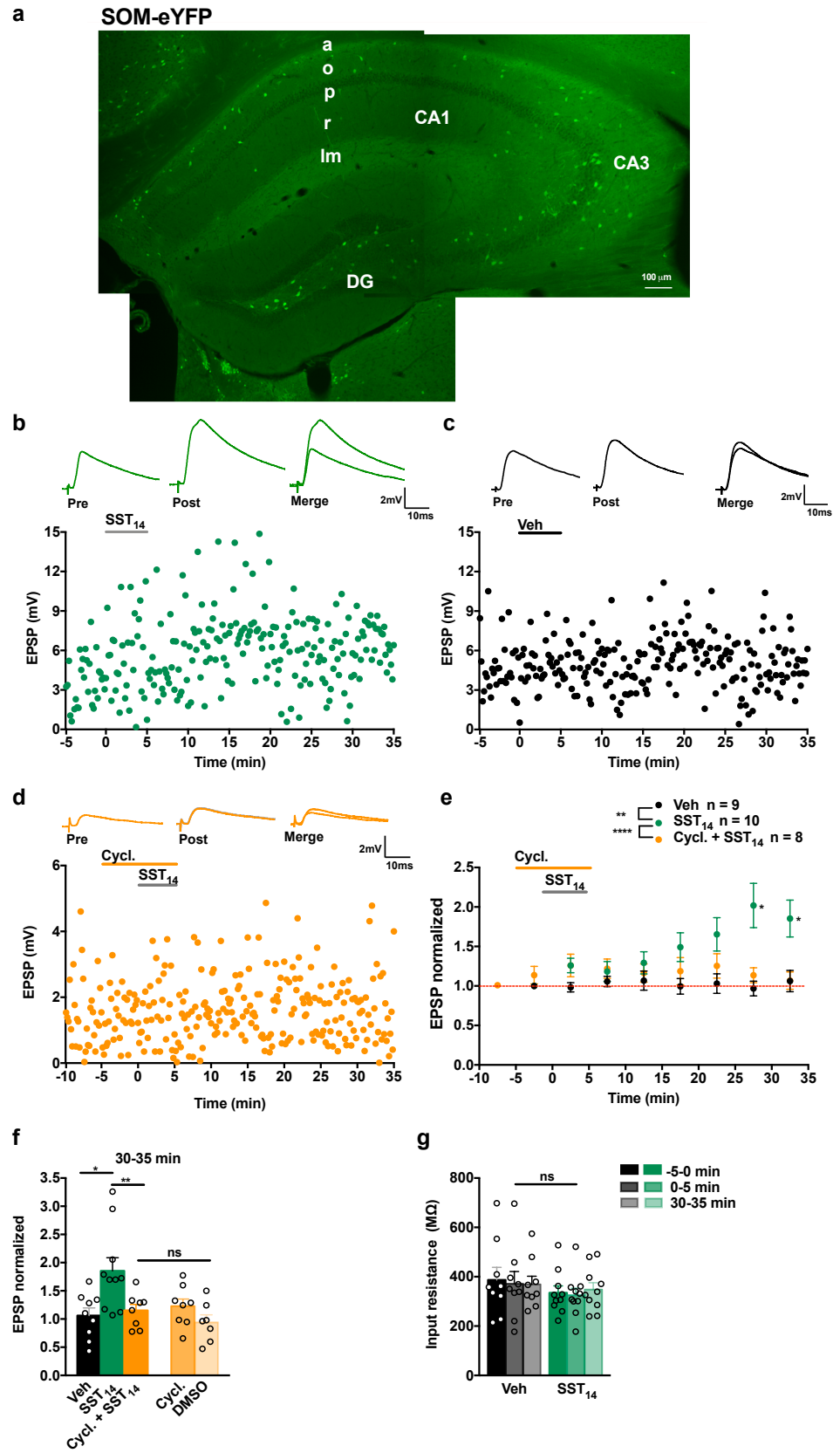


Figure 3.1

Fig 2

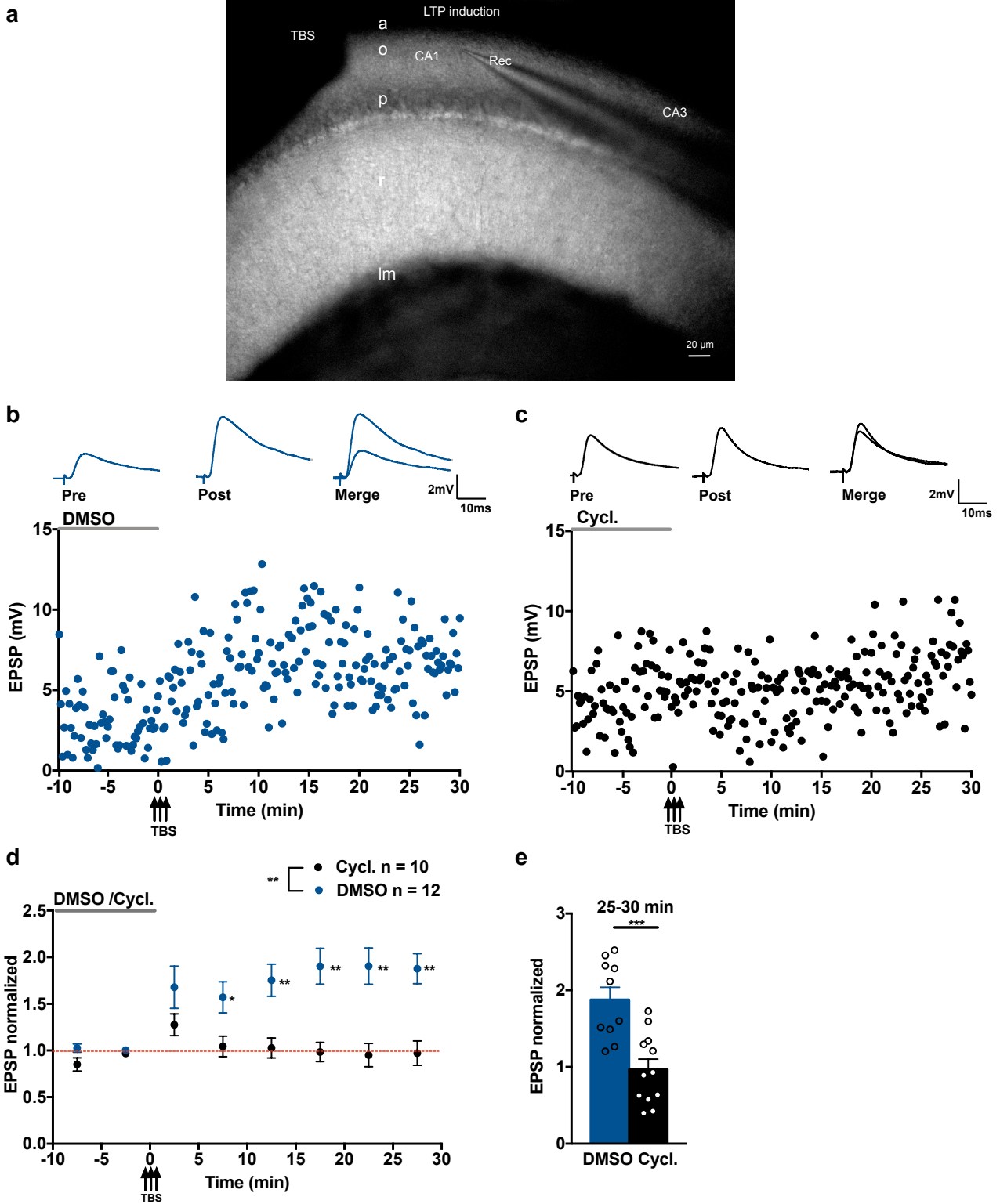


Figure 3.2

Fig 3

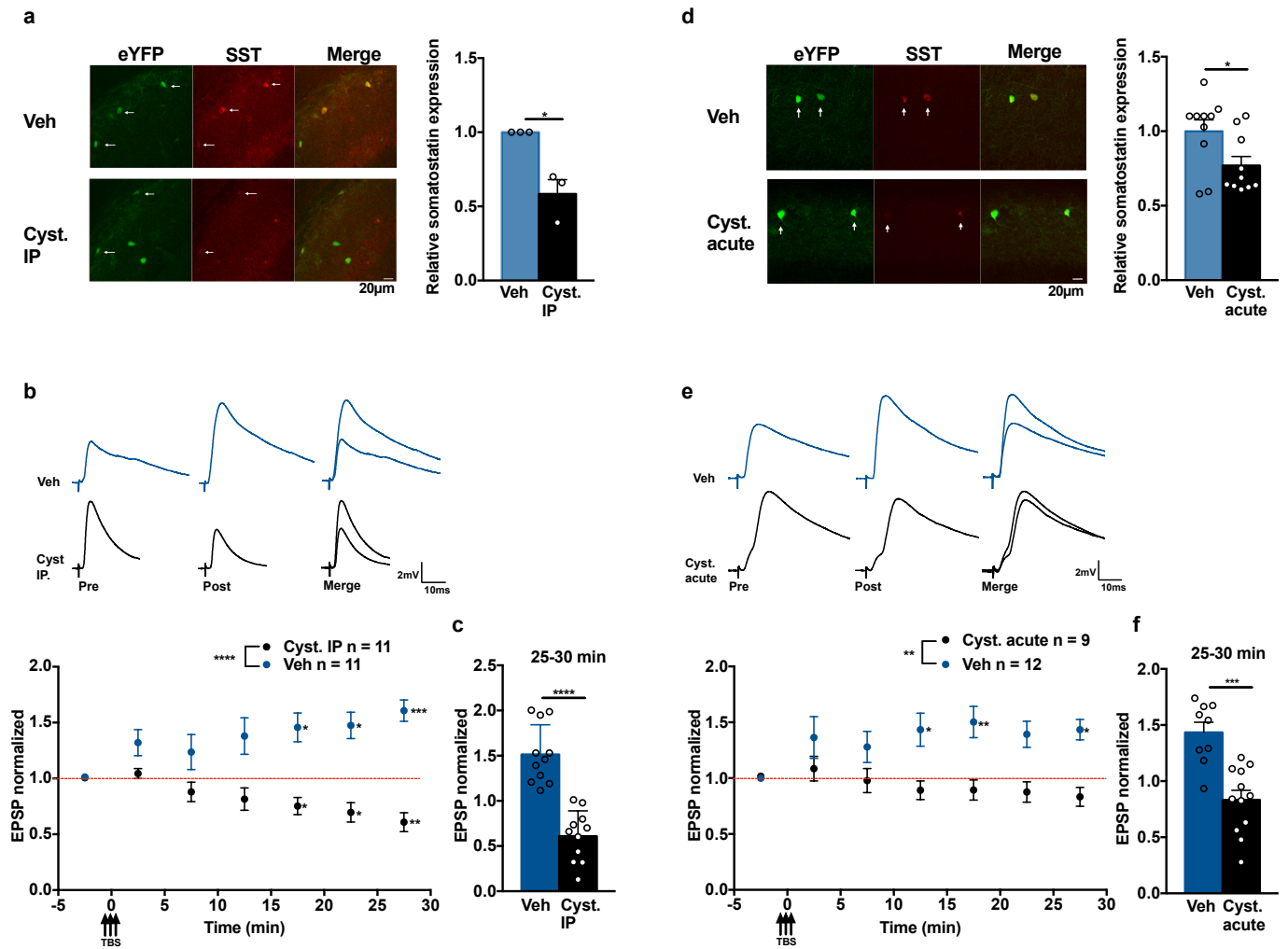


Figure 3.3

Fig 4

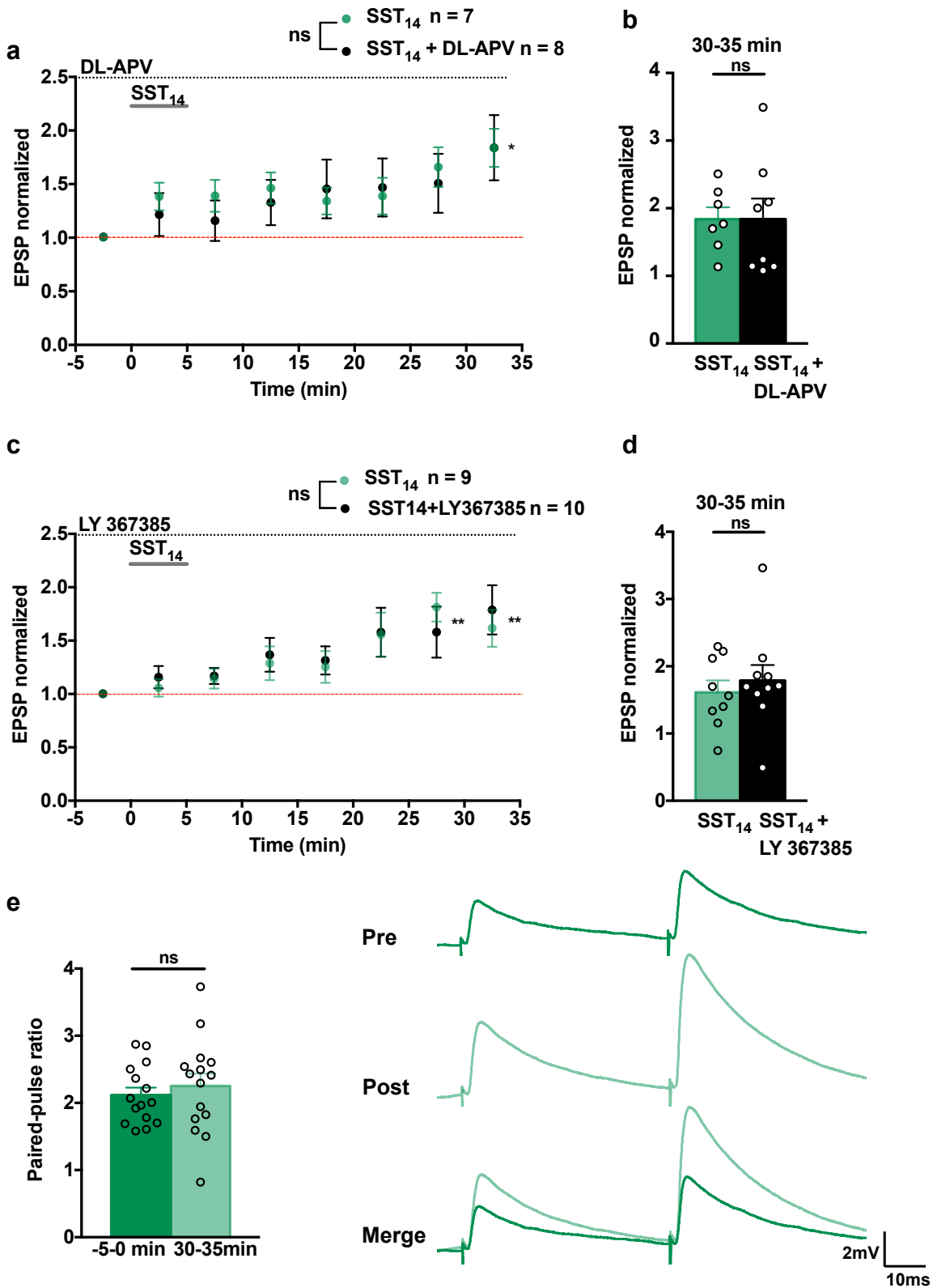


Figure 3.4

Fig 5

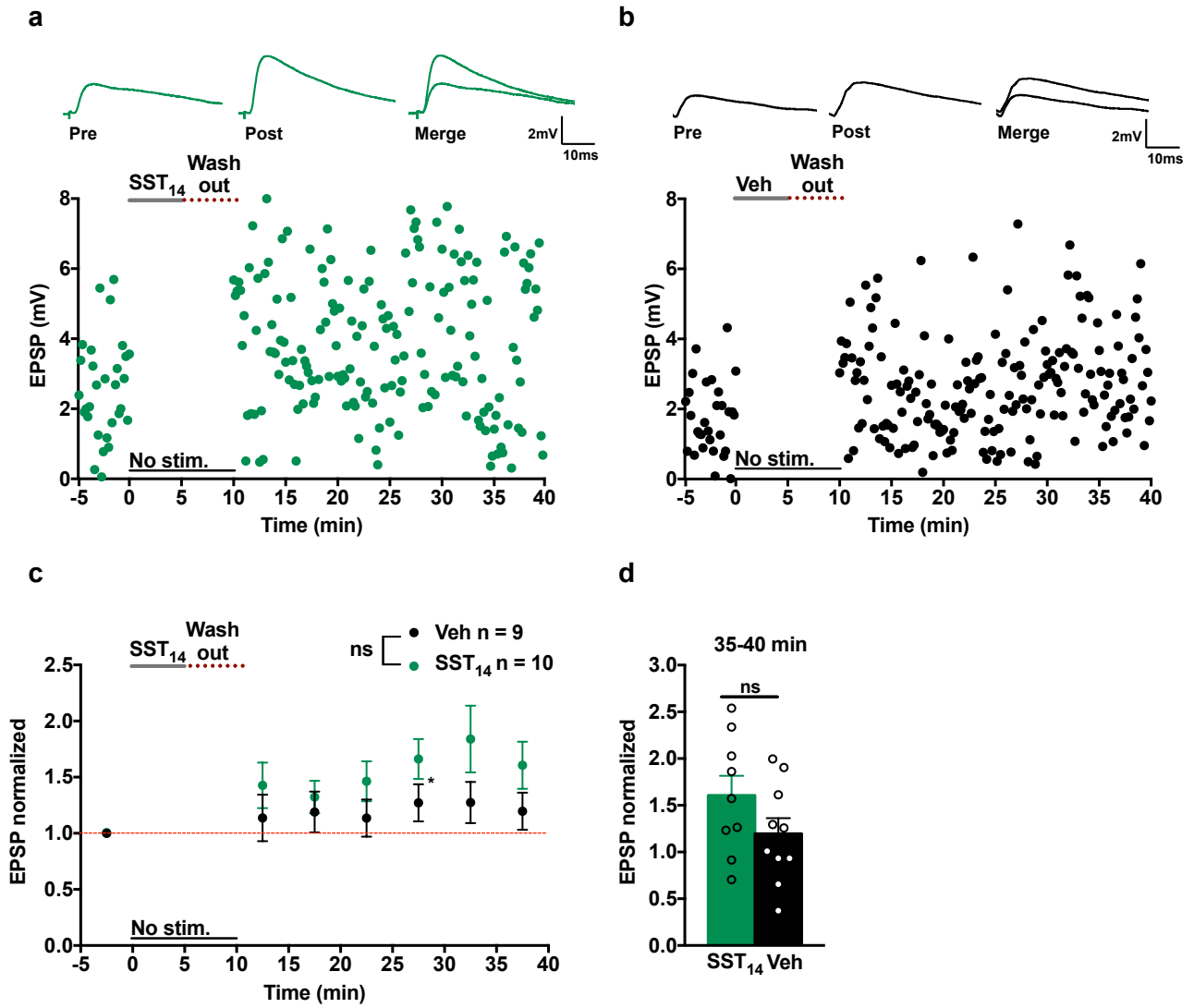
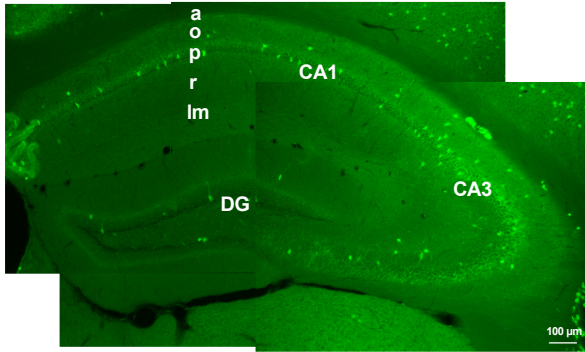


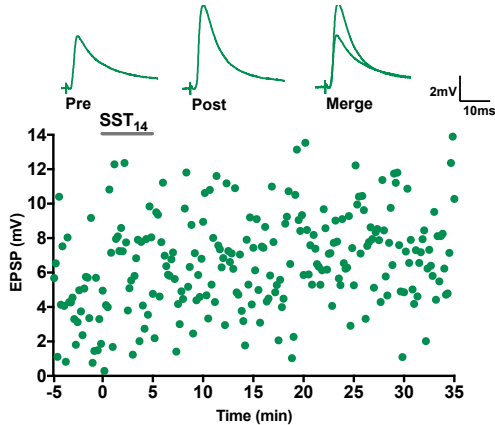
Figure 3.5

Fig 6

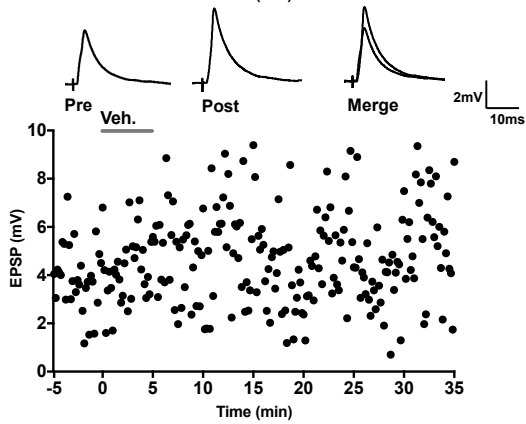
a PV-eYFP



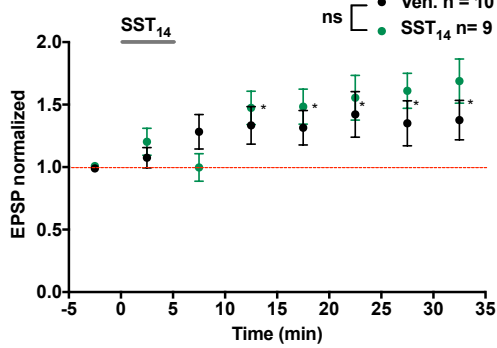
b



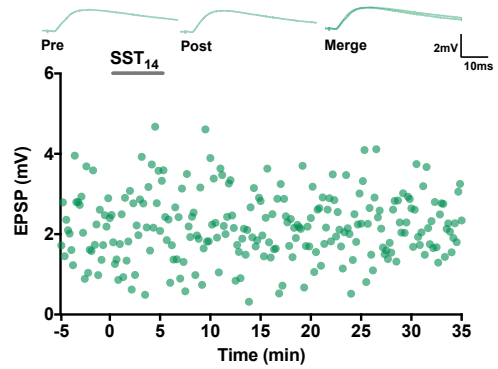
c



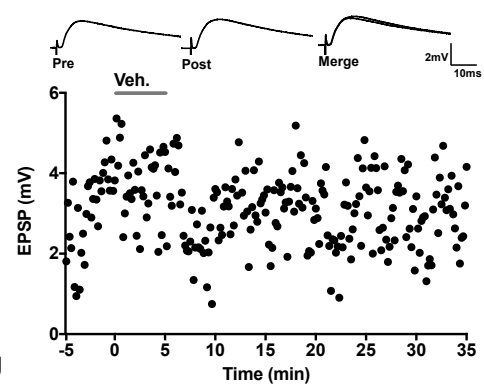
d



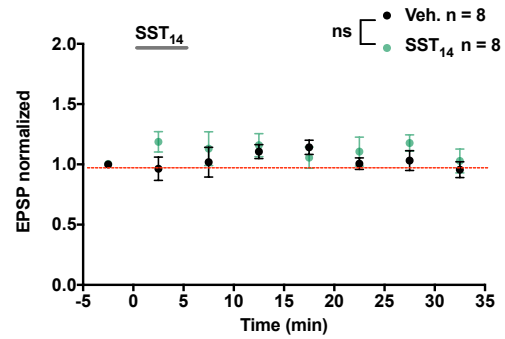
e Pyramidal Cells



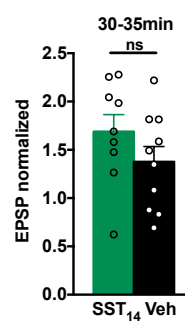
f



g



h PV-Ins



i Pyramidal Cells

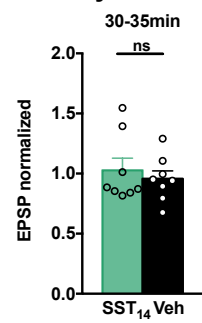


Figure 3.6

Fig. 7

Minimally-evoked EPSCs

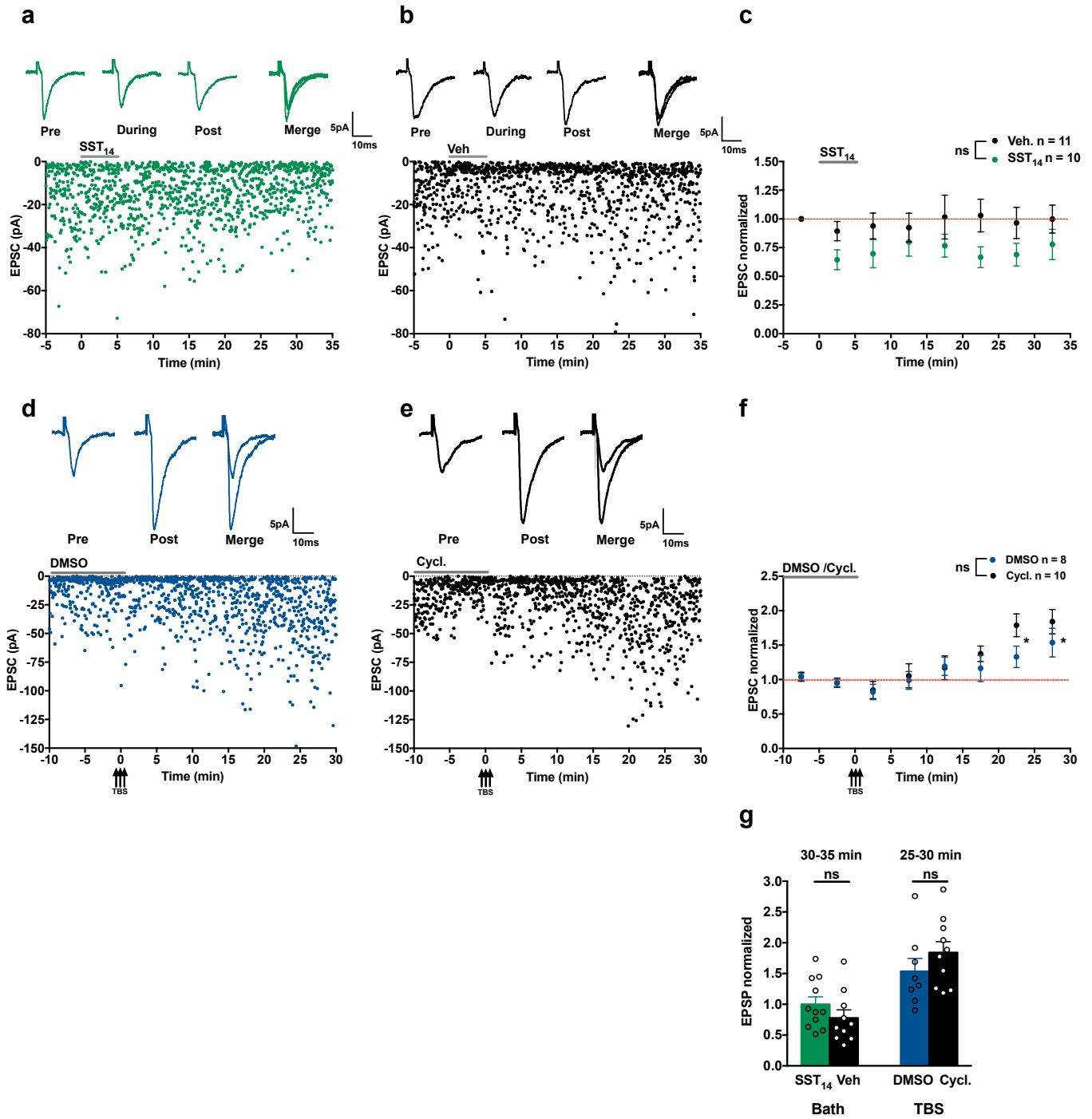


Figure 3.7





### 3.9 Tableau supplémentaire – Statistiques

Figure	Panel	Group size	Test	Statistic	P values	Statistic 2	P values 2	
<b>1</b>	<b>e</b>	Veh n = 9 SST <sub>14</sub> n = 10	2-way mixed ANOVA (Condition x time)	Interaction: F(2,682; 45, 600) = 5.168	p = 0.005			
			rmANOVA veh rmANOVA SST <sub>14</sub>	F(3,118; 24,947) = 0.255 F(2,247; 20,222) = 7.046	p = 0.864 p = 0.004	Dunnett's multiple comparisons	25-30min p = 0.025 30-35min p = 0.023	
		Cycl + SST n = 8 SST <sub>14</sub> n = 10	2-way mixed ANOVA (Condition x time)	Interaction: F(2,793; 44,692) = 10.638	p < 0.0001			
			rmANOVA cyst+SST Univariate analysis of variance (30-35min)	F(3,151; 22,060) = 1.075 F(1, 17) = 8.141	p = 0.382 p = 0.010			
	Cycl + SST n = 8 SST <sub>14</sub> n = 10	Univariate analysis of variance (30-35min)	F(1, 16) = 12.984	p = 0.002				
		DMSO n = 7 Cycl n = 8 Cycl + SST n = 8	2-way mixed ANOVA (Condition x time)	F(8,756; 87,563) = 0.814	p = 0.0602			
	<b>2</b>	<b>g</b>	Veh n = 9 SST <sub>14</sub> n = 10	Main effect time Main effect group	F(1,36; 23, 18) = 0.310 F(1, 17) = 0.672	p = 0.653 p = 0.424		
				2-way mixed ANOVA (Condition x time)	F(1,36; 23, 18) = 0.479	p = 0.554		
			DMSO n = 12 Cycl. n = 10	<i>Input resistance</i> 2-way mixed ANOVA (condition x time)	Interaction F(3,027; 60,546) = 5.849	p = 0,001		
				rmANOVA Cycl rmANOVA DMSO	F(3,008; 33,091) = 2.062 F(9, 63) = 7,636 p < 0.0001	p = 0.124 p < 0.0001	Dunnett's multiple comparisons	5-10min p = 0.040 10-15min p = 0.009 15-20min p = 0.006 20-25min p = 0.006 25-30min p = 0.002
<b>e</b>		DMSO n = 12 Cycl. n = 10	Univariate analysis of variance (25-30min)	F(1,20) = 19.330	p = 0.0003			
			Cyst. IP n = 3 mice Veh n = 3 mice	Unpaired t -test	t(4) = 4.280	p = 0.049		

<b>b</b>	Cyst. IP n = 11 Veh n = 11	2-way mixed ANOVA (condition x time) rmANOVA Cyst IP	F(3,491; 69,829) = 12.118 F(2,946; 29,458) = 7.859	p < 0.0001 p = 0.001	Dunnett's multiple comparisons	15-20min p = 0.04 20-25min p = 0.03 25-30min p = 0.005
		rmANOVA Veh	F(3,040; 30,401) = 6,013	p = 0.002	Dunnett's multiple comparisons	15-20min p = 0.028 20-25min p = 0.016 25-30min p = 0.0007
	Cyst. IP n = 11 Veh n = 11	Univariate analysis of variance (25-30min) Unpaired t-test	F(1,20) = 61.005 t(18) = 2.367	p < 0.0001 p = 0.029		
	Cyst acute n = 4 mice Veh n = 4 mice	2-way mixed ANOVA (condition x time)	F(3,272; 62,165) = 4.042	p = 0.009		
<b>c</b>	Cyst acute n = 9 Veh = 12	rmANOVA Cyst acute rmANOVA Veh	F(3,201; 35,215) = 2.242 F(6, 48) = 2.504	p = 0.097 p = 0.035	Dunnett's multiple comparisons	10-15min p = 0.027 15-20min p = 0.008 25-30min p = 0.027
	Cyst acute n = 9 Veh = 12	Univariate analysis of variance (25-30min) 2-way mixed ANOVA (condition x time)	F(1,19) = 22.789 F(7, 91) = 0.567	p = 0.0001 p = 0.781		
	SST <sub>14</sub> n = 7 SST <sub>14</sub> + n = 8 DL-APV	Main effect of time	F(7, 91) = 8.214	p < 0.0001	Bonferroni's multiple comparisons	30-35min p = 0.016
		Main effect of group 2-way mixed ANOVA (condition x time)	F(1, 13) = 0.066 F(3,191; 54,251) = 0.546	p = 0.865 p = 0.664		
<b>c</b>	SST <sub>14</sub> n = 9 SST <sub>14</sub> + n = 10 LY367385	Main effect of time	F(3,191; 54,251) = 11.313	p < 0.0001	Bonferroni's multiple comparisons	25-30min p = 0.004 30-35min p = 0.005
		Main effect of group Paired t-Test	F(1,17) = 0.030 t(14) = 0.642	p = 0.863 p = 0.531		
<b>5</b>	Veh n = 9	2-way mixed ANOVA	F(2,861; 48,637) = 1.390	p = 0.258		

	SST <sub>1,4</sub> n = 10	(condition x time)				
		Main effect of time	F(2.861; 48.637) = 5.176	p = 0.004	Bonferroni's multiple comparisons	25-30min p = 0.029
<b>6</b>	Veh n = 10 SST <sub>1,4</sub> n = 9	Main effect of group 2-way mixed ANOVA (condition x time) <i>PLNs</i>	F(1, 17) = 2.153 F(2.557; 43.471) = 1.969	p = 0.161 p = 0.141		
		Main effect of group Main effect of time	F(1, 17) = 0.510 F(2.557; 43.471) = 9.503	p = 0.485 p = 0.0001	Bonferroni's multiple comparisons	10-15min p = 0.029 15-20min p = 0.027 20-25min p = 0.042 25-30min p = 0.021 30-35min p = 0.010
<b>7</b>	Veh n = 8 SST <sub>1,4</sub> n = 8	2-way mixed ANOVA (condition x time) <i>PCs</i>	F(7, 98) = 0.905	p = 0.506		
		Main effect of time Main effect of group 2-way mixed ANOVA (condition x time)	F(7, 98) = 1.017 F(1, 14) = 0.945 F(3.058; 58.106) = 0.829	p = 0.424 p = 0.348 p = 0.485		
<b>8</b>	DMSO n = 8 Cycl. n = 10	Main effect of time Main effect of group 2-way mixed ANOVA (condition x time)	F(3.058; 58.106) = 1.305 F(1, 19) = 3.332 F(3.838; 61.402) = 1.021	p = 0.281 p = 0.084 p = 0.402		
		Main effect of time	F(3.838; 61.402) = 11.851	p < 0.0001	Bonferroni's multiple comparisons	20-25min p = 0.019 25-30min p = 0.017
<b>8</b>	SST <sub>1,4</sub> n = 10 SST <sub>1,4</sub> + CA3 cut n = 11 SST <sub>1,4</sub> + CA3 cut	Main effect of group <u>SST<sub>1,4</sub> vs SST<sub>1,4</sub> + CA3 cut + Gabazine</u> 2-way mixed ANOVA (condition x time)	F(1, 16) = 1.247 F(2.729; 51.845) = 7.071	p = 0.281 p = 0.001		

+ Gabazine n = 11								
	rmANOVA	SST <sub>14</sub>	F(2.425 ; 21.828) = 8.641	p = 0.001	Dunnett's multiple comparisons	0-5min p = 0.008		
	rmANOVA	SST <sub>14</sub> , ∅ CA3+ Gabazine	F(2.529 ; 25.293) = 0.974	p = 0.498		5-10min p = 0.023		
						10-15min p = 0.033		
						15-20min p = 0.033		
						20-25min p = 0.009		
						25-30min p = 0.007		
						30-35min p = 0.009		
	<u>SST<sub>14</sub> + CA3 cut vs SST<sub>14</sub> + CA3 cut + Gabazine</u>							
	2-way mixed ANOVA (condition x time)		F(3.395; 67.906) = 6.371	p = 0.0004				
	rmANOVA	SST <sub>14</sub> + cut CA3	F(3.280; 32.803) = 9.814	p < 0.0001	Dunnett's multiple comparisons	10-15min p = 0.023		
						15-20min p = 0.046		
						20-25min p = 0.027		
						25-30min p = 0.003		
						30-35min p = 0.004		
<b>e</b>	SST <sub>14</sub> n = 10	Univariate analysis of variance (30-35min)	F(1, 19) = 16.828	p = 0.001				
	SST <sub>14</sub> , ∅ <sub>CA3</sub> + Gabazine n = 11							
	SST <sub>14</sub> , ∅ <sub>CA3</sub> n = 11	Univariate analysis of variance (30-35min)	F(1, 22) = 16.133	p = 0.001				
	SST <sub>14</sub> , ∅ <sub>CA3</sub> + Gabazine n = 11							

**Chapitre 4**  
**Discussion générale**

## 4.1 Rappel des principaux résultats

Les objectifs du présent mémoire sont les suivants :

1. Examiner l'application de la SST-14 exogène aux synapses excitatrices des SOM-INs.
2. Étudier le rôle de la SST endogène dans la PLT dépendante des mGluR1a.
3. Étudier le mécanisme derrière l'effet de la SST aux synapses excitatrices des SOM-INs et lors de la PLT dépendante des mGluR1a.

Ces objectifs avaient comme buts de mieux comprendre l'implication de la SST dans la plasticité synaptique des INs exprimant ce neuropeptide, et de mieux connaître les mécanismes d'action. Ultiment ces connaissances peuvent également contribuer à mieux comprendre le rôle de la SST dans l'apprentissage et la mémoire dépendante de l'hippocampe.

Ainsi, les résultats obtenus dans la présente étude suggèrent que :

1. Le neuropeptide exogène SST-14 potentialise les PPSE des synapses excitatrices des SOM-INs. Ce peptide agit par les récepteurs SST<sub>1-5</sub>. Cette potentialisation serait propre à ces synapses puisqu'aucun changement significatif dans les PPSE des CP et des PV-INs n'a été observé après l'application de ce peptide.
2. La PLT dépendante des mGluR1a a été partiellement inhibée avec l'application de l'antagoniste des récepteurs SST<sub>1-5</sub> pendant la téτανisation. Des résultats similaires ont été obtenus lorsque les tranches d'hippocampe ont été traitées au préalable à la cystéamine afin de dépléter les réserves de SST endogène. Cependant, après l'injection IP de cystéamine, la téτανisation a généré une dépression synaptique, au lieu d'une potentialisation. Globalement, ces résultats suggèrent un effet de la SST endogène dans la PLT dépendante des mGluR1a.
3. La potentialisation induite par la SST-14 ne nécessite pas les récepteurs NMDAR ni les mGluR1a, en plus de n'avoir aucun effet sur le *paired-pulse ratio*. Toutefois, l'effet potentialisateur de la SST-14 dépend de l'activité synaptique concomitante. De plus, la SST-14 n'a pas affecté les CPSE lorsque les récepteurs GABA<sub>A</sub> étaient bloqués pharmacologiquement. L'application de l'antagoniste des récepteurs SST<sub>1-5</sub> n'a pas inhibé la PLT des CPSE dépendante des mGluR1a induite par téτανisation. Finalement, l'inhibition des récepteurs GABA<sub>A</sub> par son antagoniste a bloqué la potentialisation des PPSE induite par la SST-14. Ces résultats suggèrent que l'action de la SST-14 est indirecte via l'inhibition GABA<sub>A</sub>.

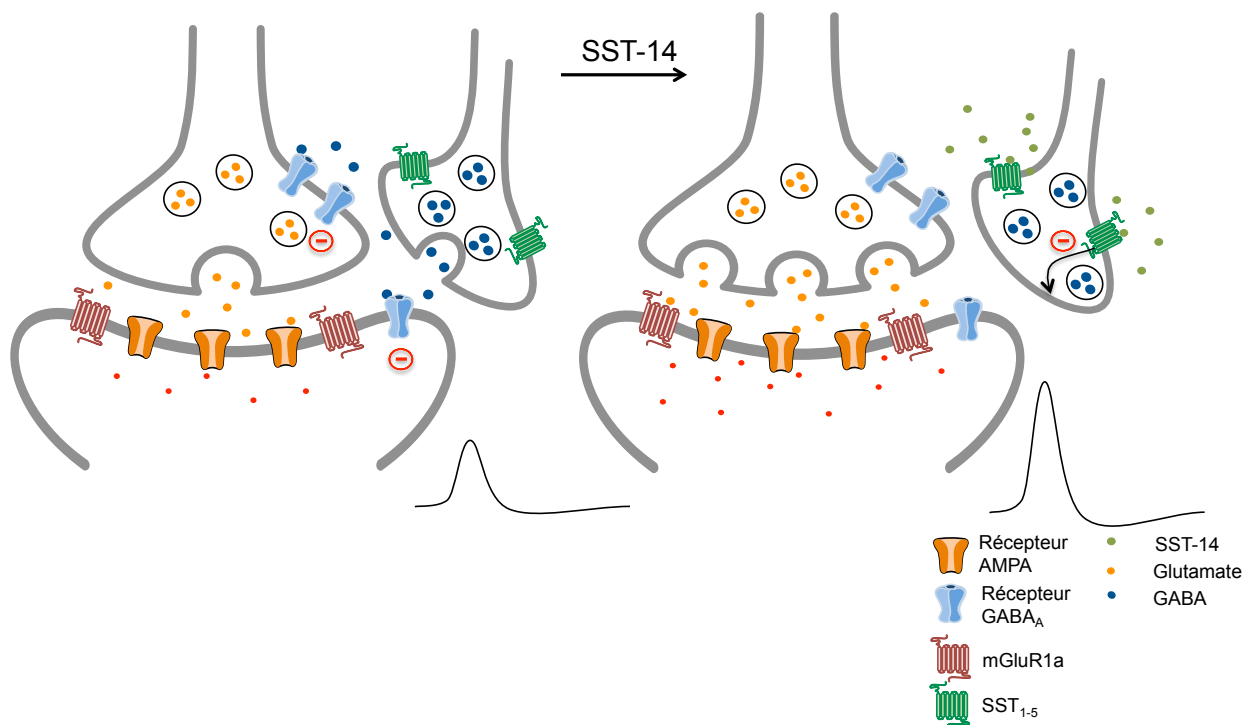
Ces résultats permettent de mettre en évidence un rôle de la SST sur plusieurs aspects de la plasticité synaptique des SOM-INs et un mécanisme possible sous-tendant l'action de ce peptide.

## **4.2 L'action de la SST sur les synapses excitatrices des SOM-INs est modulée par l'inhibition GABA<sub>A</sub>**

Il a été rapporté que les récepteurs NMDAR et mGluR1a jouent un rôle dans la plasticité synaptique des SOM-IN (Perez, Morin et al. 2001, Kullmann and Lamsa 2007). Cependant, nous n'avons pas observé de changement dans la potentialisation des PPSE induite par la SST-14 lors d'application d'antagoniste spécifique à chacun de ces récepteurs. Ceci suggère que la SST-14 agirait en aval des mGluR1a qui sont requis pour le PLT dépendante des mGluR1a, en plus d'agir indépendamment des NMDAR.

Les CPSE enregistrés aux synapses excitatrices des SOM-INs n'ont pas été potentialisés à la suite de l'application de la SST-14 contrairement aux PPSE. Il est important de noter que les CPSEs ont été enregistrés en présence de DL-APV et de gabazine, antagonistes des récepteurs NMDAR et GABA<sub>A</sub>. Cette absence de PLT lors d'enregistrements CPSE suggère qu'une composante externe induite par la SST est inhibée, ne pouvant ainsi pas contribuer à la potentialisation de la synapse excitatrice. À l'inverse, cette même composante externe à la synapse excitatrice serait présente lors des enregistrements des PPSE. Nous avons rapporté précédemment que les récepteurs NMDA ne semblent pas jouer un rôle dans la PLT induite par SST-14, donc l'antagoniste des NMDAR n'est probablement pas impliqué. Cependant l'inhibition des récepteurs GABA<sub>A</sub> par la gabazine était un élément qui différait entre les enregistrements des CPSE et des PPSE. Ainsi, nous avons donc observé une absence de potentialisation des PPSE par la SST-14 en présence de gabazine. L'ensemble de ces résultats suggère un mécanisme pour la PLT induite par la SST-14 impliquant indirectement les récepteurs GABA<sub>A</sub>.

Selon ce modèle la SST-14 active des récepteurs SST<sub>1-5</sub> sur une terminaison GABAergique présente à la synapse glutamatergique. L'activation des récepteurs SST<sub>1-5</sub> enclencherait une cascade moléculaire résultant en l'inhibition de la libération du neurotransmetteur GABA. Cette absence de libération de GABA résulterait alors en une perte de l'inhibition modulée par les récepteurs GABA<sub>A</sub> au niveau pré-synaptique ou post-synaptique de la synapse glutamatergique. Cette action indirecte produirait une potentialisation de la synapse glutamatergique par l'application de SST-14. (Figure 4.1). Cette potentialisation serait bloquée par la cyclosomatostatine.



**Figure 4.1 Mécanisme de la PLT induite par le peptide SST-14.** La SST-14 exogène agit sur les SST<sub>1-5</sub> à une terminaison GABAergique. La terminaison GABAergique inhibe la synapse glutamatergique via des récepteurs GABA<sub>A</sub> pré- ou post-synaptiques. L'activation des SST<sub>1-5</sub> par SST-14 inhibe la libération de GABA, et ainsi la synapse glutamatergique est potentialisée. Cet effet de la SST-14 est bloqué par l'antagoniste des SST<sub>1-5</sub>, la cyclosomatostatine.

Nous proposons un effet excitateur de la SST-14 par un mécanisme où la SST-14 a une action indirecte via l'inhibition GABA<sub>A</sub> à la synapse glutamatergique. Une étude antérieure a rapporté un effet excitateur de la SST sur les CPs (Dodd and Kelly 1978). Dans cette étude, la SST induit une dépolarisation et une augmentation de l'excitabilité rapide et réversible des CP de la région de CA1 (Dodd and Kelly 1978). Nos résultats suggèrent un effet excitateur indirect de la SST-14 sur les synapses des PCs aux SOM-INs. Par contre, les travaux de (Scharfman and Schwartzkroin 1989) propose une action de la SST sur l'inhibition synaptique des cellules pyramidales via une inhibition pré-synaptique de la libération de GABA. C'est un mécanisme similaire à celui proposé dans le cadre de notre étude. Toutefois, la nature des mécanisme pré- ou post-synaptiques reste à examiner.

Il est également pertinent de mentionner que l'effet potentialisateur que nous rapportons diffère de nombreuses études. Ces études ont avancé que la SST aurait un effet plutôt hyperpolarisant (Pittman and Siggins 1981, Moore, Madamba et al. 1988, Tallent and Siggins 1997), ou bien que son effet pouvait varier selon l'endroit où le peptide est appliqué sur la CP (Scharfman and Schwartzkroin

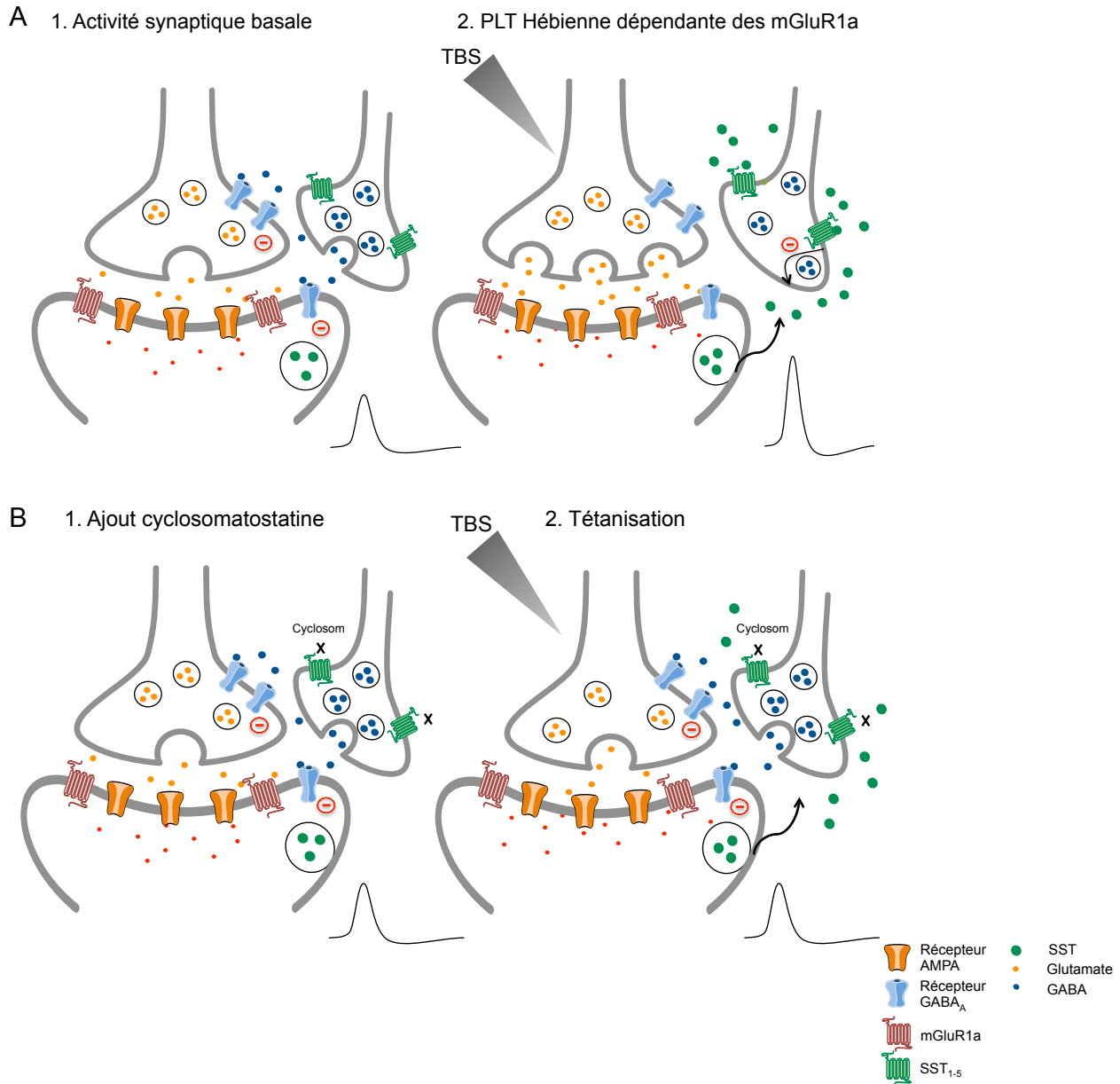


1988). Ceci témoigne bien de la complexité des effets de la SST et de la nécessité d'étudier son action sur les divers types cellulaires de l'hippocampe.

### **4.3 Rôle de la SST endogène dans la PLT dépendante des mGluR1a**

L'expression de la SST endogène des SOM-INS est abondamment utilisée afin d'identifier cette population d'IN (Tricoire, Pelkey et al. 2011, Liguz-Leczna, Urban-Ciecko et al. 2016, Booker and Vida 2018). Cependant, le rôle de ce peptide dans la plasticité synaptique des SOM-INS n'a pas été étudié à notre connaissance. Nous avons donc étudié l'implication de la SST endogène dans la PLT dépendante des mGluR1a spécifique aux SOM-INS de la région du CA1 (Perez, Morin et al. 2001). Pour ce faire un antagoniste non-sélectif des SST<sub>1-5</sub>, la cyclosomatostatine, a été employé. La PLT de l'amplitude des PPSE induite par stimulation à haute fréquence a été bloquée en présence de cyclosomatostatine. Ceci suggère une implication de la SST dans cette PLT.

Ensuite, la PLT dépendante des mGluR1a des CPSE n'a pas été inhibée par la cyclosomatostatine en présence de bloqueur de l'inhibition GABA<sub>A</sub>. Cela semble corroborer nos résultats mentionnés ci-dessus, où la SST-14 ne produisait aucune potentialisation sur les CPSE. Dans les deux situations, les changements examinés sur l'amplitude des PPSE n'ont pu être observés. Les résultats suggèrent donc qu'il y a une libération de SST endogène par les SOM-INS induite par la téτανisation des afférences glutaminergiques. La SST endogène pourrait contribuer à la PLT dépendante des mGluR1a via un mécanisme GABA<sub>a</sub> similaire à celui proposé pour l'action du peptide SST-14 exogène (Figure 4.2).



**Figure 4.2 Mécanisme d'action de la SST endogène lors de la PLT des synapses glutamatergiques des SOM-INS.** **A)** La SST est libérée après une stimulation à haute fréquence de la synapse glutamatergique. La SST ensuite active les récepteurs SST<sub>1-5</sub> sur une terminaison GABAergique. L'activation des récepteurs SST<sub>1-5</sub> inhibe la libération de GABA et bloque l'inhibition GABA<sub>A</sub> pré- ou post-synaptique à la synapse glutamatergique, résultant en sa potentialisation. **B)** La cyclosomatostatine est appliquée 10 minutes avant et pendant la tétanisation. Cet antagoniste lie les SST<sub>1-5</sub>. La stimulation haute fréquence génère la libération de SST. Ce neuropeptide ne peut activer ses récepteurs. La synapse glutamatergique demeure inhibée par la terminaison GABAergique. Ainsi, la synapse n'est pas potentialisée..

La figure 4.2 illustre le mécanisme de l'implication de SST endogène dans la PLT dépendante des mGluR1a. La libération de la SST se produirait à la suite de stimulations à haute fréquence. Ce

neuropeptide serait ainsi relâché par le neurone post-synaptique afin d'atteindre ses récepteurs. Certains de ses récepteurs se trouvant sur un interneurone GABAergique, l'activation de ces derniers produirait une cascade moléculaire dans le but d'inhiber la libération de neurotransmetteur GABA. Ceci aurait pour conséquence de désinhiber la synapse glutamatergique et de la potentialiser.

L'application de l'antagoniste des SST<sub>1-5</sub>, la cyclosomatostatine, aux synapses excitatrices des SOM-INS est un élément important ayant permis d'émettre ce mécanisme. En effet, la liaison de l'antagoniste aux SST<sub>1-5</sub> ne permet pas à la SST de se fixer à ceux-ci. Il n'y a donc pas d'inhibition de la libération de GABA provenant de l'interneurone GABAergique sur la synapse glutamatergique. La synapse glutamatergique n'est donc pas désinhibée, d'où l'absence de PLT. Ce mécanisme pourrait expliquer comment la SST endogène joue un rôle dans la PLT dépendante mGluR1a.

Ce mécanisme proposé attribue un rôle important à la SST lors de la plasticité synaptique de ces INs. Les résultats suggèrent également que la libération de SST se fasse sous des stimulations à haute fréquence comme il a été déjà proposé auparavant pour d'autres neuropeptides (Baraban and Tallent 2004). En effet, l'application de la cyclosomatostatine seule lors de stimulation à basse fréquence de 0,1Hz n'a induit aucun changement sur l'amplitude des PPSE. L'absence de modification de l'amplitude des PPSE suggère que la SST ne serait pas libérée lors d'activité synaptique à basse fréquence. Il a également été rapporté, dernièrement, que la SST serait libérée dans le cortex lors de stimulations optogénétiques à haute fréquence (10Hz), alors qu'elle ne serait pas libérée lors de stimulations à basse fréquence de 5Hz (Dao, Brockway et al. 2019). Une telle libération activité-dépendante est en accord avec le mécanisme suggéré par nos résultats.

#### **4.4 La SST induit un effet potentialisateur graduel, persistant et spécifiques aux synapses excitatrices des SOM-INS**

Dans la présente étude, nous suggérons que le neuropeptide SST-14 potentialise les PPSE aux synapses excitatrices des SOM-INS. Nous avons également proposé que cette potentialisation nécessite l'activation des récepteurs SST<sub>1-5</sub> puisque l'antagoniste non-sélectif de ces récepteurs inhibe l'effet de la SST-14. Aussi, il a été observé que la potentialisation des PPSE des SOM-INS se manifestait de façon progressive. En effet, une augmentation de leur amplitude émerge entre 10 à 20 minutes après le début de l'application du peptide pour croître davantage jusqu'à 35 minutes post application. Alors, un élément intéressant pouvant possiblement justifier ce début progressif de la

potentialisation est l'implication des récepteurs SST<sub>1-5</sub> qui sont des récepteurs couplés à des protéines G, soit des récepteurs métabotropes. De façon générale, il est connu que les effets générés par les récepteurs métabotropes sont plus lents à mettre en place en comparaison à des récepteurs ionotropes. Cela se justifie en raison de cascade de phosphorylation de protéines nécessaire pour générer leur action, alors que les récepteurs ionotropes sont couplés à un canal ionique (Pierce, Premont et al. 2002). Ainsi, les effets résultant de l'activation des récepteurs couplés aux protéines G peuvent être de l'ordre des millisecondes jusqu'à plusieurs minutes (Pierce, Premont et al. 2002).

Ensuite, la présence d'une potentialisation intacte induite par la SST-14 en présence d'antagoniste des NMDAR suggère l'absence d'une composante di-synaptique provenant des synapses des CPs dans cette PLT (Maccaferri and McBain 1996). Cette composante aurait été initiée par les NMDAR pour ensuite générer une PLT de façon plus rapide en raison de phosphorylation et d'insertion de nouveaux récepteurs à la membrane du neurone post-synaptique (Maccaferri and McBain 1996). Ces résultats soutiennent l'hypothèse que la potentialisation induite par la SST est monosynaptique et modulée par l'activation des récepteurs SST<sub>1-5</sub> métabotropes. Ces récepteurs seraient les éléments derrière le début progressif de cette potentialisation.

De plus, la PLT dépendante des mGluR1a nécessite un certain temps pour observer une augmentation dans l'amplitude des PPSE tout comme l'application de la SST-14. Il a déjà été rapporté que cette PLT n'implique pas les NMDAR et qu'elle est dépendante des mGluR1a (Perez, Morin et al. 2001). L'activation de ces récepteurs métabotropes justifierait le début progressif de cette PLT. Cependant, le nouveau rôle de la SST que nous proposons pourrait contribuer également au commencement graduel de cette potentialisation. En effet, la libération des neuropeptides, telle la SST, est plus lente que les neurotransmetteurs classiques en raison que les neuropeptides se retrouvent dans des vésicules à corps dense. Les neuropeptides ne peuvent diffuser au travers du pore de fusion entre la vésicule et la membrane cellulaire (Barg, Olofsson et al. 2002). Le temps de libération de la SST reflèterait alors le temps nécessaire à la fusion complète de la vésicule à la membrane cellulaire et le temps nécessaire à la vésicule pour qu'elle se vide (Barg, Olofsson et al. 2002). De plus, la SST active ses récepteurs métabotropes comme il a été discuté précédemment, ce qui requiert davantage de temps pour observer les effets résultants. Ainsi, nous proposons que la SST puisse contribuer au début lent et progressif observé de la PLT dépendante des mGluR1a.

Il a également été observé que la potentialisation induite par la SST-14 persiste dans le temps pour au moins 30 minutes après l'application du peptide. L'effet induit n'a cependant pas été étudié

au-delà des 30 premières minutes suivant son application. Il serait intéressant d'observer si cette potentialisation peut persister davantage en terme de minutes ou d'heures. Cependant, les techniques de courants ou voltages imposés demeurent tout de même limitées pour de longs enregistrements. Afin de remédier à cette limite, une récente étude a étudié une phase tardive de PLT en enregistrant des cellules 2 heures après un traitement chimique (Artinian, Jordan et al. 2019). Ainsi, la SST-14 pourrait être appliquée comme nous avons effectué dans la présente étude, mais la cellule serait seulement enregistrée 1 ou 2 heures après l'application du peptide. Ces enregistrements pourraient éclairer davantage les mécanismes impliqués dans cette potentialisation. Par exemple, il est connu que la phase tardive de la PLT est dépendante de la synthèse protéique (Otani, Marshall et al. 1989, Raymond, Thompson et al. 2000). De façon plus spécifique aux SOM-INS, il a été démontré que la phase persistante de la PLT dépendante mGluR1a nécessite la transcription et la traduction selon la voie de mTORC1 (Ran, Laplante et al. 2009). Ainsi, examiner l'hypothèse que la synthèse protéique interviendrait dans la potentialisation induite par la SST-14 serait une avenue intéressante pour justifier sa persistance.

Nous avons suggéré également que la PLT générée par la SST-14 serait spécifique aux synapses excitatrices des SOM-INS. En effet, la SST-14 n'a pas produit une augmentation de l'amplitude des PPSE aux synapses des CP, donc l'effet à long-terme de SST-14 semble spécifique aux synapses excitatrices d'interneurones inhibiteurs. En ce qui concerne les synapses des autres types d'interneurones, il semble que les synapses excitatrices des PV-INS soient aussi insensibles à la SST-14. Dans leur cas, les PPSE ont été potentialisés par l'application de véhicule et de la SST-14. Il semblerait alors que dans nos conditions expérimentales, la simple stimulation basale à faible fréquence (0.1 Hz) provoque une augmentation de l'amplitude des PPSE des PV-INS. Mais puisque la SST14 n'a pas causé de potentialisation supplémentaire, ces résultats suggèrent que l'effet de potentialisation à long terme de la SST soit spécifique aux synapses excitatrices des SOM-INS. Par contre, il sera nécessaire de confirmer ce résultat aux synapses des PV-INS dans des conditions expérimentales de transmission synaptique basale plus stable.

## **4.5 Nouvelles implications de la SST dans la plasticité synaptique des SOM-INs et la mémoire.**

Les résultats obtenus démontrent que la SST-14 exogène a un rôle potentialisateur aux synapses excitatrices des SOM-INs. De plus, ce peptide est également requis dans la PLT dépendante des mGluR1a. Ces résultats suggèrent un nouveau mécanisme qui pourrait sous-tendre le rôle de la SST dans la mémoire dépendante de l'hippocampe.

La cystéamine a été employée dans la présente étude comme second moyen afin d'étudier la SST dans la PLT dépendante des mGluR1a. Ce composé réduit les réserves de SST dans le cerveau et autres tissus (Szabo and Reichlin 1981, Sagar, Landry et al. 1982). Les souris ont reçu une injection IP de cystéamine ou du véhicule 4 heures avant de prélever des tranches d'hippocampe. La réduction de la SST par la cystéamine a bloqué la PLT induite par stimulations à haute fréquence aux synapses des SOM-INs, et celle-ci a été remplacée par une DLT des PPSE après téτανisation. Il est à noter qu'une inhibition de la PLT et non une DLT à la suite d'injection IP de cystéamine a été rapportée lors d'études antérieures (Matsuoka, Kaneko et al. 1991, Kluge, Stoppel et al. 2008). Cette dépression pourrait être justifiée par un effet systémique des injections IP de cystéamine. Afin de cibler spécifiquement la SST de l'hippocampe et de potentiellement éviter l'effet systémique de la cystéamine, des tranches aiguës d'hippocampe ont été incubées dans du liquide cébrospinal artificiel contenant de la cystéamine. À la suite de ce traitement, la PLT des PPSE induite par stimulation téτανique a été bloquée, sans découvrir de DLT, suggérant que la déplétion de SST dans l'hippocampe bloque sélectivement la PLT. Ces résultats suggèrent que la SST endogène de l'hippocampe serait nécessaire pour la PLT dépendante des mGluR1a.

Ensuite, il a précédemment été rapporté que la PLT dépendante des mGluR1a spécifique aux SOM-INs était directement impliquée dans la mémoire (Artinian, Jordan et al. 2019). Tout d'abord, des souris transgéniques ayant une délétion spécifique de Raptor, une protéine modulatrice de mTORC1, dans les SOM-INs (SOM-Raptor) ont été employées dans le but d'inactiver mTORC1 et par le fait même la synthèse de nouvelles protéines (Artinian, Jordan et al. 2019). En effet, il avait été démontré que la PLT tardive dépendante des mGluR1a nécessitait la voie mTORC1 pour la traduction de nouvelles protéines (Ran, Laplante et al. 2009). Ainsi, dans le but de voir l'implication de mTORC1 via cette PLT dans la mémoire et l'apprentissage, des tests comportementaux ont été réalisés. Ces souris ont démontré des déficits dans la mémoire de la peur liée au contexte et dans la mémoire spatiale (Artinian, Jordan et al. 2019). À l'inverse, des souris transgéniques, ayant une délétion

partielle du gène *Tsc*, ont été utilisées dans le but d'augmenter l'activité de mTORC1 et favoriser la mémoire dépendante de l'hippocampe. Les résultats ont suggéré une meilleure mémoire de la peur liée au contexte et spatiale pour ce type de souris (Artinian, Jordan et al. 2019). Ces résultats suggèrent que la modulation de la voie mTORC1 impacterait directement la mémoire dépendante de l'hippocampe. Finalement, afin de valider si la PLT dépendante des mGluR1a est impliquée dans la mémoire, des souris Som-Raptor KO et des souris Som-Raptor contrôle ont eu un apprentissage de mémoire par la peur liée au contexte, puis 24 heures plus tard, les SOM-INS ont été enregistrées (Artinian, Jordan et al. 2019). Les SOM-INS des souris Som-Raptor KO n'exprimait pas de PLT alors que les SOM-INS des souris contrôle exprimaient la PLT dépendante des mGluR1a. Ainsi, ces résultats permettent d'illustrer l'implication de la PLT dépendante des mGluR1a dans la mémoire dépendante de l'hippocampe (Artinian, Jordan et al. 2019). Considérant cette étude, il est possible d'avancer que la SST aurait un rôle également dans la mémoire puisque nos résultats suggèrent un rôle de la SST dans la PLT dépendante des mGluR1a.

Quelques études comportementales tendent à illustrer que la SST pourrait être impliquée dans la mémoire comme nous le suggérons ci-dessus. Par exemple, la cystéamine injectée immédiatement après l'entraînement à des tâches d'évitement passif engendre des déficits de mémoire lors des essais tests (Haroutunian, Mantin et al. 1987). Une autre étude a suggéré que la réduction des réserves de la SST par la cystéamine entraîne des déficits de mémoire lors d'expériences de mémoire de la peur reliée au contexte (Kluge, Stoppel et al. 2008). Cette même étude a démontré des déficits de mémoire similaires chez les souris ayant une simple ou double délétion du gène SST (Kluge, Stoppel et al. 2008).

Étant donné que la SST semble impliquée dans la mémoire, il est pertinent de discuter des liens entre la SST et la maladie d'Alzheimer (MA). En effet, chez les modèles murins de la MA, plusieurs observations impliquant la SST ont été rapportées. Dans un premier temps, le modèle de souris APP/PS1 de la MA démontre une diminution des INs hippocampiques exprimant la SST (cellule OLM et cellule associée à la voie perforante (HIPPP)) du GD (Ramos, Baglietto-Vargas et al. 2006). Ce modèle de souris possède deux mutations dont une protéine précurseur de l'amyloïde (APP1) chimérique humain/souris et une mutation humaine de la préséniline (PS1) (Holcomb, Gordon et al. 1998). Lors d'une autre étude, il a été identifié que le peptide SST pouvait augmenter l'activité de la néprilysine, une enzyme dégradant les amas de protéines  $\beta$ -amyloïdes, un type de protéine longuement étudié dans cette maladie. (Saito, Iwata et al. 2005). En effet, les souris ayant une délétion pour la gène

de la SST ont une activité de la néprilysine diminuée de 50% et une augmentation dans des proportions similaires de peptide  $\beta$ -amyloïde 42 (Saito, Iwata et al. 2005). De plus, une étude pharmacologique a combiné l'administration du FK962, un composé favorisant la libération de SST, avec le donézépil, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase utilisé activement pour retarder la progression de la MA (McCarthy, Owens et al. 2011). Les résultats suggèrent que la co-administration de ces deux agents pharmacologiques augmente la cognition chez les rats (McCarthy, Owens et al. 2011). Ainsi, peut-être que la SST serait une avenue thérapeutique intéressante à étudier dans cette maladie.

En ce qui concerne les études chez l'humain, l'analyse post-mortem des cerveaux des patients atteints de la MA démontre une diminution de SST dans le cortex et l'hippocampe (Davies, Katzman et al. 1980). Il a également été avancé qu'une diminution de la SST dans le liquide cébrospinal est corrélée avec les déficits cognitifs des patients ayant la MA (Tamminga, Foster et al. 1987). Ces perturbations du peptide SST retrouvées chez l'humain suggèrent que les mécanismes découverts chez le rongeur concernant ce neuropeptide seraient pertinents avec la MA chez l'humain.

Ces études mentionnées ci-dessus illustrent une implication probable de la SST dans cette maladie, mais son rôle précis reste tout de même à être élucidé. Cependant, une question demeure : Qu'en est-il de la plasticité synaptique dans le contexte de la MA? Plusieurs études ont suggéré que les modèles murins de la MA ont des déficits dans la PLT à diverses synapses (Lauren, Gimbel et al. 2009, Nicoll, Panico et al. 2013, Metais, Brennan et al. 2014). De plus les travaux de (Schmid, Mittag et al. 2016) ont étudié la plasticité structurale des O-LM. Ils ont observé qu'il y avait une perte axonale et un renouvellement accru d'épines dendritiques chez les O-LM dans le modèle murin APP/PS1 de la MA par rapport à des souris saines (Schmid, Mittag et al. 2016). Ils ont également démontré que l'apprentissage de la mémoire de la peur reliée au contexte augmentait le nombre d'épines dendritiques chez des souris saines. Or, chez les souris APP/PS1, ce phénomène est diminué en plus d'avoir des déficits de mémoire lors de cette tâche comportemental (Schmid, Mittag et al. 2016). Finalement, ces chercheurs ont rapporté que ces dysfonctions dans la plasticité structurale des O-LM proviendraient d'une atténuation des synapses cholinergiques sur les O-LM provenant du septum médian (Schmid, Mittag et al. 2016). Ces travaux mettent de l'avant une implication des SOM-INS, de leur plasticité structurale dans la MA et ses perturbations mnésiques associées. Cependant, la PLT dépendante des mGluR1a aux synapses excitatrices des SOM-INS dans les modèles murins de la MA n'a pas encore été étudiée. Avec les résultats obtenus dans la présente étude, il est possible d'émettre comme hypothèse que la PLT dépendante des mGluR1a serait affectée dans les modèles murins de la MA.



Puisque la SST est impliquée dans cette maladie et dans la plasticité synaptique des SOM-INs, il serait pertinent d'étudier le rôle de la PLT des synapses des SOM-INs dans la MA.

## 4.6 Perspectives futures

### 4.6.1 Différence dans la PLT selon les sexes

Dans la présente étude, seulement des souris mâles ont été employées. Cependant, depuis de nombreuses années, il est connu qu'il existe des différences liées au sexe en ce qui concerne plusieurs comportements dépendants de l'hippocampe dont l'apprentissage et la mémoire spatiale, la navigation, ou l'apprentissage par évitement passif et actif (Koss and Frick 2017). D'un point de vue cellulaire, il a été rapporté qu'il est plus difficile chez le rat d'induire la PLT aux synapses des femelles qu'aux synapses des mâles. Par exemple, les mâles ont une PLT aux synapses de la voie perforante sur les cellules granulaires plus importantes que les femelles (Maren, De Oca et al. 1994). En lien avec le cycle oestral de reproduction chez la femelle, il a été rapporté que la LTP est augmentée chez les femelles en phase *proestrus* en comparaison des femelles dans une autre phase du cycle reproducteur, ou des mâles (Warren, Humphreys et al. 1995, Good, Day et al. 1999). Ces informations suggèrent que le cycle reproducteur serait un facteur dans la différence de plasticité synaptique liée au sexe. Cependant, l'administration d'œstradiol exogène génère les mêmes effets chez la femelle et le mâle: l'amplitude des PPSE est augmentée, le seuil pour induire la PLT est abaissé et la magnitude de la PLT est augmentée (Koss and Frick 2017). Ces effets potentialisateurs de l'œstradiol chez les deux sexes impliquent des changements de la transmission glutamatergique mais ces mécanismes sont différents chez le mâle et la femelle (Koss and Frick 2017). Ces expériences précédentes ont été réalisées sur des CP, mais illustrent tout de même que la PLT peut être influencée par le cycle oestral et les hormones. Ainsi, il serait judicieux d'étudier l'effet du cycle oestral et des hormones sur la plasticité synaptique des SOM-INs.

Considérant ces informations et l'effet potentialisateur de la SST proposé dans la présente étude, il serait primordial d'étudier la SST sur les souris femelles. Les expériences d'enregistrements électrophysiologiques avec application du peptide SST-14 aux synapses excitatrices des SOM-INs pourraient être effectuées chez les femelles dans la phase *proestrus*, *oestrus* et *dioestrus* afin de d'observer l'impact de ce cycle sur l'action de la SST-14 (Byers, Wiles et al. 2012). En effet, ces différentes phases du cycle seraient pertinentes à étudier en raison de différentes hormones qui y sont sécrétées. Lors de la phase *dioestrus* les niveaux d'hormone sont bas, alors que l'œstradiol est

davantage sécrétée lors de la phase *proestrus* (Caligioni 2009). Il est également possible de différencier ces phases selon la morphologie de organes génitaux externe de la femelle (Byers, Wiles et al. 2012). Ainsi, cela permettra d'effectuer les enregistrements lors des phases adéquates du cycle reproducteur des femelles.

De plus, l'étude proposant que l'apprentissage du contexte lié à la peur induit la PLT dépendante des mGluR1a a été effectuée seulement sur des souris mâles (Artinian, Jordan et al. 2019). Puisque nos résultats suggèrent un rôle de la SST dans cette PLT, il serait approprié d'étudier cette PLT sur les femelles alors que cela ne semble pas avoir encore été réalisé. Dans un premier temps, la PLT mGluR1a devrait être étudiée chez les femelles en phase *proestrus* et *diöestrus* afin de voir s'il y a une différence dans l'amplitude de la PLT en comparaison également avec les souris mâles. Ensuite, les expériences d'induction de la PLT dépendante des récepteurs mGluR1a en présence d'antagoniste des SST<sub>1-5</sub> pourraient également être effectuées pour observer si la SST est impliquée de la même façon dans cette PLT selon la phase du cycle de reproduction. Ces études auraient pour objectif d'étudier si 1) la PLT dépendante des mGluR1a diffère selon les phases du cycle reproducteur et de 2) si l'implication de la SST varie également.

#### ***4.6.2 Cibler spécifiquement certains récepteurs SST<sub>1-5</sub> pour mieux comprendre le mécanisme d'action de la SST***

Dans la présente étude, nous proposons un mécanisme où la SST agit en inhibant la libération de GABA d'une afférence inhibitrice sur la synapse glutamatergique. Ce mécanisme induirait une potentialisation de la synapse glutamatergique. Un antagoniste non-sélectif des récepteurs SST<sub>1-5</sub> a été employé pour démontrer l'action de la SST par l'activation de ses récepteurs. Cependant pour mieux comprendre ce mécanisme, l'emploi d'agoniste sélectif à chacun des récepteurs SST serait un outil intéressant (Gastambide, Viollet et al. 2009). Cette application d'agoniste spécifique devrait être effectuée sur la transmission synaptique basale des SOM-INs afin de voir si celle-ci est potentialisée par l'activation d'un récepteur en particulier. L'application de l'agoniste spécifique au SST<sub>4</sub> serait le premier à essayer étant donné que ce récepteur a déjà été évoqué comme ayant un rôle dans la mémoire (Gastambide, Viollet et al. 2009). Également, l'application d'agoniste lors de l'induction de la PLT mGluR1a pourrait être intéressante pour voir si cette PLT peut être augmentée selon l'activation de récepteurs spécifiques de la SST. Encore une fois, l'agoniste de SST<sub>4</sub> serait à expérimenter d'abord pour les raisons évoquées ci-dessus. De plus, des lignées de souris ayant spécifiquement une délétion

d'un gène des récepteurs SST<sub>1-5</sub> ont été générées (voir tableau II). Cet outil pourrait être un second moyen pour étudier les récepteurs SST<sub>1-5</sub> impliqués dans la potentialisation induite par la SST-14. Il serait pertinent de cibler les souris ayant la délétion du gène du SST<sub>2</sub> et les souris ayant la délétion du gène du SST<sub>4</sub> en premier lieu puisqu'il a été suggéré que ces récepteurs seraient impliqués dans la régulation de la mémoire dépendante de l'hippocampe (Gastambide, Viollet et al. 2009) et dans plasticité synaptique des PC (Fan and Fu 2014).

**Tableau II - Modèle de souris spécifique ayant une délétion spécifique pour un récepteur de la SST**

Génotype Souris	Références
SST <sub>1</sub> KO	(Kreienkamp, Akgun et al. 1999)
SST <sub>2</sub> KO	(Zheng, Bailey et al. 1997, Qiu, Zeyda et al. 2008)
SST <sub>3</sub> KO	(Qiu, Zeyda et al. 2008)
SST <sub>4</sub> KO	(Qiu, Zeyda et al. 2008)
SST <sub>5</sub> KO	(Strowski, Kohler et al. 2003, Tirone, Norman et al. 2003)

Abréviations : KO – *knockout*

#### 4.6.3 Étudier la SST dans de l'apprentissage et la mémoire

Le présent mémoire se concentre sur l'action de la SST aux synapses excitatrices des SOM-INS et son rôle dans la PLT hébbienne dépendante des mGluR1a. Il a été proposé depuis de multiples années que la PLT aux synapses des PC est un mécanisme cellulaire qui sous-tend l'apprentissage et la mémoire dans l'hippocampe (Kandel, Dudai et al. 2014). Étant donné que la présente étude de la SST est effectuée à l'échelle synaptique des interneurons, il serait pertinent d'étudier le volet comportemental des mécanismes de la SST que nous proposons. Cela permettrait de déterminer si les mécanismes de la SST aux synapses des SOM-INS sous-tendent le rôle de la SST dans l'apprentissage et la mémoire.

Dans un premier temps, il a été récemment démontré que l'apprentissage relié au contexte par la peur induit une PLT persistante et dépendante des mGluR1a et de mTORC1 aux synapses excitatrices des SOM-INS (Artinian, Jordan et al. 2019). Nos résultats suggèrent que la SST pourrait jouer un rôle important dans cette PLT. Dans le but de valider l'implication de la SST dans cette PLT induite par l'apprentissage, des souris pourraient être étudiées lors de l'apprentissage relié au contexte par la peur puisque ce test comportemental induit la PLT spécifique aux SOM-INS (Artinian, Jordan et al. 2019). Ces souris doivent préalablement recevoir une injection IP de cystéamine afin de réduire les réserves de SST ou de véhicule afin de comparer l'apprentissage des souris provenant des deux

groupes (Szabo and Reichlin 1981, Sagar, Landry et al. 1982). De plus, un modèle de souris transgénique ayant une simple ou double délétion pour le gène de la SST pourrait également être utilisé afin d'étudier à l'échelle synaptique et comportementale la PLT dépendante mGluR1a. Les expériences d'enregistrement de courant imposés avec l'induction de cette PLT devraient être effectuées aux synapses excitatrices des SOM-INS de cette lignée de souris. Une difficulté à induire cette PLT, voire une abolition de cette dernière serait probable. Ces expériences permettraient de mettre en évidence que la SST endogène joue un rôle critique dans la PLT persistante induites aux synapses excitatrices des SOM-INS par l'apprentissage relié au contexte par la peur.

Une approche complémentaire serait d'examiner l'effet de la surexpression de la SST spécifiquement dans les SOM-INS sur la PLT au niveau synaptique ainsi que l'apprentissage et la mémoire. Récemment, une construction de virus adéno-associé (AAV) a été développée permettant d'exprimer la SST de façon Cre-dépendante dans les SOM-INS (Kim, Kim et al. 2020). En utilisant cette approche, les virus AAV-DIO-SST-mCherry serait injecté chez des souris SOM-eYFP et le virus AAV-DIO-mCherry serait également injecté chez des souris SOM-eYFP à des fins de contrôle. Des enregistrements électrophysiologiques seraient effectués sur des SOM-INS identifiés à l'aide de la co-localisation de la YFP et de la mCherry. La PLT dépendante des récepteurs mGluR1a serait induite à l'aide de stimulations haute fréquence. Il serait attendu qu'une surexpression de ce peptide produise une PLT plus importante. D'un point de vue comportemental, deux groupes de souris injectés chacun avec l'un des deux virus pourraient être utilisés pour un test de mémoire relié au contexte par la peur. Dans un premier temps les souris auraient un entraînement du contexte par la peur, puis 24 heures plus tard les souris seraient testées pour la mémoire reliée à ce contexte. Il serait probable que les souris surexprimant la SST aurait une meilleure mémoire ce qui permettrait d'illustrer l'implication de la SST dans la mémoire. De façon hypothétique, si la SST endogène en plus grande quantité engendre un meilleur apprentissage et une mémoire accrue, la SST pourrait être une avenue intéressante dans le traitement de la MA. D'autant plus que les niveaux de SST sont diminués dans cette maladie (Davies, Katzman et al. 1980) et que ce peptide semble également interagir avec le métabolisme des plaques  $\beta$ -amyloïdes (Saito, Iwata et al. 2005), l'une des principales cibles dans les nombreuses études de la MA.

**Chapitre 5**  
**Bibliographie Générale**

- Abraham, W. C., S. E. Mason, J. Demmer, J. M. Williams, C. L. Richardson, W. P. Tate, P. A. Lawlor and M. Dragunow (1993). "Correlations between immediate early gene induction and the persistence of long-term potentiation." Neuroscience **56**(3): 717-727.
- Acsady, L., T. J. Gorcs and T. F. Freund (1996). "Different populations of vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive interneurons are specialized to control pyramidal cells or interneurons in the hippocampus." Neuroscience **73**(2): 317-334.
- Ahmed, O. J. and M. R. Mehta (2009). "The hippocampal rate code: anatomy, physiology and theory." Trends Neurosci **32**(6): 329-338.
- Amaral, D. G. and M. P. Witter (1989). "The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data." Neuroscience **31**(3): 571-591.
- Andersen, P., Morris, R., Amaral, D., Bliss, T., O'Keefe, J. (Eds) (2007). The Hippocampus Book, Oxford University Press, USA.
- Andersen, P., S. H. Sundberg, O. Sveen and H. Wigstrom (1977). "Specific long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices." Nature **266**(5604): 736-737.
- Artinian, J., A. Jordan, A. Khlaifia, E. Honore, A. La Fontaine, A. S. Racine, I. Laplante and J. C. Lacaille (2019). "Regulation of Hippocampal Memory by mTORC1 in Somatostatin Interneurons." J Neurosci **39**(43): 8439-8456.
- Bakhit, C. and N. Swerdlow (1986). "Behavioral changes following central injection of cysteamine in rats." Brain Res **365**(1): 159-163.
- Baraban, S. C. and M. K. Tallent (2004). "Interneuron Diversity series: Interneuronal neuropeptides--endogenous regulators of neuronal excitability." Trends Neurosci **27**(3): 135-142.
- Baratta, M. V., T. Lamp and M. K. Tallent (2002). "Somatostatin depresses long-term potentiation and Ca<sup>2+</sup> signaling in mouse dentate gyrus." J Neurophysiol **88**(6): 3078-3086.
- Barg, S., C. S. Olofsson, J. Schriever-Abeln, A. Wendt, S. Gebre-Medhin, E. Renstrom and P. Rorsman (2002). "Delay between fusion pore opening and peptide release from large dense-core vesicles in neuroendocrine cells." Neuron **33**(2): 287-299.
- Baude, A., C. Bleasdale, Y. Dalezios, P. Somogyi and T. Klausberger (2007). "Immunoreactivity for the GABAA receptor alpha1 subunit, somatostatin and Connexin36 distinguishes axoaxonic, basket, and bistratified interneurons of the rat hippocampus." Cereb Cortex **17**(9): 2094-2107.
- Bear, M. F. and W. C. Abraham (1996). "Long-term depression in hippocampus." Annu Rev Neurosci **19**: 437-462.

- Benke, T. A., A. Luthi, J. T. Isaac and G. L. Collingridge (1998). "Modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity." *Nature* **393**(6687): 793-797.
- Bezaire, M. J. and I. Soltesz (2013). "Quantitative assessment of CA1 local circuits: knowledge base for interneuron-pyramidal cell connectivity." *Hippocampus* **23**(9): 751-785.
- Blasco-Ibanez, J. M. and T. F. Freund (1995). "Synaptic input of horizontal interneurons in stratum oriens of the hippocampal CA1 subfield: structural basis of feed-back activation." *Eur J Neurosci* **7**(10): 2170-2180.
- Bliss, T. V. and T. Lomo (1973). "Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path." *J Physiol* **232**(2): 331-356.
- Booker, S. A. and I. Vida (2018). "Morphological diversity and connectivity of hippocampal interneurons." *Cell Tissue Res* **373**(3): 619-641.
- Brazeau, P., W. Vale, R. Burgus, N. Ling, M. Butcher, J. Rivier and R. Guillemin (1973). "Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone." *Science* **179**(4068): 77-79.
- Byers, S. L., M. V. Wiles, S. L. Dunn and R. A. Taft (2012). "Mouse estrous cycle identification tool and images." *PLoS One* **7**(4): e35538.
- Caligioni, C. S. (2009). "Assessing reproductive status/stages in mice." *Curr Protoc Neurosci* **Appendix 4**: Appendix 4I.
- Choi, S., J. Klingauf and R. W. Tsien (2000). "Postfusional regulation of cleft glutamate concentration during LTP at 'silent synapses'." *Nat Neurosci* **3**(4): 330-336.
- Collingridge, G. L. (1985). "Long term potentiation in the hippocampus: mechanisms of initiation and modulation by neurotransmitters." *Trends in Pharmacological Sciences* **6**: 407-411.
- Croce, A., J. G. Pelletier, M. Tartas and J. C. Lacaille (2010). "Afferent-specific properties of interneuron synapses underlie selective long-term regulation of feedback inhibitory circuits in CA1 hippocampus." *J Physiol* **588**(Pt 12): 2091-2107.
- Dao, N. C., D. F. Brockway and N. A. Crowley (2019). "In Vitro Optogenetic Characterization of Neuropeptide Release from Prefrontal Cortical Somatostatin Neurons." *Neuroscience* **419**: 1-4.
- Daumas, S., J. Ceccom, H. Halley, B. Frances and J. M. Lassalle (2009). "Activation of metabotropic glutamate receptor type 2/3 supports the involvement of the hippocampal mossy fiber pathway on contextual fear memory consolidation." *Learn Mem* **16**(8): 504-507.

- Davies, P., R. Katzman and R. D. Terry (1980). "Reduced somatostatin-like immunoreactivity in cerebral cortex from cases of Alzheimer disease and Alzheimer senile dementia." Nature **288**(5788): 279-280.
- Delfs, J. R. and M. A. Dichter (1983). "Effects of somatostatin on mammalian cortical neurons in culture: physiological actions and unusual dose response characteristics." J Neurosci **3**(6): 1176-1188.
- Dodd, J. and S. Kelly (1978). "Is somatostatin an excitatory transmitter in the hippocampus?" Nature **273**(5664): 674-675.
- Dudek, S. M. and M. F. Bear (1992). "Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade." Proc Natl Acad Sci U S A **89**(10): 4363-4367.
- Elfant, D., B. Z. Pal, N. Emptage and M. Capogna (2008). "Specific inhibitory synapses shift the balance from feedforward to feedback inhibition of hippocampal CA1 pyramidal cells." Eur J Neurosci **27**(1): 104-113.
- Epelbaum, J. (1986). "Somatostatin in the central nervous system: physiology and pathological modifications." Prog Neurobiol **27**(1): 63-100.
- Fan, W. and T. Fu (2014). "Somatostatin modulates LTP in hippocampal CA1 pyramidal neurons: differential activation conditions in apical and basal dendrites." Neurosci Lett **561**: 1-6.
- Fontana, G., R. De Bernardi, F. Ferro, A. Gemignani and M. Raiteri (1996). "Characterization of the glutamate receptors mediating release of somatostatin from cultured hippocampal neurons." J Neurochem **66**(1): 161-168.
- Freund, T. F. and G. Buzsaki (1996). "Interneurons of the hippocampus." Hippocampus **6**(4): 347-470.
- Frey, U., Y. Y. Huang and E. R. Kandel (1993). "Effects of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons." Science **260**(5114): 1661-1664.
- Frey, U., M. Krug, K. G. Reymann and H. Matthies (1988). "Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro." Brain Res **452**(1-2): 57-65.
- Fries, J. L., W. A. Murphy, J. Sueiras-Diaz and D. H. Coy (1982). "Somatostatin antagonist analog increases GH, insulin, and glucagon release in the rat." Peptides **3**(5): 811-814.
- Gastambide, F., C. Viollet, G. Lepousez, J. Epelbaum and J. L. Guillou (2009). "Hippocampal SSTR4 somatostatin receptors control the selection of memory strategies." Psychopharmacology (Berl) **202**(1-3): 153-163.



- Good, M., M. Day and J. L. Muir (1999). "Cyclical changes in endogenous levels of oestrogen modulate the induction of LTD and LTP in the hippocampal CA1 region." Eur J Neurosci **11**(12): 4476-4480.
- Gunther, T., G. Tulipano, P. Dournaud, C. Bousquet, Z. Csaba, H. J. Kreienkamp, A. Lupp, M. Korbonits, J. P. Castano, H. J. Wester, M. Culler, S. Melmed and S. Schulz (2018). "International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CV. Somatostatin Receptors: Structure, Function, Ligands, and New Nomenclature." Pharmacol Rev **70**(4): 763-835.
- Halasy, K., E. H. Buhl, Z. Lorinczi, G. Tamas and P. Somogyi (1996). "Synaptic target selectivity and input of GABAergic basket and bistratified interneurons in the CA1 area of the rat hippocampus." Hippocampus **6**(3): 306-329.
- Haroutunian, V., R. Mantin, G. A. Campbell, G. K. Tsuboyama and K. L. Davis (1987). "Cysteamine-induced depletion of central somatostatin-like immunoactivity: effects on behavior, learning, memory and brain neurochemistry." Brain Res **403**(2): 234-242.
- Harris, K. D., H. Hirase, X. Leinekugel, D. A. Henze and G. Buzsaki (2001). "Temporal interaction between single spikes and complex spike bursts in hippocampal pyramidal cells." Neuron **32**(1): 141-149.
- Hayashi, Y., S. H. Shi, J. A. Esteban, A. Piccini, J. C. Poncer and R. Malinow (2000). "Driving AMPA receptors into synapses by LTP and CaMKII: requirement for GluR1 and PDZ domain interaction." Science **287**(5461): 2262-2267.
- Hebb, D. O. (1949). The organization of behavior; a neuropsychological theory. Oxford, England, Wiley.
- Holcomb, L., M. N. Gordon, E. McGowan, X. Yu, S. Benkovic, P. Jantzen, K. Wright, I. Saad, R. Mueller, D. Morgan, S. Sanders, C. Zehr, K. O'Campo, J. Hardy, C. M. Prada, C. Eckman, S. Younkin, K. Hsiao and K. Duff (1998). "Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes." Nat Med **4**(1): 97-100.
- Hou, Z. H. and X. Yu (2013). "Activity-regulated somatostatin expression reduces dendritic spine density and lowers excitatory synaptic transmission via postsynaptic somatostatin receptor 4." J Biol Chem **288**(4): 2501-2509.
- Ishibashi, H. and N. Akaike (1995). "Somatostatin modulates high-voltage-activated Ca<sup>2+</sup> channels in freshly dissociated rat hippocampal neurons." J Neurophysiol **74**(3): 1028-1036.
- Jänicke, B. and H. Coper (1996). Tests in Rodents for Assessing Sensorimotor Performance During Aging. Advances in Psychology. A.-M. Ferrandez and N. Teasdale, North-Holland. **114**: 201-233.

- Jones, M. W. and M. A. Wilson (2005). "Theta rhythms coordinate hippocampal-prefrontal interactions in a spatial memory task." *PLoS Biol* **3**(12): e402.
- Kandel, E. R., Y. Dudai and M. R. Mayford (2014). "The molecular and systems biology of memory." *Cell* **157**(1): 163-186.
- Kepecs, A. and G. Fishell (2014). "Interneuron cell types are fit to function." *Nature* **505**(7483): 318-326.
- Kim, S., H. Kim, D. Park, J. Kim, J. Hong, J. S. Kim, H. Jung, D. Kim, E. Cheong, J. Ko and J. W. Um (2020). "Loss of IQSEC3 Disrupts GABAergic Synapse Maintenance and Decreases Somatostatin Expression in the Hippocampus." *Cell Rep* **30**(6): 1995-2005 e1995.
- Kluge, C., C. Stoppel, C. Szinyei, O. Stork and H. C. Pape (2008). "Role of the somatostatin system in contextual fear memory and hippocampal synaptic plasticity." *Learn Mem* **15**(4): 252-260.
- Koss, W. A. and K. M. Frick (2017). "Sex differences in hippocampal function." *J Neurosci Res* **95**(1-2): 539-562.
- Kreienkamp, H. J., E. Akgun, H. Baumeister, W. Meyerhof and D. Richter (1999). "Somatostatin receptor subtype 1 modulates basal inhibition of growth hormone release in somatotrophs." *FEBS Lett* **462**(3): 464-466.
- Kullmann, D. M. and K. P. Lamsa (2007). "Long-term synaptic plasticity in hippocampal interneurons." *Nat Rev Neurosci* **8**(9): 687-699.
- Lacaille, J. C., A. L. Mueller, D. D. Kunkel and P. A. Schwartzkroin (1987). "Local circuit interactions between oriens/alveus interneurons and CA1 pyramidal cells in hippocampal slices: electrophysiology and morphology." *J Neurosci* **7**(7): 1979-1993.
- Lapointe, V., F. Morin, S. Ratte, A. Croce, F. Conquet and J. C. Lacaille (2004). "Synapse-specific mGluR1-dependent long-term potentiation in interneurons regulates mouse hippocampal inhibition." *J Physiol* **555**(Pt 1): 125-135.
- Lauren, J., D. A. Gimbel, H. B. Nygaard, J. W. Gilbert and S. M. Strittmatter (2009). "Cellular prion protein mediates impairment of synaptic plasticity by amyloid-beta oligomers." *Nature* **457**(7233): 1128-1132.
- Leao, R. N., S. Mikulovic, K. E. Leao, H. Munguba, H. Gezelius, A. Enjin, K. Patra, A. Eriksson, L. M. Loew, A. B. Tort and K. Kullander (2012). "OLM interneurons differentially modulate CA3 and entorhinal inputs to hippocampal CA1 neurons." *Nat Neurosci* **15**(11): 1524-1530.
- Lee, K. S. (1983). "Cooperativity among afferents for the induction of long-term potentiation in the CA1 region of the hippocampus." *J Neurosci* **3**(7): 1369-1372.

- Levy, W. B. and O. Steward (1979). "Synapses as associative memory elements in the hippocampal formation." Brain Res **175**(2): 233-245.
- Liguz-Lecznar, M., J. Urban-Ciecko and M. Kossut (2016). "Somatostatin and Somatostatin-Containing Neurons in Shaping Neuronal Activity and Plasticity." Front Neural Circuits **10**: 48.
- 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 **46**: 113-177.
- Lovett-Barron, M., P. Kaifosh, M. A. Kheirbek, N. Danielson, J. D. Zaremba, T. R. Reardon, G. F. Turi, R. Hen, B. V. Zemelman and A. Losonczy (2014). "Dendritic inhibition in the hippocampus supports fear learning." Science **343**(6173): 857-863.
- Lovett-Barron, M., G. F. Turi, P. Kaifosh, P. H. Lee, F. Bolze, X. H. Sun, J. F. Nicoud, B. V. Zemelman, S. M. Sternson and A. Losonczy (2012). "Regulation of neuronal input transformations by tunable dendritic inhibition." Nat Neurosci **15**(3): 423-430, S421-423.
- Lynch, M. A. (2004). "Long-term potentiation and memory." Physiol Rev **84**(1): 87-136.
- Maccaferri, G. and C. J. McBain (1996). "Long-term potentiation in distinct subtypes of hippocampal nonpyramidal neurons." J Neurosci **16**(17): 5334-5343.
- Maccaferri, G., J. D. Roberts, P. Szucs, C. A. Cottingham and P. Somogyi (2000). "Cell surface domain specific postsynaptic currents evoked by identified GABAergic neurones in rat hippocampus in vitro." J Physiol **524 Pt 1**: 91-116.
- Malinow, R., D. V. Madison and R. W. Tsien (1988). "Persistent protein kinase activity underlying long-term potentiation." Nature **335**(6193): 820-824.
- Maren, S., B. De Oca and M. S. Fanselow (1994). "Sex differences in hippocampal long-term potentiation (LTP) and Pavlovian fear conditioning in rats: positive correlation between LTP and contextual learning." Brain Res **661**(1-2): 25-34.
- Martel, G., P. Dutar, J. Epelbaum and C. Viollet (2012). "Somatostatinergic systems: an update on brain functions in normal and pathological aging." Front Endocrinol (Lausanne) **3**: 154.
- Matsuoka, N., S. Kaneko and M. Satoh (1991). "A facilitatory role of endogenous somatostatin in long-term potentiation of the mossy fiber-CA3 system in guinea-pig hippocampus." Neurosci Lett **129**(2): 177-180.
- McCarthy, A. D., I. J. Owens, A. T. Bansal, S. M. McTighe, T. J. Bussey and L. M. Saksida (2011). "FK962 and donepezil act synergistically to improve cognition in rats: potential as an add-on therapy for Alzheimer's disease." Pharmacol Biochem Behav **98**(1): 76-80.

- McNaughton, B. L., R. M. Douglas and G. V. Goddard (1978). "Synaptic enhancement in fascia dentata: cooperativity among coactive afferents." Brain Res **157**(2): 277-293.
- Metais, C., K. Brennan, A. J. Mably, M. Scott, D. M. Walsh and C. E. Herron (2014). "Simvastatin treatment preserves synaptic plasticity in AbetaPPswe/PS1dE9 mice." J Alzheimers Dis **39**(2): 315-329.
- Milner, B., L. R. Squire and E. R. Kandel (1998). "Cognitive neuroscience and the study of memory." Neuron **20**(3): 445-468.
- Momiyama, T. and L. Zaborszky (2006). "Somatostatin presynaptically inhibits both GABA and glutamate release onto rat basal forebrain cholinergic neurons." J Neurophysiol **96**(2): 686-694.
- Moore, S. D., S. G. Madamba, M. Joels and G. R. Siggins (1988). "Somatostatin augments the M-current in hippocampal neurons." Science **239**(4837): 278-280.
- Morris, R. G., E. Anderson, G. S. Lynch and M. Baudry (1986). "Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5." Nature **319**(6056): 774-776.
- Nakata, A., H. Saito and N. Nishiyama (1996). "Facilitatory role of somatostatin via muscarinic cholinergic system in the generation of long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vivo." Brain Res **723**(1-2): 135-140.
- Nicoll, A. J., S. Panico, D. B. Freir, D. Wright, C. Terry, E. Risse, C. E. Herron, T. O'Malley, J. D. Wadsworth, M. A. Farrow, D. M. Walsh, H. R. Saibil and J. Collinge (2013). "Amyloid-beta nanotubes are associated with prion protein-dependent synaptotoxicity." Nat Commun **4**: 2416.
- Nicoll, R. A. and D. Schmitz (2005). "Synaptic plasticity at hippocampal mossy fibre synapses." Nat Rev Neurosci **6**(11): 863-876.
- Olias, G., C. Viollet, H. Kusserow, J. Epelbaum and W. Meyerhof (2004). "Regulation and function of somatostatin receptors." J Neurochem **89**(5): 1057-1091.
- Olpe, H. R., V. J. Balcar, H. Bittiger, H. Rink and P. Sieber (1980). "Central actions of somatostatin." Eur J Pharmacol **63**(2-3): 127-133.
- Otani, S., C. J. Marshall, W. P. Tate, G. V. Goddard and W. C. Abraham (1989). "Maintenance of long-term potentiation in rat dentate gyrus requires protein synthesis but not messenger RNA synthesis immediately post-tetanzation." Neuroscience **28**(3): 519-526.
- Ouardouz, M. and J. C. Lacaille (1995). "Mechanisms of selective long-term potentiation of excitatory synapses in stratum oriens/alveus interneurons of rat hippocampal slices." J Neurophysiol **73**(2): 810-819.

- Pelkey, K. A., R. Chittajallu, M. T. Craig, L. Tricoire, J. C. Wester and C. J. McBain (2017). "Hippocampal GABAergic Inhibitory Interneurons." Physiol Rev **97**(4): 1619-1747.
- Perez, Y., F. Morin and J. C. Lacaille (2001). "A hebbian form of long-term potentiation dependent on mGluR1a in hippocampal inhibitory interneurons." Proc Natl Acad Sci U S A **98**(16): 9401-9406.
- Pierce, K. L., R. T. Premont and R. J. Lefkowitz (2002). "Seven-transmembrane receptors." Nature Reviews Molecular Cell Biology **3**(9): 639-650.
- Pittman, Q. J. and G. R. Siggins (1981). "Somatostatin hyperpolarizes hippocampal pyramidal cells in vitro." Brain Res **221**(2): 402-408.
- Pradayrol, L., H. Jornvall, V. Mutt and A. Ribet (1980). "N-terminally extended somatostatin: the primary structure of somatostatin-28." FEBS Lett **109**(1): 55-58.
- Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W., Lamantia, A-S., White, L. (2012). Neuroscience. Sunderland, MA, Sinauer Associates, Inc.
- Qiu, C., T. Zeyda, B. Johnson, U. Hochgeschwender, L. de Lecea and M. K. Tallent (2008). "Somatostatin receptor subtype 4 couples to the M-current to regulate seizures." J Neurosci **28**(14): 3567-3576.
- Ramón y Cajal, S. (1893). Nuevo concepto de la histología de los centros nerviosos. Barcelona, Henrich.
- Ramos, B., D. Baglietto-Vargas, J. C. del Rio, I. Moreno-Gonzalez, C. Santa-Maria, S. Jimenez, C. Caballero, J. F. Lopez-Tellez, Z. U. Khan, D. Ruano, A. Gutierrez and J. Vitorica (2006). "Early neuropathology of somatostatin/NPY GABAergic cells in the hippocampus of a PS1xAPP transgenic model of Alzheimer's disease." Neurobiol Aging **27**(11): 1658-1672.
- Ran, I., I. Laplante, C. Bourgeois, J. Pepin, P. Lacaille, M. Costa-Mattioli, J. Pelletier, N. Sonenberg and J. C. Lacaille (2009). "Persistent transcription- and translation-dependent long-term potentiation induced by mGluR1 in hippocampal interneurons." J Neurosci **29**(17): 5605-5615.
- Ran, I., I. Laplante and J. C. Lacaille (2012). "CREB-dependent transcriptional control and quantal changes in persistent long-term potentiation in hippocampal interneurons." J Neurosci **32**(18): 6335-6350.
- Raymond, C. R., V. L. Thompson, W. P. Tate and W. C. Abraham (2000). "Metabotropic glutamate receptors trigger homosynaptic protein synthesis to prolong long-term potentiation." J Neurosci **20**(3): 969-976.

- Ribak, C. E., J. E. Vaughn and K. Saito (1978). "Immunocytochemical localization of glutamic acid decarboxylase in neuronal somata following colchicine inhibition of axonal transport." Brain Res **140**(2): 315-332.
- Royer, S., B. V. Zemelman, A. Losonczy, J. Kim, F. Chance, J. C. Magee and G. Buzsaki (2012). "Control of timing, rate and bursts of hippocampal place cells by dendritic and somatic inhibition." Nat Neurosci **15**(5): 769-775.
- Sagar, S. M., D. Landry, W. J. Millard, T. M. Badger, M. A. Arnold and J. B. Martin (1982). "Depletion of somatostatin-like immunoreactivity in the rat central nervous system by cysteamine." J Neurosci **2**(2): 225-231.
- Saito, T., N. Iwata, S. Tsubuki, Y. Takaki, J. Takano, S. M. Huang, T. Suemoto, M. Higuchi and T. C. Saido (2005). "Somatostatin regulates brain amyloid beta peptide Abeta42 through modulation of proteolytic degradation." Nat Med **11**(4): 434-439.
- Scharfman, H. E. and J. M. Sarvey (1985). "Postsynaptic firing during repetitive stimulation is required for long-term potentiation in hippocampus." Brain Res **331**(2): 267-274.
- Scharfman, H. E. and P. A. Schwartzkroin (1988). "Further studies of the effects of somatostatin and related peptides in area CA1 of rabbit hippocampus." Cell Mol Neurobiol **8**(4): 411-429.
- Scharfman, H. E. and P. A. Schwartzkroin (1989). "Selective depression of GABA-mediated IPSPs by somatostatin in area CA1 of rabbit hippocampal slices." Brain Res **493**(2): 205-211.
- Schmid, L. C., M. Mittag, S. Poll, J. Steffen, J. Wagner, H. R. Geis, I. Schwarz, B. Schmidt, M. K. Schwarz, S. Remy and M. Fuhrmann (2016). "Dysfunction of Somatostatin-Positive Interneurons Associated with Memory Deficits in an Alzheimer's Disease Model." Neuron **92**(1): 114-125.
- Schulz, S., M. Handel, M. Schreff, H. Schmidt and V. Holtt (2000). "Localization of five somatostatin receptors in the rat central nervous system using subtype-specific antibodies." J Physiol Paris **94**(3-4): 259-264.
- Schweitzer, P., S. G. Madamba and G. R. Siggins (1998). "Somatostatin increases a voltage-insensitive K<sup>+</sup> conductance in rat CA1 hippocampal neurons." J Neurophysiol **79**(3): 1230-1238.
- Scoville, W. B. and B. Milner (1957). "Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions." J Neurol Neurosurg Psychiatry **20**(1): 11-21.
- Sharma, V., R. Sood, A. Khlaifia, M. J. Eslamizade, T. Y. Hung, D. Lou, A. Asgarihafshejani, M. Lalzar, S. J. Kiniry, M. P. Stokes, N. Cohen, A. J. Nelson, K. Abell, A. P. Possemato, S. Gal-Ben-Ari, V. T. Truong, P. Wang, A. Yiannakas, F. Saffarzadeh, A. C. Cuello, K. Nader, R. J. Kaufman, M. Costa-Mattioli, P. V. Baranov, A. Quintana, E. Sanz, A. Khoutorsky, J. C. Lacaille, K.

- Rosenblum and N. Sonenberg (2020). "eIF2alpha controls memory consolidation via excitatory and somatostatin neurons." Nature **586**(7829): 412-416.
- Somogyi, P. and T. Klausberger (2005). "Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus." J Physiol **562**(Pt 1): 9-26
- Spary, E. J., A. Maqbool and T. F. Batten (2008). "Expression and localisation of somatostatin receptor subtypes sst1-sst5 in areas of the rat medulla oblongata involved in autonomic regulation." J Chem Neuroanat **35**(1): 49-66.
- Srikant, C. B. and Y. C. Patel (1984). "Cysteamine-induced depletion of brain somatostatin is associated with up-regulation of cerebrocortical somatostatin receptors." Endocrinology **115**(3): 990-995.
- Stevens, C. F. and Y. Wang (1994). "Changes in reliability of synaptic function as a mechanism for plasticity." Nature **371**(6499): 704-707.
- Strowski, M. Z., M. Kohler, H. Y. Chen, M. E. Trumbauer, Z. Li, D. Szalkowski, S. Gopal-Truter, J. K. Fisher, J. M. Schaeffer, A. D. Blake, B. B. Zhang and H. A. Wilkinson (2003). "Somatostatin receptor subtype 5 regulates insulin secretion and glucose homeostasis." Mol Endocrinol **17**(1): 93-106.
- Sun, Y., A. Q. Nguyen, J. P. Nguyen, L. Le, D. Saur, J. Choi, E. M. Callaway and X. Xu (2014). "Cell-type-specific circuit connectivity of hippocampal CA1 revealed through Cre-dependent rabies tracing." Cell Rep **7**(1): 269-280.
- Sweatt, J. D. (2010). Chapter 1 - Introduction: The Basics of Psychological Learning and Memory Theory. Mechanisms of Memory (Second Edition). J. D. Sweatt. London, Academic Press: 1-23.
- Szabo, S. and S. Reichlin (1981). "Somatostatin in rat tissues is depleted by cysteamine administration." Endocrinology **109**(6): 2255-2257.
- Tallent, M. K. and G. R. Siggins (1997). "Somatostatin depresses excitatory but not inhibitory neurotransmission in rat CA1 hippocampus." J Neurophysiol **78**(6): 3008-3018.
- Tammaing, C. A., N. L. Foster, P. Fedio, E. D. Bird and T. N. Chase (1987). "Alzheimer's disease: low cerebral somatostatin levels correlate with impaired cognitive function and cortical metabolism." Neurology **37**(1): 161-165.
- Teyler, T. J. and B. E. Alger (1976). "Monosynaptic habituation in the vertebrate forebrain: the dentate gyrus examined in vitro." Brain Res **115**(3): 413-425.
- Tirone, T. A., M. A. Norman, S. Moldovan, F. J. DeMayo, X. P. Wang and F. C. Brunnicardi (2003). "Pancreatic somatostatin inhibits insulin secretion via SSTR-5 in the isolated perfused mouse pancreas model." Pancreas **26**(3): e67-73.

- Topolnik, L. (2012). "Dendritic calcium mechanisms and long-term potentiation in cortical inhibitory interneurons." Eur J Neurosci **35**(4): 496-506.
- Topolnik, L., M. Azzi, F. Morin, A. Kougioumoutzakis and J. C. Lacaille (2006). "mGluR1/5 subtype-specific calcium signalling and induction of long-term potentiation in rat hippocampal oriens/alveus interneurons." J Physiol **575**(Pt 1): 115-131.
- Tricoire, L., K. A. Pelkey, B. E. Erkkila, B. W. Jeffries, X. Yuan and C. J. McBain (2011). "A blueprint for the spatiotemporal origins of mouse hippocampal interneuron diversity." J Neurosci **31**(30): 10948-10970.
- Tyan, L., S. Chamberland, E. Magnin, O. Camire, R. Francavilla, L. S. David, K. Deisseroth and L. Topolnik (2014). "Dendritic inhibition provided by interneuron-specific cells controls the firing rate and timing of the hippocampal feedback inhibitory circuitry." J Neurosci **34**(13): 4534-4547.
- Vasuta, C., J. Artinian, I. Laplante, S. Hebert-Seropian, K. Elayoubi and J. C. Lacaille (2015). "Metaplastic Regulation of CA1 Schaffer Collateral Pathway Plasticity by Hebbian MGluR1a-Mediated Plasticity at Excitatory Synapses onto Somatostatin-Expressing Interneurons." eNeuro **2**(4).
- Vecsei, L., I. Bollok and G. Telegdy (1983). "Intracerebroventricular somatostatin attenuates electroconvulsive shock-induced amnesia in rats." Peptides **4**(3): 293-295.
- Vecsei, L., C. Kiraly, I. Bollok, A. Nagy, J. Varga, B. Penke and G. Telegdy (1984). "Comparative studies with somatostatin and cysteamine in different behavioral tests on rats." Pharmacol Biochem Behav **21**(6): 833-837.
- Vecsei, L. and E. Widerlov (1988). "Effects of intracerebroventricularly administered somatostatin on passive avoidance, shuttle-box behaviour and open-field activity in rats." Neuropeptides **12**(4): 237-242.
- Warren, S. G., A. G. Humphreys, J. M. Juraska and W. T. Greenough (1995). "LTP varies across the estrous cycle: enhanced synaptic plasticity in proestrus rats." Brain Res **703**(1-2): 26-30.
- Zheng, H., A. Bailey, M. H. Jiang, K. Honda, H. Y. Chen, M. E. Trumbauer, L. H. Van der Ploeg, J. M. Schaeffer, G. Leng and R. G. Smith (1997). "Somatostatin receptor subtype 2 knockout mice are refractory to growth hormone-negative feedback on arcuate neurons." Mol Endocrinol **11**(11): 1709-1717.
- Zou, S., R. K. Somvanshi and U. Kumar (2017). "Somatostatin receptor 5 is a prominent regulator of signaling pathways in cells with coexpression of Cannabinoid receptors 1." Neuroscience **340**: 218-231.