

Université de Montréal

Mécanismes de la transmission synaptique GABAergique des cellules  
pyramidales et interneurons de l'hippocampe chez le rat

par

Christian Patenaude

Département de physiologie  
Centre de recherche en sciences neurologiques  
Faculté de médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
Philosophiae Doctor (Ph.D.)  
en sciences neurologiques

mai 2005

© Christian Patenaude, 2005





**Direction des bibliothèques**

**AVIS**

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

**NOTICE**

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée

Mécanismes de la transmission synaptique GABAergique des cellules  
pyramidales et interneurons de l'hippocampe chez le rat

présentée par:

Christian Patenaude

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes:

Dr. Vincent Castellucci (président-rapporteur et  
représentant du doyen de la FES)

Dr. Jean-Claude Lacaille (directeur de recherche)

Dr. Louis-Éric Trudeau (membre du jury)

Dr. Yves DeKoninck (examineur externe)

## SOMMAIRE

L'activité neuronale dans le système nerveux central est finement contrôlée par la transmission inhibitrice GABAergique. En conséquence, des changements au niveau de cette transmission inhibitrice peuvent avoir des répercussions importantes sur l'excitabilité et la fonction des réseaux neuronaux. Les travaux de recherche présentés dans cette thèse visaient à étudier les mécanismes de régulation de la transmission aux synapses GABAergiques des cellules pyramidales et des interneurons de la région CA1 de l'hippocampe. Ces travaux ont d'abord démontré qu'une stimulation modérée à la fréquence du rythme thêta produisait une potentialisation à long terme (PLT) des réponses postsynaptiques inhibitrices des cellules pyramidales, alors qu'une stimulation intense à haute fréquence (100 Hz) produisait une dépression transitoire. L'étude des voies de signalisation responsables de cette PLT activité-dépendante a révélé que l'activation postsynaptique des protéines G, des récepteurs métabotropes du GABA et du glutamate (mGluRs), de même qu'une élévation postsynaptique de  $Ca^{2+}$ , étaient nécessaires pour induire cette plasticité. Toutefois, aucune PLT n'a été observée lorsqu'une seule fibre inhibitrice était stimulée en bouffées thêta, suggérant que l'activation simultanée de plusieurs fibres présynaptiques est nécessaire pour produire cette plasticité à long terme.

La comparaison des propriétés fonctionnelles des synapses GABAergiques des cellules pyramidales et des interneurons de la couche radiatum a révélé des différences entre ces deux populations de cellules, notamment au niveau de la cinétique des courants inhibiteurs, des propriétés de relâche du GABA et de la plasticité synaptique. À cet égard, nos résultats démontrent que les mécanismes qui sous-tendent la PLT aux synapses GABA des interneurons suite à la stimulation en bouffées thêta divergent de ceux observés chez les cellules pyramidales puisque la PLT n'est pas affectée par les antagonistes des récepteurs  $GABA_B$  et mGluRs. De plus, deux formes de dépression à court terme exprimées par les cellules pyramidales (suite à une stimulation à haute fréquence ou suite à une dépolarisation postsynaptique) étaient absentes dans les interneurons, suggérant que l'activité neuronale influence différemment la transmission synaptique inhibitrice sur les cellules pyramidales et les interneurons.

Finalement, une étude pharmacologique visant à identifier les sous-types de récepteurs GABA<sub>A</sub> présents aux synapses inhibitrices des interneurons de la couche oriens/alveus a dévoilé que les courants postsynaptiques inhibiteurs miniatures étaient modulés à la hausse par le flunitrazepam, le zolpidem et l'allopregnanolone, mais à la baisse par le zinc et la furosemide, suggérant que les récepteurs GABA<sub>A</sub> sont hétérogènes aux synapses GABA des interneurons de la couche oriens-alveus .

Globalement, les travaux présentés dans cette thèse démontrent que la transmission GABAergique est régulée par de multiples mécanismes. Cette modulation de la transmission inhibitrice permettrait de contrôler l'excitabilité neuronale et pourrait contribuer aux diverses fonctions de l'hippocampe.

**Mots clés:** hippocampe, plasticité synaptique, récepteurs GABA, transmission inhibitrice, synapses GABAergiques, courants postsynaptiques inhibiteurs, réseaux neuronaux, activité rythmique

## SUMMARY

Neuronal activity in the central nervous system is tightly controlled by inhibitory GABAergic transmission. Accordingly, alterations in inhibitory transmission may exert major influences on the excitability and function of neuronal networks. The aim of the present thesis was to investigate the mechanisms regulating inhibitory transmission at GABA synapses impinging on hippocampal CA1 pyramidal cells and interneurons. This work first demonstrated that a moderate stimulation at theta frequency induced a long-term potentiation (LTP) of inhibitory postsynaptic responses in pyramidal cells, whereas a high frequency stimulation (100 Hz) resulted in a transient depression. Characterization of the signaling pathways mediating this activity-dependent LTP revealed that postsynaptic activation of G proteins, GABA<sub>B</sub> receptors and metabotropic glutamate receptors (mGluRs), as well as a rise in postsynaptic Ca<sup>2+</sup>, were required for this plasticity. However, no LTP was observed when a single inhibitory fiber received the theta burst stimulation, suggesting that the simultaneous activation of several presynaptic fibers is necessary for this long-term plasticity.

Comparison of the functional properties of GABA synapses impinging onto pyramidal cells and stratum radiatum interneurons revealed several differences between these cells, notably for the kinetics of inhibitory currents, GABA release probability and synaptic plasticity. In this regard, our results demonstrated that the mechanisms responsible for LTP at interneuron GABA synapses differed from those described for pyramidal cells since LTP was unaffected by GABA<sub>B</sub> receptor and mGluR antagonists. Moreover, two forms of short-term depression expressed in pyramidal cells (following a high frequency stimulation and a postsynaptic depolarization) were lacking in interneurons, suggesting that neuronal activity may differentially regulate inhibitory synaptic transmission in pyramidal cells and interneurons.

Finally, a pharmacological investigation undertaken to identify GABA<sub>A</sub> receptor subtypes present at inhibitory synapses of oriens-alveus interneurons revealed that miniature inhibitory postsynaptic currents were positively modulated by flunitrazepam, zolpidem and allopregnanolone but negatively modulated by zinc and furosemide, suggesting that GABA<sub>A</sub> receptors are heterogeneous at GABA synapses of oriens-alveus interneurons.

Taken together, the results presented in this thesis demonstrate that GABAergic transmission is regulated by various mechanisms. This modulation of inhibitory transmission may allow the control of neuronal excitability and may contribute to hippocampal functions.

**Keywords:** hippocampus, synaptic plasticity, GABA receptors, inhibitory transmission, GABA synapses, inhibitory postsynaptic currents, neuronal networks, rhythmic activity



## Table des matières

<b>Sommaire</b> .....	i
<b>Summary</b> .....	iii
<b>Table des matières</b> .....	v
<b>Liste des tableaux</b> .....	viii
<b>Liste des figures</b> .....	ix
<b>Liste des abréviations</b> .....	xi
<b>Remerciements</b> .....	xiv

### CHAPITRE 1

<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE ET OBJECTIFS DE LA THÈSE</b> .....	1
<b>1.1 Description de l'hippocampe</b> .....	2
1.1.1 Rôle de l'hippocampe dans les processus d'apprentissage et de mémorisation .	2
1.1.2 Structure de l'hippocampe .....	4
1.1.3 L'hippocampe est formé de plusieurs couches cellulaires .....	6
<b>1.2 Réseaux d'interneurones au sein de l'hippocampe</b> .....	7
1.2.1 Propriétés membranaires des interneurones .....	7
1.2.2 Diversité morphologique des interneurones .....	8
1.2.3 Distribution et rôle des neuropeptides .....	11
1.2.4 Distribution et rôle des protéines liant le $Ca^{2+}$ .....	12
1.2.5 Interneurones avec innervation prédominante pour d'autres interneurones .....	13
<b>1.3 Transmission synaptique dans l'hippocampe</b> .....	14
1.3.1 Transmission inhibitrice assurée par les récepteurs $GABA_A$ .....	15
1.3.1.1 Structure des récepteurs $GABA_A$ .....	15
1.3.1.2 Les propriétés pharmacologiques et électrophysiologiques des récepteurs $GABA_A$ dépendent de leur composition .....	18
1.3.1.3 Modulation des récepteurs $GABA_A$ par les protéines kinases .....	19
1.3.1.4 Protéines associées aux récepteurs $GABA_A$ .....	20
1.3.1.5 Récepteurs $GABA_A$ dans l'hippocampe .....	21
1.3.1.6 Les récepteurs $GABA_A$ peuvent dépolariser les neurones .....	23

1.3.2	Transmission inhibitrice assurée par les récepteurs GABA <sub>B</sub> .....	23
1.3.2.1	Structure des récepteurs GABA <sub>B</sub> .....	23
1.3.2.2	Voies de signalisation et effecteurs activés par les récepteurs GABA <sub>B</sub> ..	24
1.3.2.3	Récepteurs GABA <sub>B</sub> dans l'hippocampe.....	26
<b>1.4</b>	<b>Plasticité synaptique des réseaux neuronaux</b> .....	<b>27</b>
1.4.1	Mécanismes de la PLT des cellules pyramidales du CA1 .....	28
1.4.2	Corrélations entre la PLT, l'apprentissage et la mémoire.....	30
1.4.3	Plasticité synaptique dans les circuits inhibiteurs de l'hippocampe .....	31
<b>1.5</b>	<b>Objectifs de la thèse</b> .....	<b>33</b>

## CHAPITRE 2

<b>LA POTENTIALISATION À LONG TERME DE LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE GABA<sub>A</sub> DANS L'HIPPOCAMPE DE RAT DÉPEND DES RÉCEPTEURS GABA<sub>B</sub> ET DES RÉCEPTEURS MÉTABOTROPES DU GLUTAMATE</b> .....	<b>35</b>
--	-----------

## CHAPITRE 3

<b>SPÉCIFICITÉ CELLULAIRE DE LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE GABA ET DE LA PLASTICITÉ DÉPENDANTE DE L'ACTIVITÉ DANS LES INTERNEURONES DE LA COUCHE RADIATUM DE L'HIPPOCAMPE DE RAT</b> .....	<b>70</b>
---	-----------

## CHAPITRE 4

<b>SENSIBILITÉ DES RÉCEPTEURS GABA<sub>A</sub> SYNAPTIQUES À DES MODULATEURS ALLOSTÉRIQUES DANS LES INTERNEURONES ORIENTÉS DE L'HIPPOCAMPE</b> .....	<b>106</b>
--	------------

**CHAPITRE 5**

<b>DISCUSSION GÉNÉRALE</b> .....	138
<b>5.1 Récapitulation des résultats principaux et plan de la discussion</b> .....	139
<b>5.2 Sites de la PLT au sein des réseaux inhibiteurs de l'hippocampe</b> .....	139
<b>5.3 Mécanismes de la PLT aux synapses GABA de l'hippocampe</b> .....	142
<b>5.4 Mécanismes de la transmission inhibitrice sur les cellules pyramidales et les interneurons</b> .....	145
<b>5.5 Comparaison des propriétés et de la plasticité des synapses GABA des cellules pyramidales et des interneurons</b> .....	146
<b>5.6 Modulation pharmacologique des récepteurs GABA<sub>A</sub> des interneurons</b> .....	150
<b>5.7 Impact fonctionnel de la plasticité aux synapses GABA</b> .....	151
<b>5.8 Perspectives d'avenir</b> .....	154
 <b>BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE</b> .....	 158
 <b>ANNEXE I</b> .....	 193

**LISTE DES TABLEAUX****CHAPITRE 1**

Tableau I. Propriétés des interneurons de la région CA1 de l'hippocampe ..... 13-B

Tableau II. Rôles des protéines associées aux récepteurs GABA<sub>A</sub>.....21

**CHAPITRE 3**

Table I. Properties of eIPSCs and sIPSCs at GABA synapses of pyramidal cells and  
RAD interneurons .....96

Table II. Membrane and eIPSC properties in interneurons expressing or not LTP.....96

**CHAPITRE 4**

Table I. Averaged mIPSCs recorded in OA interneurons..... 128

Table II. Modulation of GABA<sub>A</sub> mIPSCs in OA interneurons..... 128

## LISTE DES FIGURES

### CHAPITRE 1

Figure 1. Schéma illustrant le circuit trisynaptique excitateur de l'hippocampe et les différentes couches cellulaires dans une coupe transverse. ....	5
Figure 2. Schéma représentant les principaux types d'interneurones de la région CA1 de l'hippocampe. ....	10
Figure 3. Structure des récepteurs GABA. ....	17

### CHAPITRE 2

Figure 1. Long-term potentiation (LTP) of monosynaptic early IPSPs is induced by theta-burst stimulation (TBS) but not by high frequency stimulation (HFS) in CA1 pyramidal cells .....	64
Figure 2. LTP requires postsynaptic G-protein activation.....	65
Figure 3. Paired-pulse ratio of IPSCs is not affected following LTP induction .....	66
Figure 4. TBS-induced LTP of IPSCs depends on GABA <sub>B</sub> receptor activation.....	67
Figure 5. LTP of IPSCs is reduced by a group I/II mGluR antagonist and is abolished by postsynaptic Ca <sup>2+</sup> chelation.....	68
Figure 6. Short-term potentiation of unitary IPSCs during paired interneuron-pyramidal cell recordings.....	69

### CHAPITRE 3

Figure 1. Different properties of monosynaptic inhibitory postsynaptic currents (eIPSCs) in RAD interneurons and pyramidal cells .....	100
Figure 2. TBS induces long-term potentiation of eIPSCs in RAD interneurons and pyramidal cells .....	101
Figure 3. High frequency stimulation (HFS) elicits a transient depression of eIPSCs in pyramidal cells but not in RAD interneurons .....	102
Figure 4. Depolarization-induced suppression of inhibition (DSI) of eIPSCs in pyramidal cells but not in RAD interneurons .....	103

Figure 5. DSI of spontaneous IPSCs (sIPSC) in pyramidal cells but not in RAD interneurons.....	104
Figure 6. Morphological heterogeneity of RAD interneurons and cell-type specific differential plasticity .....	105

#### **CHAPITRE 4**

Figure 1. GABA <sub>A</sub> -mediated mIPSCs in morphologically identified interneurons .....	132
Figure 2. Negative modulation of mIPSCs by zinc.....	133
Figure 3. Negative modulation by furosemide.....	134
Figure 4. Positive modulation by zolpidem .....	135
Figure 5. Positive modulation by flunitrazepam.....	136
Figure 6. Positive modulation by allopregnanolone .....	137

#### **CHAPITRE 5**

Figure 1. Schéma simplifié illustrant les différents sites synaptiques pouvant exprimer la PLT au sein des circuits inhibiteurs.....	140
Figure 2. Mécanismes possibles de la PLT aux synapses GABA des cellules pyramidales du CA1.....	143
Figure 3. Schéma récapitulatif illustrant les différences au niveau de la transmission et de la plasticité des synapses GABAergiques sur les cellules pyramidales et les interneurones RAD.....	148
Figure 4. Scénarios possibles pouvant expliquer la spécificité cellulaire des synapses GABAergiques sur les cellules pyramidales et les interneurones.....	149

## LISTES DES ABRÉVIATIONS

### Chapitres 1 à 5

ACSF: Artificial cerebrospinal fluid

ARNm: Acide ribonucléique messagé

AMPA:  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole proprionic acid

AMPc: Adénosine monophosphate cyclique

ATP: Adénosine triphosphate

CA1: Corne d'Ammon 1

CA3: Corne d'Ammon 3

CaMKII: Protéine kinase  $Ca^{2+}$ /calmoduline II

CB: Cannabinoïde

CCK: Cholécistokinine

CNS: Central nervous system

CPSEm: Courant postsynaptique excitateur miniature

CPSI: Courant postsynaptique inhibiteur

CPSIm: Courant postsynaptique inhibiteur miniature

CV<sup>2</sup>: Coefficient of variation

Decay  $\tau$ : Decay time constant

DLT: Dépression à long terme

DSI: Suppression de l'inhibition suite à une dépolarisation postsynaptique

E<sub>IPSC</sub>: Potentiel d'inversion des CPSIs

eIPSCs: Evoked inhibitory postsynaptic currents

e-PLT: Phase précoce de la PLT

EPSPs: Excitatory postsynaptic potentials

GABA: acide  $\gamma$ -aminobutyrique

GABARAP: Protéine associée aux récepteurs GABA<sub>A</sub>

GAD: Décarboxylase de l'acide glutamique

GIRK: Canaux potassium à rectification entrante régulé par les protéines G

GTP: Guanosine triphosphate

HFS: High frequency stimulation

Hz: Hertz

IEIs: Inter-event intervals

IP<sub>3</sub>: Inositol triphosphate

IPSCs: Inhibitory postsynaptic currents

IPSPs: Inhibitory postsynaptic potentials

KCC2: Co-transporteur des ions potassium et chlore de type 2

LM: Couche lacunosum-moleculare

LM-PYR: Synaptically-connected interneurons in stratum lacunosum-moleculare and pyramidal cells

l-PLT: Phase tardive de la PLT

LTD: Long-term depression

LTP: Long-term potentiation

mIPSCs: Miniature inhibitory postsynaptic currents

mGluR: Récepteur métabotrope du glutamate

NMDA: N-méthyl-D-aspartate

NPY: Neuropeptide Y

OA: Couche oriens/alveus

PIV: Polypeptide intestinal vasoactif

PKA: Protéine kinase A

PKC: Protéine kinase C

PKG: Protéine kinase G

PLT: Potentialisation à long terme

PPR: Paired-pulse ratio

PPSE: Potentiel postsynaptique excitateur

PPSI: Potentiel postsynaptique inhibiteur

RAD: Radiatum

SBT: Stimulation en bouffée à la fréquence thêta

SHF: Stimulation à haute fréquence

sIPSCs: Spontaneous inhibitory postsynaptic currents

SNC: Système nerveux central

SOM: Somatostatine



TBS: Theta-burst stimulation

TM: Domaine transmembranaire

uIPSCs: Unitary inhibitory postsynaptic currents

5-HT: 5-Hydroxytryptophane

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail.

Tout d'abord, j'aimerais exprimer ma reconnaissance à mon directeur de recherche, le Dr Jean-Claude Lacaille, pour l'accueil qu'il m'a offert et pour m'avoir permis d'évoluer dans un environnement dynamique et formateur. Ses conseils judicieux et son enseignement rigoureux prodigués tout au long de ma formation scientifique ont été fort appréciés.

Je voudrais aussi témoigner de ma gratitude envers tous les membres présents et passés du laboratoire qui m'ont apportés une aide précieuse et qui m'ont permis d'évoluer dans un milieu convivial.

À ma famille, qui m'a soutenu et encouragé tout au long de mes études.

Enfin, j'aimerais remercier les IRSCs, la Faculté des études supérieures et le Dr Jean-Claude Lacaille pour leur soutien financier.

## **CHAPITRE 1**

### **INTRODUCTION GÉNÉRALE ET OBJECTIFS DE LA THÈSE**

## 1.1 Description de l'hippocampe

### 1.1.1 Rôle de l'hippocampe dans les processus d'apprentissage et de mémorisation

L'hippocampe est une composante du système limbique qui a été au centre d'une recherche soutenue au cours des dernières décennies à cause de son implication dans les processus mnémoniques. Le cas de H.M., un patient qui souffrait de graves crises d'épilepsies généralisées ne répondant à aucun traitement pharmacologique, est l'une des observations pionnières ayant permis de mettre en évidence l'importance de l'hippocampe pour la mémorisation. Des études effectuées au cours des années '50 ont démontré que suite à l'ablation bilatérale du lobe temporal médian, incluant la portion antérieure de l'hippocampe, l'amygdale et le cortex entorhinal, H.M. présentait des lacunes permanentes au niveau de la rétention et de la formation de nouveaux souvenirs (mémoire antérograde) et un léger déficit au niveau du rappel des événements survenus avant l'opération (mémoire rétrograde), sans toutefois que les autres fonctions cognitives ne soient significativement affectées (Scoville, 1954; Scoville & Milner, 1957). Depuis, il a été observé que des lésions similaires du cortex temporal réduisent également les facultés de mémorisation chez le singe (Squire & Zola, 1996) et que les aires corticales adjacentes à l'hippocampe, telles les cortex entorhinal, périrhinal et parahippocampiques, sont aussi importantes lors de l'apprentissage. En effet, les performances des singes à effectuer des tâches de mémorisation sont considérablement réduites lorsque les lésions sont répandues à l'ensemble de ces structures du lobe temporal (Squire & Zola-Morgan, 1991; Zola-Morgan *et al.*, 1994). De même, des lésions restreintes à l'hippocampe ou même limitées à l'aire CA1 de l'hippocampe sont suffisantes pour générer certains troubles de la mémoire plus légers, mais pouvant tout de même perturber les capacités d'apprentissage (Zola-Morgan & Squire, 1986; Zola-Morgan *et al.*, 1986; Rempel-Clower *et al.*, 1996). Ceci démontre qu'il existe une corrélation entre l'étendue des lésions du lobe temporal et la sévérité des déficits et donc, que l'hippocampe, bien qu'il soit une composante primordiale, n'est pas la seule région impliquée dans les processus d'apprentissage et de mémoire. Il semble que la synthèse globale de l'apprentissage dépende plutôt de l'intégrité des connections entre cette région et d'autres aires corticales. Puisque le néocortex est considéré comme étant

le site privilégié du stockage de l'information, des interactions similaires entre l'hippocampe et cette région pourraient par ailleurs servir au maintien et à la consolidation de la mémoire (Squire & Zola, 1996).

Il faut cependant noter que le lobe temporal ne constitue pas le siège de toutes les formes d'apprentissage et de mémoire. En effet, bien que la mémoire dite déclarative ou explicite, c'est-à-dire la mémorisation des faits et événements (par exemple la reconnaissance d'un lieu ou d'un objet) soit perturbée quand il y a lésion de l'hippocampe, la mémoire dite non-déclarative ou implicite, définie comme étant l'aptitude à effectuer une tâche manuelle ou à apprendre de nouvelles procédures (appelée aussi la mémoire procédurale), n'est pas atteinte (Cohen & Squire, 1980; Zola-Morgan *et al.*, 1986). Un exemple concret de ce paradoxe est illustré par le fait que les patients devenus amnésiques suite à une lésion du lobe temporal sont capables d'associer correctement un indice et sa réponse avec autant de succès que les individus normaux sans toutefois se souvenir d'avoir effectué la tâche (Knowlton *et al.*, 1994). Ainsi, il semble que la mémoire ne soit pas une seule et unique entité mais qu'elle consiste plutôt en plusieurs formes distinctes qui sont traitées et emmagasinées spécifiquement dans différents systèmes neuronaux.

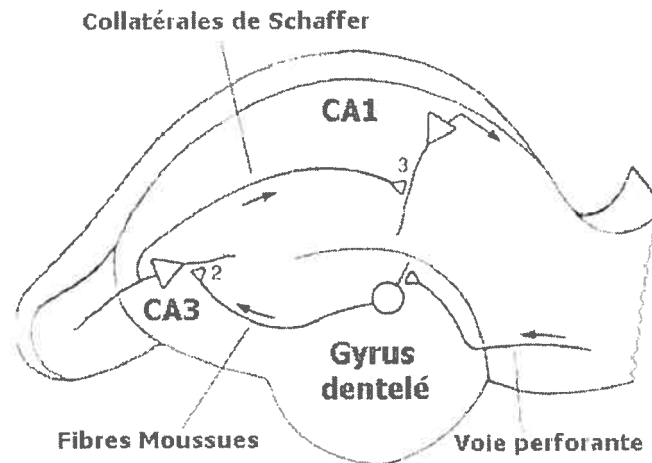
Un nombre croissant d'études ont tenté d'identifier les régions corticales impliquées dans chacune de ces formes de mémoire. En ce qui concerne la mémoire non-déclarative, la situation est particulièrement complexe parce que plusieurs formes de mémoire et de stratégie peuvent être incluses dans ce groupe. Néanmoins, les études effectuées jusqu'à présent tendent à démontrer que le striatum, le néocortex, l'amygdale et le cervelet sont des structures clés (Squire & Zola, 1996). Tel que mentionné ci-haut, il ne fait aucun doute que les régions du lobe temporal médian incluant l'hippocampe de même que les cortex entorhinal et périrhinal jouent, quant à elles, un rôle crucial dans les processus de la mémoire déclarative (Squire & Zola, 1996). L'attribution d'un rôle aussi important à l'hippocampe justifie donc que l'on s'intéresse plus en détail à la structure et la fonction de cette région.

### *1.1.2 Structure de l'hippocampe*

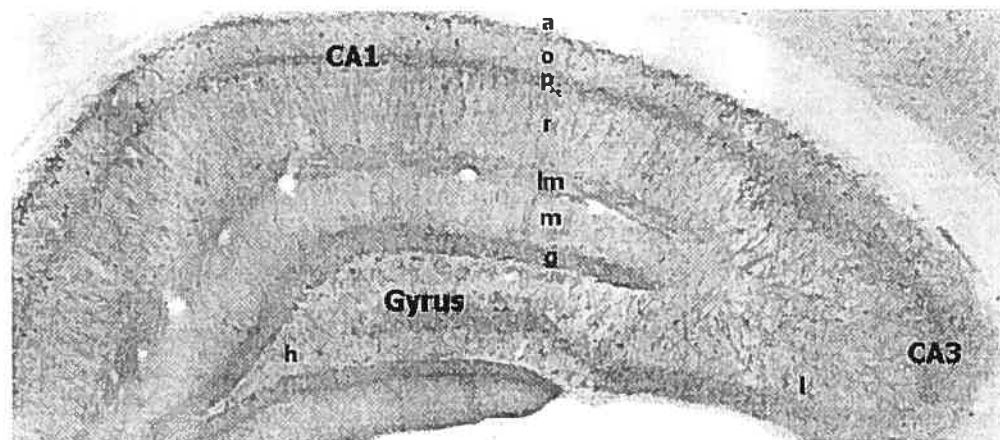
En général, on considère que le gyrus dentelé et l'hippocampe forment, avec le subiculum et le cortex entorhinal, la formation hippocampique. À des fins de simplification cependant, le terme hippocampe sera ici utilisé pour désigner la structure qui regroupe le gyrus dentelé et la corne d'Ammon. Les connaissances actuelles sur l'anatomie de l'hippocampe ont été grandement influencées par les travaux pionniers de Ramon y Cajal (1911) et Lorente de No (1934) qui, à l'aide de la technique de Golgi, ont identifié quatre aires distinctes dans l'hippocampe: le gyrus dentelé de même que les cornes d'Ammon 1 à 3 (CA1 à CA3). Chacune de ces aires présente une couche très dense de cellules dites principales qui libèrent le glutamate et constituent la majorité des neurones de l'hippocampe. Dans le gyrus dentelé, ces cellules ont une forme arrondie et sont nommées cellules granulaires tandis que dans les aires CA1 à CA3, elles ont une forme triangulaire et portent le nom de cellules pyramidales (Figure 1A). Les cellules principales de chaque aire de l'hippocampe sont reliées entre elles par des connexions majoritairement unidirectionnelles qui forment un circuit trisynaptique permettant le transfert de l'information d'une aire à l'autre. Ce circuit est constitué 1) de la voie perforante, la principale voie d'entrée de l'hippocampe, composée de fibres afférentes provenant du cortex entorhinal et se terminant sur les dendrites des cellules granulaires du gyrus dentelé, 2) des fibres moussues, appelées ainsi à cause de la présence de protubérances épineuses, constituées des axones des cellules granulaires et innervant les dendrites proximales des cellules pyramidales de l'aire CA3 et 3) les axones des cellules pyramidales du CA3, appelées les collatérales de Schaffer, projetant à leur tour dans la région CA1 et se terminant sur les dendrites apicales des cellules pyramidales dans les couches radiatum et lacunosum-moleculare. Finalement, les axones des cellules pyramidales du CA1 projettent à l'extérieur de l'hippocampe, vers le subiculum et ensuite dans le cortex entorhinal (Ramon y Cajal, 1911; Lorente de No, 1934; Amaral & Witter, 1989; Lopes da Silva et al., 1990). Bien que ce réseau constitue le principal circuit exciteur de l'hippocampe, d'autres connexions excitatrices directes existent entre le cortex entorhinal et les dendrites distales des cellules pyramidales du CA3 et du CA1 (voie temporo-ammonique). Les cellules pyramidales du CA3 sont également

fortement interconnectées par des fibres associatives récurrentes (Hjorth-Simonsen, 1973; Swanson et al., 1978; Amaral & Witter, 1989).

**A**



**B**



**Figure 1: Schéma illustrant le circuit trisynaptique excitateur de l'hippocampe (A) et les différentes couches cellulaires dans une coupe transverse (B).** Adaptée de Kandel, Schwartz et Jessell, 1991 (A) et Freund et Buzsáki, 1996 (B).

*a*: Alvéus; *o*: Oriens; *p*: couche pyramidale; *r*: Radiatum; *lm*: Lacunosum-moleculare; *m*: Moleculare; *g*: Couche granulaire; *h*: Hile; *l*: Lucidum

Il a été initialement proposé que le circuit trisynaptique avait une organisation lamellaire. Cette hypothèse stipulait que chacune des voies activées successivement par une stimulation du cortex entorhinal (voie perforante, fibres moussues, collatérales de

Schaffer) était orientée dans la même direction, faisant en sorte qu'une seule mince lamelle pouvait être activé indépendamment des autres bandes de tissu (Anderson *et al.*, 1971). Des études subséquentes ont cependant démontré que, mises à part les fibres moussues, les autres voies du circuit trisynaptique possèdent une organisation plus ou moins lamellaire, l'orientation des fibres s'avérant plutôt divergente et très répandue (Amaral & Witter, 1989).

### *1.1.3 L'hippocampe est formé de plusieurs couches cellulaires*

L'hippocampe contient, en plus d'une couche compacte de cellules principales, plusieurs autres couches cellulaires (Figure 1B). Dans le gyrus dentelé, trois couches distinctes peuvent être identifiées: la couche moléculaire, dans laquelle se termine la voie perforante qui contacte les dendrites de cellules granulaires, la couche granulaire où repose les corps cellulaires des cellules granulaires, et le hile, où passent les fibres moussues avant d'entrer dans l'aire CA3. Les aires CA1 et CA3 comptent cinq couches distinctes: 1) la couche lacunosum-moléculaire, qui forme la couche la plus éloignée des cellules pyramidales et comprend des dendrites et des regroupements de fibres parallèles (collatérales des cellules pyramidales ou fibres provenant de l'extérieur de l'hippocampe); 2) la couche radiatum, qui forme la couche la plus étendue et comprend les dendrites apicales des cellules pyramidales de même que les collatérales de Schaffer; 3) la couche pyramidale, constituée des corps cellulaires des cellules pyramidales; 4) la couche oriens, formée des dendrites basales des cellules pyramidales et des collatérales des cellules pyramidales du CA3, et finalement, 5) l'alveus, qui comprend principalement les axones des cellules pyramidales du CA1 qui projettent à l'extérieur de l'hippocampe vers le cortex entorhinal. L'aire CA3 comporte une couche supplémentaire située du côté apical des cellules pyramidales appelée la couche lucidum, où les fibres moussues viennent contacter les dendrites proximales des cellules pyramidales.

Chacune de ces couches contient de plus d'autres types de cellules dites non-principales, ou interneurones. Ces cellules diffèrent considérablement des cellules principales par leur morphologie, leur nombre plus faible et leur distribution moins compacte. Alors que les axones des cellules principales forment sur les neurones



postsynaptiques des synapses asymétriques excitatrices localisées surtout sur les dendrites et les épines dendritiques, les axones des interneurones, quant à eux, forment des synapses symétriques inhibitrices sur les dendrites et les corps cellulaires (Gray, 1959; Colonnier, 1968). Le marquage immunocytochimique des interneurones par l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA), considéré comme étant le principal neurotransmetteur inhibiteur dans le cortex (Krnjevic & Schwartz, 1967), et son enzyme de synthèse, la décarboxylase de l'acide glutamique (GAD), a d'ailleurs confirmé leur nature inhibitrice (Ribak *et al.*, 1978; Storm-Mathisen *et al.*, 1983; Somogyi *et al.*, 1985). La section suivante se penche sur les propriétés des interneurones situés dans l'aire CA1 de l'hippocampe.

## **1.2 Réseaux d'interneurones au sein de l'hippocampe**

Les interneurones constituent environ 10 % des neurones présents dans l'hippocampe (Freund & Buzsaki, 1996). La majorité, sinon la totalité, de ces cellules libèrent la substance inhibitrice GABA (Freund & Buzsaki, 1996), synthétisée à partir du glutamate dans une réaction catalysée par la décarboxylase de l'acide glutamique (GAD). Les interneurones possèdent un axone extrêmement ramifié, ce qui leur permet de contacter et de contrôler localement l'excitabilité d'un grand nombre de cellules pyramidales (Struble *et al.*, 1978; Buzsaki, 1984; Miles *et al.*, 1996). Il arrive cependant parfois que les axones projettent à l'extérieur de l'hippocampe; c'est notamment le cas de certains interneurones du hile qui, en plus d'innover localement, étendent leurs ramifications jusque dans le gyrus dentelé contralateral (Seress & Ribak, 1983; Ribak *et al.*, 1986). De la même façon, certains interneurones localisés dans la couche oriens-alveus et dans le hile projettent au septum (Alonso & Kohler, 1982; Toth & Freund, 1992). Tel que décrit dans cette section, il existe une très grande diversité d'interneurones dans l'hippocampe. Ces différents types cellulaires exercent plusieurs fonctions distinctes au sein des réseaux neuronaux (Buhl *et al.*, 1994).

### *1.2.1 Propriétés membranaires des interneurones*

Du point de vue électrophysiologique, il est relativement facile de distinguer les cellules pyramidales des interneurones (Ranck, 1973). En effet, il a été démontré que les

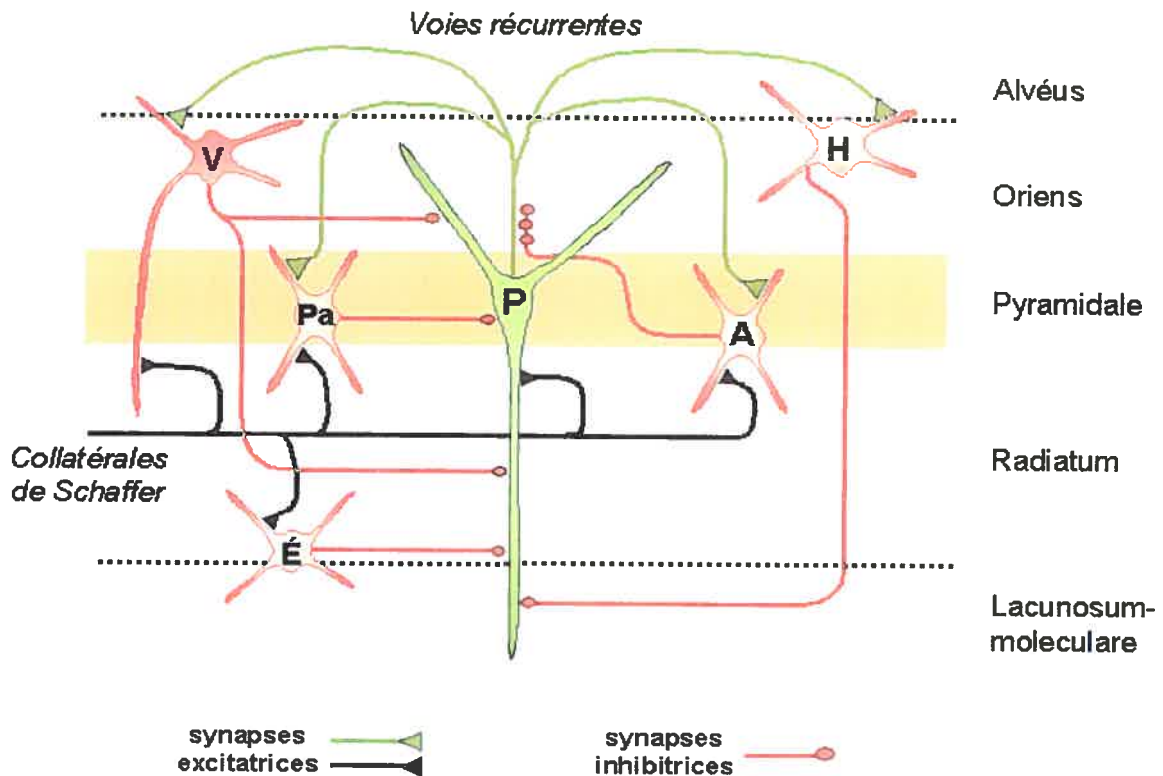
interneurones possèdent généralement un potentiel de repos plus dépolarisé (Mott *et al.*, 1997; Fricker *et al.*, 1999) et une résistance membranaire plus élevée que les cellules pyramidales (Lacaille *et al.*, 1987). Les interneurones se distinguent de plus des cellules pyramidales par leur taux de décharge spontanée plus élevé et leurs potentiels d'action plus rapide. Ils démontrent également moins d'accommodation des potentiels d'actions lorsqu'un courant dépolarisant est injecté et ont une après-hyperpolarisation plus lente (Ranck, 1973; Schwartzkroin & Mathers, 1978; Schwartzkroin & Kunkel, 1985; Kawaguchi & Hama, 1987a, b; Lacaille *et al.*, 1987; Lacaille, 1991). Ces propriétés intrinsèques peuvent cependant varier considérablement d'une population d'interneurones à l'autre. Par exemple, il a été observé que les cellules à panier et les cellules bistratifiées peuvent décharger à de très hautes fréquences pouvant atteindre plus de 200 Hz (Lubke *et al.*, 1998) alors que les interneurones de la couche oriens-alveus déchargent à un taux d'environ 100 Hz (Lacaille & Williams, 1990) et que les interneurones situés dans les couches radiatum et lacunosum-moleculare possèdent un taux de décharge régulier similaire à celui des cellules pyramidales (Lacaille & Schwartzkroin, 1988a). Cette disparité des propriétés intrinsèques entre les interneurones et les cellules principales et parmi les interneurones est attribuable à l'expression différentielle de certains canaux  $K^+$  (Weiser *et al.*, 1994; Martina *et al.*, 1998; Lien & Jonas, 2003).

### 1.2.2 Diversité morphologique des interneurones

Des études effectuées à l'aide de différentes techniques de marquage ont permis d'observer qu'il existe plusieurs types d'interneurones se distinguant par leur morphologie dans la région CA1 de l'hippocampe. En identifiant la localisation du soma, l'orientation des dendrites et l'étendue des ramifications axonales, ces études ont permis de déterminer le type d'afférences reçu et le domaine postsynaptique ciblé par chaque type d'interneurones, et ont ainsi fourni d'importantes informations sur leurs rôles au sein des circuits neuronaux.

Du point de vue anatomique et fonctionnel, au moins cinq sous-types d'interneurones générant l'inhibition des cellules pyramidales peuvent être distingués dans la région CA1 (Figure 2). Les interneurones étoilés, situés dans les couches

radiatum et lacunosum-moleculare, sont activés par les collatérales des cellules pyramidales du CA3 et contactent les dendrites des cellules pyramidales du CA1 et sont donc responsable de l'inhibition proactive (Alger & Nicoll, 1982; Lacaille & Schwartzkroin, 1988a, b). À l'opposé, les neurones horizontaux de la couche oriens/alveus, qui reçoivent des collatérales récurrentes des cellules pyramidales du CA1 et innervent les dendrites apicales distales de ces cellules, assurent l'inhibition rétroactive exclusivement (McBain *et al.*, 1994; Blasco-Ibanez & Freund, 1995). Les cellules à panier et les cellules axo-axoniques (ou chandeliers) situées à proximité ou à l'intérieur de la couche pyramidale, de même que les cellules verticales de l'oriens, sont innervées à la fois par les afférences provenant des cellules pyramidales du CA3 et des collatérales récurrentes des cellules pyramidales du CA1 et permettent donc une inhibition autant pro- que rétroactive (Schwartzkroin & Mathers, 1978; Lacaille *et al.*, 1987; Buhl *et al.*, 1994). Ces cellules ne ciblent toutefois pas les mêmes domaines postsynaptiques; les axones des cellules à panier forment des connexions sur les somas/dendrites proximales des cellules pyramidales (Gulyas *et al.*, 1993) tandis que les cellules axo-axoniques ciblent principalement le segment initial de l'axone (Somogyi *et al.*, 1983). Les cellules verticales, quant à elles, ciblent surtout les dendrites des cellules pyramidales (Lacaille *et al.*, 1987; Lacaille & Williams, 1990). Bien que ces cellules représentent les cinq principales classes d'interneurones, il appert que la diversité des interneurones est beaucoup plus riche. En effet, une étude morphologique exhaustive a révélé que plus de seize sous-types d'interneurones sont présents dans la région CA1 (Parra *et al.*, 1998).



**Figure 2: Schéma représentant les principaux types d'interneurones de la région CA1 de l'hippocampe.** Interneurones responsables de l'inhibition proactive (E), rétroactive (H), ou pro- et rétro-active (V, Pa, A) des cellules pyramidales. *V*: Interneurones verticaux; *H*: Interneurones horizontaux; *Pa*: Cellules à panier; *A*: Interneurones axo-axonique; *E*: Interneurones étoilés; *P*: Cellules pyramidales.

Il semble que le rôle fonctionnel des interneurones innervant les régions somatiques ou périsomatiques des cellules pyramidales soit relativement différent des interneurones ciblant les domaines dendritiques. En effet, des expériences effectuées sur les cellules pyramidales du CA3 ont démontré que l'inhibition somatique est particulièrement importante pour contrôler l'efficacité de la transmission efférente en limitant la décharge répétée générée par les canaux sodique dépendant du voltage (Miles *et al.*, 1996). L'inhibition dendritique, quant à elle, contrôle l'efficacité et la plasticité des afférences en réduisant la dépolarisation postsynaptique des événements synaptiques excitateurs et en supprimant les potentiels d'action engendrés dans les dendrites par les canaux calciques dépendant du voltage (Wigstrom & Gustafsson, 1983; Miles *et al.*, 1996). Il

existe également dans la région CA1 différents types d'interneurones qui sont spécialisés pour innover sélectivement d'autres interneurones. Ces interneurones sont décrits dans la section 1.2.5.

### *1.2.3 Distribution et rôle des neuropeptides*

Les interneurones, en plus de libérer le GABA, expriment aussi plusieurs neuropeptides incluant la somatostatine (SOM), le neuropeptide Y (NPY), la cholécystokinine (CCK) et le polypeptide intestinal vasoactif (PIV). La distribution de chacun de ces neuropeptides varie considérablement dans les interneurones de la région CA1 (Freund & Buzsaki, 1996) (Tableau I). Par exemple, une grande quantité d'interneurones exprimant la SOM se retrouvent en abondance dans la couche oriens (bien qu'il en existe également un petit nombre dans la couche pyramidale) et ont majoritairement été identifiés comme faisant partie de la classe des interneurones horizontaux responsables de l'inhibition rétroactive (Freund & Buzsaki, 1996). Les interneurones exprimant le NPY se retrouvent aussi en grande quantité dans la couche oriens, mais sont également présents en petite quantité dans les couches pyramidale et radiatum. Ainsi, bien que leur distribution soit similaire à celle des interneurones immunoréactifs pour la SOM, les interneurones marqués pour le NPY forment une population cellulaire plus hétérogène puisque seulement 40-60 % d'entre eux correspondent aux cellules horizontales de la couche oriens (Kohler *et al.*, 1987; Freund & Buzsaki, 1996). Les interneurones exprimant la CCK sont, quant à eux, présents en abondance dans la couche radiatum, moins fréquemment dans les couches pyramidale et oriens, et rarement dans la couche lacunosum-moléculaire, et possèdent donc une distribution complémentaire à celle des interneurones immunoréactifs pour la SOM et le NPY; pratiquement tous les axones de ces interneurones forment des contacts périsonomatiques sur les cellules pyramidales, et correspondent donc aux cellules à panier (Gulyas *et al.*, 1991; Freund & Buzsaki, 1996). Par ailleurs, les interneurones qui expriment le PIV sont dispersés dans toutes les couches de la région CA1 mais sont situés en prédominance dans les couches pyramidale, lacunosum-moléculaire et la portion distale de la couche radiatum. Au moins trois types d'interneurones distincts expriment le PIV dans la région CA1, dont les cellules à panier et deux classes

d'interneurones qui innervent spécifiquement d'autres interneurones (Acsady *et al.*, 1996a, b) (voir section 1.2.5). Finalement, les enképhalines, la substance P et la neurokinine B sont d'autres neuropeptides également exprimés par certains interneurones de l'hippocampe. Toutefois, ces cellules sont moins nombreuses et correspondent généralement à des sous-groupes d'interneurones exprimant déjà l'un des quatre neuropeptides principaux (Freund & Buzsaki, 1996).

Il a été démontré que l'application exogène de certains neuropeptides tels le NPY et la SOM influence la transmission synaptique soit en inhibant la transmission excitatrice dans l'hippocampe (Klapstein & Colmers, 1993; Boehm & Betz, 1997; Tallent & Siggins, 1997; Whittaker *et al.*, 1999), en réduisant la relâche de GABA dans l'amygdale (Meis & Pape, 2001) ou en produisant une augmentation prolongée des réponses inhibitrices dans le néocortex (Bacci *et al.*, 2002). Des expériences effectuées à l'aide de souris transgéniques déficientes pour le NPY ont de plus mis en évidence que la présence endogène de ce peptide peut atténuer les décharges neuronales excessives et agir comme substance antiépileptique (Baraban *et al.*, 1997). Ainsi, tout en étant utiles en tant que marqueurs cellulaires, les neuropeptides peuvent également jouer un rôle fonctionnel important en régulant l'activité neuronale (Ludwig & Pittman, 2003).

#### 1.2.4 Distribution et rôle des protéines liant le $Ca^{2+}$

À l'instar des neuropeptides, les protéines liant le  $Ca^{2+}$  comme la parvalbumine, calbindine et calrétinine sont exprimées par différents sous-types d'interneurones et sont distribuées de façon hétérogène dans les couches de l'hippocampe (Tableau I). Dans l'aire CA1, les interneurones immunoréactifs pour la parvalbumine sont presque exclusivement situés dans les couches pyramidales et oriens et correspondent aux cellules à paniers et axo-axoniques. Par ailleurs, les interneurones exprimant la calbindine sont localisés majoritairement dans la portion distale de la couche radiatum (près de la couche lacunosum-moléculaire), mais se retrouvent également en plus petit nombre dans les couches oriens, pyramidale et lacunosum-moléculaire (Freund & Buzsaki, 1996). Contrairement aux autres protéines liant le  $Ca^{2+}$  et aux neuropeptides, par contre, la calbindine est exprimée dans les cellules granulaires du gyrus dentelé et les cellules pyramidales du CA1 (Baimbridge & Miller, 1982; Sloviter, 1989). Finalement,

il y a un grand nombre d'interneurones exprimant la calrétinine dans chaque couche de l'aire CA1. La plupart de ces cellules ne forment cependant aucun contact synaptique avec les cellules pyramidales mais innervent plutôt de façon spécifique d'autres interneurones (Acsady *et al.*, 1996a; Gulyas *et al.*, 1996).

De par leur nature, les protéines liant le  $\text{Ca}^{2+}$  permettent de tamponner une élévation intracellulaire de  $\text{Ca}^{2+}$  et ainsi en contrôler l'homéostasie (Chard *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 2000). Ce n'est que récemment que l'influence de ces molécules sur la libération de neurotransmetteur et la transmission synaptique a été caractérisée. Ainsi, il a été démontré que la transmission synaptique inhibitrice est réduite durant une stimulation double à court intervalle chez des souris transgéniques déficientes pour la calbindine (Caillard *et al.*, 2000; Blatow *et al.*, 2003; Vreugdenhil *et al.*, 2003). À l'opposé, une stimulation double à court intervalle et une stimulation répétée à plus de 20 Hz facilitent la transmission inhibitrice chez des souris transgéniques déficientes pour la parvalbumine (Caillard *et al.*, 2000; Vreugdenhil *et al.*, 2003). Ces résultats révèlent donc que les protéines liant le  $\text{Ca}^{2+}$  jouent un rôle important aux terminaisons GABAergiques en contrôlant l'élévation intracellulaire de  $\text{Ca}^{2+}$  et la libération de GABA.

#### *1.2.5 Interneurones avec innervation prédominante pour d'autres interneurones*

En plus des interneurones qui innervent de façon non sélective les cellules pyramidales et les interneurones, plusieurs classes d'interneurones contrôlant spécifiquement d'autres interneurones ont été identifiés dans l'aire CA1. Par exemple, les interneurones contenant la calrétinine possèdent une arborisation axonale surtout dans la couche radiatum et innervent abondamment les cellules à panier immunoréactives pour le PIV ainsi que d'autres interneurones exprimant la calrétinine ou la calbindine (Gulyas *et al.*, 1996). De plus, deux autres types d'interneurones exprimant le PIV contactent quant à eux les interneurones de la couche oriens immunopositifs pour la somatostatine, ou les interneurones de la couche radiatum immunopositifs pour le PIV et la calbindine (Acsady *et al.*, 1996b). Des études physiologiques et de modélisation suggèrent que cette interconnectivité entre les interneurones de l'hippocampe est importante pour la génération, la régulation et le

**TABEAU I : Propriétés des interneurons de la région CA1 de l'hippocampe**

Type de cellule	Soma	Dendrites	Axone	Cibles	Protéines liant le Ca <sup>2+</sup>	Neuropeptides
Axo-axonique	Pyr., ori., rad.	Alv., ori., pyr., rad., lm	Ori., pyr.	Axone	PV	CCK
Cellules à panier	Pyr., ori., rad.	Alv., ori., pyr., rad., lm	Ori., pyr.	Soma, dendrites proximaux	PV	CCK, PIV
Verticales	Ori.	Alv., ori., pyr., rad., lm	Ori., pyr., rad.	Soma, dendrites proximaux et distaux	-	NPY
Horizontale	Alv., ori.	Alv., ori.	lm	Dendrites distaux	-	SOM, NPY
Étoilé	Rad., lm	Pyr., rad., lm	Rad., lm	Dendrites distaux	CB	-
IS-1	-	Ori., rad., lm	Rad.	Soma, dendrites proximaux et distaux	CR	PIV
IS-2	-	lm	Pyr., rad.	Soma, dendrites proximaux et distaux	CR	PIV
IS-3	-	Alv., ori., pyr., rad., lm	Alv., ori.	Soma, dendrites proximaux et distaux	CR	PIV

Alv.: alveus, CB: calbindin, CCK: cholécystokinine, CR: calrétinine, lm: couche lacunosum-moléculaire, NPY: neuropeptide Y, ori.: couche oriens, PIV: polypeptide intestinal vasoactif, PV: parvalbumine, pyr.: couche pyramidale, rad.: couche radiatum, SOM: somatostatine. Adapté de Freund et Buzsaki, 1996.



maintien de l'activité rythmique dans les bandes de fréquence thêta (5 à 12 Hz), gamma (30 à 80 Hz) et plus élevées (200 Hz) (Buzsaki, 1997; Chapman & Lacaille, 1999a). Il semble cependant que ces différentes fréquences d'oscillations soient générées par des réseaux d'interneurones distincts (Pike *et al.*, 2000; Whittington & Traub, 2003).

Ainsi, en tenant compte des propriétés physiologiques et morphologiques, de l'identification des cibles postsynaptiques, du domaine postsynaptique où se forme les connexions synaptiques et de l'expression de neuropeptides et protéines liant le  $\text{Ca}^{2+}$ , on distingue une diversité phénoménale d'interneurones dans l'hippocampe. Il a même été proposé qu'à l'extrême, aucun interneurone ne serait identique (Parra *et al.*, 1998). Les propriétés de la transmission synaptique GABAergique générées par l'activation de ces différentes populations d'interneurones sont décrites en détail dans la section suivante.

### 1.3 Transmission synaptique dans l'hippocampe

Chez le rat adulte, une stimulation électrique dans la région CA1 génère sur les cellules pyramidales une réponse synaptique complexe comprenant une période excitatrice suivi d'une période inhibitrice. Une réponse multiphasique similaire a également été observée dans les interneurones (Schwartzkroin & Mathers, 1978; Knowles & Schwartzkroin, 1981; Ashwood *et al.*, 1984; Lacaille *et al.*, 1987). Les réponses synaptiques excitatrices résultent de l'activation de deux types de récepteurs ionotropes du glutamate: les récepteurs  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole proprionic acid (AMPA)/kainate perméables principalement aux ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  (bien que certains sous-types d'interneurones possèdent des récepteurs également perméables au  $\text{Ca}^{2+}$ ), et les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) perméables aux ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$  (Collingridge *et al.*, 1988). Le glutamate active également les récepteurs métabotropes du glutamate (mGluRs), qui se divisent en trois classes distinctes (groupe I, II, III). L'activation de ces récepteurs par une stimulation à haute fréquence inhibe la relâche de neurotransmetteur aux terminaisons axonales (principalement par les mGluRs de groupe II/III) et génère des potentiels postsynaptiques excitateurs lents (PPSEs) sur les neurones postsynaptiques (assuré par les mGluRs du groupe I) (Anwyl, 1999). Les mGluRs du groupe I sont également associés à l'inositol triphosphate (IP3) et à la

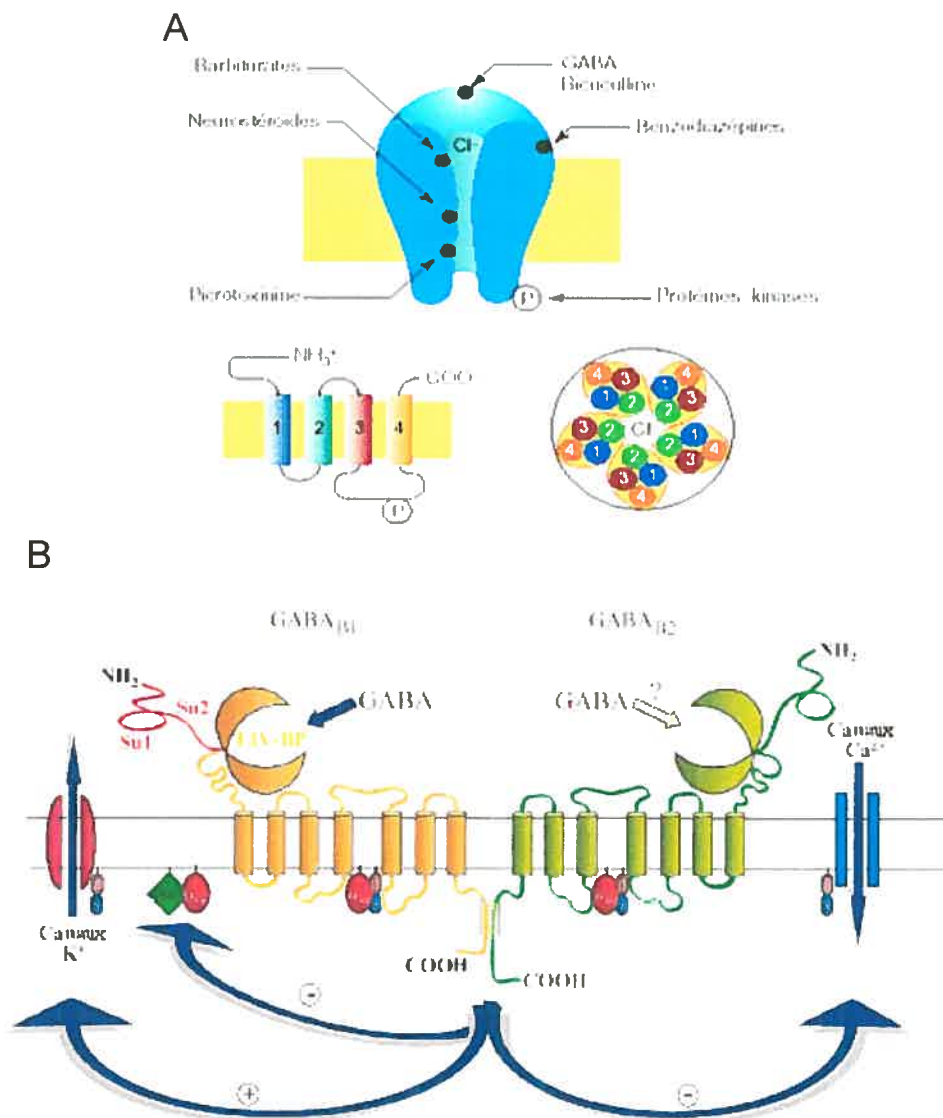
relâche de  $\text{Ca}^{2+}$  par les réserves intracellulaires (Murphy & Miller, 1988). Ces récepteurs jouent un rôle important dans la plasticité à long terme dans le système nerveux central (Anwyl, 1999). La réponse inhibitrice, quant à elle, résulte de la relâche de GABA par les fibres inhibitrices et se compose d'une phase rapide assurée par les récepteurs GABA de type A ( $\text{GABA}_A$ ) et d'une phase tardive engendrée par les récepteurs GABA de type B ( $\text{GABA}_B$ ) (Alger & Nicoll, 1979).

### ***1.3.1 Transmission inhibitrice assurée par les récepteurs $\text{GABA}_A$***

#### *1.3.1.1 Structure des récepteurs $\text{GABA}_A$*

Les récepteurs  $\text{GABA}_A$  font partie, avec les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine, les récepteurs glycinergiques, les récepteurs ionotropes du glutamate et les récepteurs 5-HT<sub>3</sub>, de la superfamille des récepteurs-canaux (Schofield *et al.*, 1987). L'une des particularités qui les distingue cependant des autres récepteurs ionotropes consiste dans le fait qu'ils présentent une très grande hétérogénéité moléculaire et fonctionnelle. En effet, les récepteurs  $\text{GABA}_A$  sont composés de cinq sous-unités (Nayeem *et al.*, 1994) et forment un canal ionique perméable aux ions chlore ( $\text{Cl}^-$ ) et bicarbonate (environ 5 fois plus perméable au  $\text{Cl}^-$ ) qui hyperpolarise généralement le potentiel membranaire et inhibe l'activité neuronale (Figure 3A). Jusqu'à présent, au moins 15 sous-unités distinctes ont été identifiées ( $\alpha$ 1-6,  $\beta$ 1-3,  $\gamma$ 1-3,  $\delta$ ,  $\theta$  et  $\pi$ ) pouvant s'assembler et former une panoplie de sous-types de récepteurs (Fritschy & Brunig, 2003). Chaque sous-unité partage une structure commune comprenant quatre domaines transmembranaires (TM), un grand domaine extracellulaire N-terminal et une boucle intracellulaire majeure entre les domaines TM3 et TM4 (Figure 3A) (Unwin, 1993). Bien que la combinaison des sous-unités et la stoechiométrie des récepteurs  $\text{GABA}_A$  dans le SNC n'aient pas encore été déterminées, les données recueillies à ce jour laissent entrevoir que la plupart des récepteurs  $\text{GABA}_A$  du cerveau sont composés des sous-unités  $\alpha\beta\gamma$  (Macdonald & Olsen, 1994; Rabow *et al.*, 1995) dans une proportion de 2 $\alpha$ , 2 $\beta$  et 1 $\gamma$  (Farrar *et al.*, 1999; Klausberger *et al.*, 2001). Les récepteurs  $\text{GABA}_A$  sont munis de plusieurs sites de liaison, faisant en sorte que leur activité peut être influencée par un grand nombre d'agents pharmacologiques. Par exemple, les récepteurs sont

complètement bloqués par des antagonistes compétitifs tels la bicuculline (Curtis *et al.*, 1970) et la gabazine (ou SR95531) (Wermuth *et al.*, 1987), de même que par des antagonistes non-compétitifs tels la picrotoxine (Curtis & Johnston, 1974). Ces récepteurs peuvent également être activés par l'application de plusieurs agonistes dont le muscimol, le 4,5,6,7-tetrahydroisoxazolo[5,4-c]pyridin-3-ol (THIP) et l'isoguvacine (Krogsgaard-Larsen *et al.*, 1975, 1977). Ces récepteurs possèdent enfin de multiples sites de modulation allostérique où peuvent agir une grande variété de composés, dont les plus connus sont le zinc, les barbituriques, les benzodiazépines, les neurostéroïdes, les  $\beta$ -carbolines, les insecticides, les anesthésiques généraux et volatiles et l'éthanol (Johnston, 1996).



**Figure 3: Structure des récepteurs GABA**

(A) Les récepteurs GABA<sub>A</sub> sont composés de 5 sous-unités (chacune comportant 4 domaines transmembranaires) et forment des récepteurs-canaux perméables aux ions Cl<sup>-</sup> pouvant être modulés par plusieurs agents pharmacologiques (adapté de Bormann, 2000). (B) Les récepteurs GABA<sub>B</sub> forment des hétérodimères couplés aux protéines G qui sont associés négativement aux canaux Ca<sup>2+</sup> présynaptiques et à l'adénylate cyclase, mais qui activent certains canaux K<sup>+</sup> postsynaptiques (adapté de Couve *et al.*, 2000).

### 1.3.1.2 Les propriétés pharmacologiques et électrophysiologiques des récepteurs GABA<sub>A</sub> dépendent de leur composition

Les effets des agents modulateurs varient selon la composition des récepteurs GABA<sub>A</sub>. Par exemple, les benzodiazépines, qui constituent une classe de composés dont la principale cible dans le SNC sont les récepteurs GABA<sub>A</sub> (Hevers & Luddens, 1998), produisent leurs effets anticonvulsivants, anxiolytiques, sédatifs et hypnotiques en facilitant la transmission inhibitrice assurée par les récepteurs GABA<sub>A</sub> (Choi *et al.*, 1977). Toutefois, pour que les benzodiazépines renforcent la transmission inhibitrice, les récepteurs GABA<sub>A</sub> doivent absolument contenir la sous-unité  $\gamma_2$  (Pritchett *et al.*, 1989) mais doivent être dépourvus des sous-unités  $\alpha_4$  et  $\alpha_6$  (Wisden *et al.*, 1991; Korpi & Luddens, 1993). De plus, l'efficacité de certains benzodiazépines à moduler l'activité des récepteurs GABA<sub>A</sub> varie selon la sous-unité  $\alpha$  présente. Ainsi, l'affinité du zolpidem pour les récepteurs est maximale lorsque la sous-unité  $\alpha_1$  est présente, mais décroît lorsque les récepteurs contiennent les sous-unités  $\alpha_2$  et  $\alpha_3$ , et est très faible si la sous-unité  $\alpha_5$  est présente ( $\alpha_1 > \alpha_2 = \alpha_3 \gg \alpha_5$ ) (Fritschy & Brunig, 2003). Le zinc, qui agit avec beaucoup plus d'efficacité sur les récepteurs n'ayant pas de sous-unité  $\gamma$  (Draguhn *et al.*, 1990), les neurostéroïdes, qui détiennent une puissance accrue sur les récepteurs ayant la sous-unité  $\delta$  (Mihalek *et al.*, 1999; Wohlfarth *et al.*, 2002), et la furosemide qui réduit les courants inhibiteurs seulement si les récepteurs sont constitués des combinaisons  $\alpha_6\beta_{2/3}$  et  $\alpha_4\beta_2\gamma_2$  (Knoflach *et al.*, 1996; Korpi & Luddens, 1997), comptent parmi d'autres agents qui modulent l'activité des récepteurs GABA<sub>A</sub> dépendamment de leur composition.

En plus de se différencier par leur propriétés pharmacologiques, les différents sous-types de récepteurs peuvent aussi générer des courants qui présentent des cinétiques différentes. Par exemple, le fait que les courants inhibiteurs générés par récepteurs composés de la sous-unité  $\alpha_1$  ont une désactivation/désensibilisation plus rapide que ceux engendrés par les récepteurs possédant la sous-unité  $\alpha_2$  (Brussaard *et al.*, 1997; Vicini *et al.*, 2001) démontre que la sous-unité  $\alpha$  joue un rôle déterminant pour la cinétique des courants postsynaptiques inhibiteurs (CPSIs) (Verdoorn *et al.*, 1990). De plus, la présence de la sous-unité  $\delta$  semble aussi influencer les propriétés d'activation

des récepteurs puisque les CPSIs ne manifestent aucune désensibilisation lorsque cette sous-unité est présente (Burgard *et al.*, 1996; Fisher & Macdonald, 1997).

### 1.3.1.3 Modulation des récepteurs GABA<sub>A</sub> par les protéines kinases

En plus d'être sous l'influence d'une modulation allostérique par des agents pharmacologiques, l'activité des récepteurs GABA<sub>A</sub> peut également être assujettie à une régulation dynamique par plusieurs protéines kinases. Les sites de phosphorylation sont généralement localisés sur la boucle intracellulaire entre les domaines TM3 et TM4 des sous-unités  $\beta_{1-3}$  et  $\gamma_2$  (Kittler & Moss, 2003), où les résidus sérine/thréonine sont phosphorylés par les protéines kinase A, C, G (PKA/PKC/PKG) et la protéine kinase Ca<sup>2+</sup>/calmoduline II (CaMKII). Les résidus tyrosine sont quant à eux phosphorylés par les protéines tyrosine kinase (Brandon *et al.*, 2001). Il a été démontré que la stimulation de ces protéines par l'application exogène d'activateurs ou par la stimulation de récepteurs couplés aux protéines G peut affecter directement l'activité des récepteurs GABA<sub>A</sub> (Smart, 1997; Brandon *et al.*, 2002b). Tout comme pour les agents pharmacologiques, les effets de la phosphorylation sur les fonctions des récepteurs GABA<sub>A</sub> peuvent varier selon la composition des sous-unités du récepteur. Par exemple, l'influence de la PKA sur l'activité des récepteurs GABA<sub>A</sub> dépend grandement de l'identité de la sous-unité  $\beta$  présente puisque dans des systèmes hétérologues, les courants générés par les récepteurs contenant la sous-unité  $\beta_1$  sont inhibés par la PKA tandis que les courants sont augmentés lorsque les récepteurs comprennent la sous-unité  $\beta_3$  et ne sont pas affectés sur les récepteurs qui expriment la sous-unité  $\beta_2$  (McDonald *et al.*, 1998).

La modulation des récepteurs GABA<sub>A</sub> par les protéines kinase a aussi été examinée sur différentes populations neuronales du cerveau. Cependant, les effets observés se sont souvent révélés contradictoires. Ainsi, l'activation de la PKA réduit les courants postsynaptiques miniatures (CPSIm) sur les cellules pyramidales du CA1, n'affecte pas ceux des cellules granulaires du gyrus dentelé et facilite ceux des cellules granulaires du bulbe olfactif (Nusser *et al.*, 1999; Poisbeau *et al.*, 1999). De façon similaire, l'activation de la PKC ne modifie pas les CPSIm sur les cellules pyramidales, accroît

ceux des cellules granulaires mais réduit les courants inhibiteurs sur les neurones du cortex (Poisbeau *et al.*, 1999; Brandon *et al.*, 2000). Cette modulation spécifique à chaque population de cellule pourrait refléter la présence de récepteurs GABA<sub>A</sub> munis de sous-unités  $\beta$  distinctes.

En plus d'altérer la fonction des récepteurs GABA<sub>A</sub>, les protéines kinase peuvent également modifier leur niveau d'expression à la surface cellulaire. En effet, il a été démontré que l'activation de la PKC accélère le taux d'internalisation et produit une diminution du nombre de récepteurs membranaires (Connolly *et al.*, 1999; Brandon *et al.*, 2000; Filippova *et al.*, 2000; Kumar *et al.*, 2002). La stimulation des récepteurs à activité tyrosine kinase par différents ligands peut aussi diminuer ou augmenter l'expression des récepteurs à la surface cellulaire (Wan *et al.*, 1997; Brunig *et al.*, 2001). Ainsi, plusieurs mécanismes distincts peuvent être utilisés par les protéines kinases pour contrôler la fonction des récepteurs GABA<sub>A</sub>.

#### *1.3.1.4 Protéines associées aux récepteurs GABA<sub>A</sub>*

Il a été observé à l'aide la technique d'immunoprécipitation que plusieurs protéines peuvent interagir directement ou indirectement avec les récepteurs GABA<sub>A</sub> (Tableau 1). Différents rôles ont été attribués à ces protéines, dont la circulation intracellulaire des récepteurs, le ciblage des récepteurs à la membrane plasmique, la formation de synapses inhibitrices et le rassemblement adéquat des récepteurs à ces synapses (Fritschy & Brunig, 2003; Kittler & Moss, 2003).

TABLEAU II: Rôles des protéines associées aux récepteurs GABA<sub>A</sub>

Protéines	Sous-unités d'interaction	Fonctions possibles
gephyrine	$\gamma_2, \gamma_3$	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ancrage des récepteurs GABA<sub>A</sub> aux sites postsynaptiques</li> <li>- Interaction avec les protéines du cytosquelette</li> <li>- Régulation de la synthèse protéique</li> </ul>
Protéine associée aux récepteurs GABA <sub>A</sub> (GABARAP)	$\gamma_2$	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Circulation intracellulaire des récepteurs GABA<sub>A</sub></li> <li>- Ciblage membranaire</li> <li>- Dégradation des récepteurs</li> </ul>
Dystrophine	?	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Stabilisation du regroupement des récepteurs GABA<sub>A</sub> aux sites synaptiques</li> </ul>
AP2	$\beta_1, \beta_3, \gamma_2$	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Régulation de l'endocytose</li> </ul>
Plic-1	$\alpha$ et $\beta$	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Régulation de l'expression des récepteurs GABA<sub>A</sub> à la surface cellulaire</li> </ul>

Il a été démontré chez des souris déficientes pour la gephyrine et la dystrophine, de même que suite à la perturbation chimique de l'interaction entre GABARAP et la sous-unité  $\gamma_2$ , que la grosseur et le nombre d'aggrégats de récepteurs GABA<sub>A</sub> étaient réduits sur l'élément postsynaptique (Kneussel *et al.*, 1999; Kittler *et al.*, 2001), mais qu'à l'opposé, la surexpression de GABARAP produisait une augmentation du nombre d'aggrégats (Chen *et al.*, 2000). Donc, une altération des interactions entre ces protéines et les récepteurs eux-mêmes affecte grandement la quantité de récepteurs GABA<sub>A</sub> présents à la surface cellulaire et pourrait constituer un mode de régulation de la transmission inhibitrice.

### 1.3.1.5 Récepteurs GABA<sub>A</sub> dans l'hippocampe

La présence dans l'hippocampe de la plupart des sous-unités des récepteurs GABA<sub>A</sub> ( $\alpha_{1-5}, \beta_{1-3}, \gamma_{1-3}, \delta$ ) indique que la composition de ces récepteurs est également très hétérogène dans cette région (Fritschy & Mohler, 1995; Sperk *et al.*, 1997). Il semble



cependant que certains sous-types de récepteurs soient exprimés préférentiellement sur certaines populations de neurones puisque les cellules pyramidales expriment un niveau élevé de sous-unités  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_5$ ,  $\beta_{1-3}$  et  $\gamma_2$  tandis que les sous-unités  $\alpha_4$  et  $\delta$  sont plus abondantes sur les cellules granulaires du gyrus dentelé. De plus, certains sous-types de récepteurs sont ciblés spécifiquement sur différents domaines d'une même population neuronale. Par exemple, les récepteurs dotés de la sous-unité  $\alpha_1$  sont situés principalement aux synapses inhibitrices formées sur le soma et les dendrites des cellules pyramidales du CA1 tandis que les récepteurs comprenant la sous-unité  $\alpha_2$  sont détectés en abondance aux synapses qui ciblent le segment initial de l'axone mais sont rarement présents aux synapses somato-dendritiques (Nusser *et al.*, 1996).

Une telle ségrégation des sous-types de récepteurs peut avoir des répercussions fonctionnelles sur l'inhibition des cellules pyramidales. En effet, il a été rapporté que des CPSIs rapides sensibles au diurétique furosemide étaient générés près du soma des cellules pyramidales du CA1 tandis que des CPSIs lents insensibles à la furosemide étaient engendrés aux synapses inhibitrices dendritiques et que cette distinction était attribuable à la présence de différents sous-types de récepteurs GABA<sub>A</sub> aux synapses périsonmatiques et aux synapses dendritiques (Pearce, 1993; Banks *et al.*, 1998). Une ségrégation similaire semble également exister entre les récepteurs synaptiques, responsables de l'inhibition phasique, et les récepteurs extrasynaptiques assurant l'inhibition tonique puisque les propriétés de ces récepteurs s'avèrent être très différents. En effet, il a été mis en évidence que contrairement aux récepteurs synaptiques, les récepteurs extrasynaptiques sont sensibles au benzodiazépine midazolam mais insensibles au zolpidem, sont bloqués par une haute concentration de gabazine, possèdent une affinité élevée pour le GABA et ne désensibilisent pas (Bai *et al.*, 2001; Nusser & Mody, 2002; Stell & Mody, 2002; Yeung *et al.*, 2003). Bien que leur composition demeure pour l'instant encore peu connue, il a été proposé que l'inhibition tonique résulterait de l'activation de récepteurs GABA<sub>A</sub> contenant les sous-unités  $\alpha_4$ ,  $\alpha_5$  et  $\delta$  (Nusser *et al.*, 1998a; Mody, 2001; Nusser & Mody, 2002) alors que l'inhibition phasique, quant à elle, serait principalement assurée par les récepteurs synaptiques enrichis en sous-unités  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  et  $\gamma$  (Somogyi *et al.*, 1996; Essrich *et al.*, 1998).

### 1.3.1.6 Les récepteurs GABA<sub>A</sub> peuvent dépolariser les neurones

Bien que la transmission synaptique via les récepteurs GABA<sub>A</sub> est généralement responsable de l'inhibition rapide dans l'hippocampe, il arrive parfois que les réponses GABAergiques produisent une excitation (Alger & Nicoll, 1979; Andersen *et al.*, 1980). On sait par exemple chez le rat qu'au cours du développement, l'application de GABA exogène produit une dépolarisation des cellules pyramidales immatures, et que cette dépolarisation se transforme en une hyperpolarisation après la première semaine post-natale (Ben-Ari *et al.*, 1989). Chez l'animal adulte, l'activation intense des récepteurs GABA<sub>A</sub> situés sur les dendrites des cellules pyramidales résulte également en une dépolarisation. Cet effet excitateur du GABA est attribuable à une accumulation intracellulaire de Cl<sup>-</sup> qui déplace le potentiel d'inversion (E<sub>Cl</sub>) à une valeur plus dépolarisée que le potentiel membranaire de repos. Les raisons pouvant expliquer un tel E<sub>Cl</sub> dépolarisé varient selon les circonstances. Chez les neurones immatures, l'action excitatrice du GABA est causée par la faible expression du co-transporteur K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> 2 (KCC2), dont le rôle est de réduire la concentration intracellulaire du Cl<sup>-</sup> en transportant les ions à l'extérieur des cellules (Rivera *et al.*, 1999). Chez les neurones matures, on croit que l'accumulation intracellulaire de Cl<sup>-</sup> suite à l'activation massive des récepteurs GABA<sub>A</sub> dendritiques change le gradient et favorise alors la génération d'un courant excitateur porté par le bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (Grover *et al.*, 1993; Staley *et al.*, 1995). Ainsi, tout dépendant du stade développemental, du niveau d'activité et du domaine postsynaptique ciblé (dendrites vs soma), la transmission synaptique assurée par les récepteurs GABA<sub>A</sub> peut dans certaines circonstances favoriser l'excitabilité des réseaux neuronaux.

## 1.3.2 Transmission inhibitrice assurée par les récepteurs GABA<sub>B</sub>

### 1.3.2.1 Structure des récepteurs GABA<sub>B</sub>

Les récepteurs GABA<sub>B</sub> font partie, avec les récepteurs métabotropes du glutamate (mGluRs) et les récepteurs sensibles au Ca<sup>2+</sup>, de la famille des récepteurs couplés aux protéines G de classe C (Kaupmann *et al.*, 1997). Au niveau moléculaire, les récepteurs GABA<sub>B</sub> sont composés d'une sous-unité GABA<sub>B1</sub> et d'une sous-unité GABA<sub>B2</sub> (Figure 3). Chaque sous-unité est constituée de sept domaines transmembranaires, un large

domaine amino-terminal extracellulaire et un domaine carboxy-terminal intracellulaire qui contient un segment «coil-coil» important pour l'interaction et la dimérisation des sous-unités GABA<sub>B1</sub> et GABA<sub>B2</sub> (White *et al.*, 1998; Kuner *et al.*, 1999) et pour l'expression des récepteurs GABA<sub>B</sub> à la surface cellulaire (Calver *et al.*, 2001; Pagano *et al.*, 2001) (Figure 3B). L'existence de récepteurs GABA<sub>B</sub> sous forme d'hétérodimères est supportée par le fait que les sous-unités GABA<sub>B1</sub> et GABA<sub>B2</sub> co-immunoprécipitent suite à une co-expression sur des cellules en culture (Jones *et al.*, 1998) ou après une extraction de membranes de cerveaux de rats (Kaupmann *et al.*, 1998; Benke *et al.*, 1999). De plus, l'expression des sous-unités GABA<sub>B1</sub> ou GABA<sub>B2</sub> seules sont incapables de reproduire les propriétés fonctionnelles et pharmacologiques des récepteurs GABA<sub>B</sub> natifs (Jones *et al.*, 1998; White *et al.*, 1998; Kuner *et al.*, 1999). En effet, les récepteurs formés uniquement de la sous-unité GABA<sub>B2</sub> sont incapables d'un couplage fonctionnel avec les canaux K<sup>+</sup> (Jones *et al.*, 1998; Kaupmann *et al.*, 1998) ou de stimuler la liaison du GTP (White *et al.*, 1998) puisque seule la sous-unité GABA<sub>B1</sub> peut lier le GABA sur son domaine N-terminal (Galvez *et al.*, 1999; Malitschek *et al.*, 1999). De façon similaire, l'affinité des homomères GABA<sub>B1</sub> pour les agonistes des récepteurs GABA<sub>B</sub> est d'environ 100 fois inférieure à celle des récepteurs GABA<sub>B</sub> natifs (Kaupmann *et al.*, 1997). Puisque la sous-unité GABA<sub>B2</sub> est essentielle pour le transport de GABA<sub>B1</sub> vers la membrane plasmique (White *et al.*, 1998), cette faible affinité des homomères GABA<sub>B1</sub> s'expliquerait par la rétention de cette sous-unité dans le réticulum endoplasmique (Couve *et al.*, 1998). Le fait que les deux sous-unités identifiées jusqu'à présent (GABA<sub>B1</sub> et GABA<sub>B2</sub>) doivent se lier entre elles pour former des récepteurs fonctionnels indique que la structure des récepteurs GABA<sub>B</sub> est plutôt homogène. Cependant, la génération par épissage alternatif de sept isoformes de la sous-unité GABA<sub>B1</sub> (GABA<sub>B1a</sub> à GABA<sub>B1g</sub>) laisse entrevoir la possibilité d'une certaine hétérogénéité (Billinton *et al.*, 2001; Bettler *et al.*, 2004).

### 1.3.2.2 Voies de signalisation et effecteurs activés par les récepteurs GABA<sub>B</sub>

La liaison du GABA déclenche un changement conformationnel des récepteurs GABA<sub>B</sub>, stimule les protéines G<sub>αi</sub>/G<sub>αo</sub> (Morishita *et al.*, 1990) et active différents effecteurs. Par exemple, l'activation des récepteurs GABA<sub>B</sub> présynaptiques supprime la

relâche de neurotransmetteur en inhibant les canaux  $\text{Ca}^{2+}$  dépendant du voltage (Newberry & Nicoll, 1985; Scholz & Miller, 1991; Wu & Saggau, 1995). Par contre, l'activation des récepteurs  $\text{GABA}_B$  postsynaptiques provoque l'ouverture de canaux  $\text{K}^+$  à rectification entrante (GIRK) (Gahwiler & Brown, 1985; Luscher *et al.*, 1997) et génère un potentiel postsynaptique inhibiteur lent (PPSI). L'activation des récepteurs  $\text{GABA}_B$  conduit aussi généralement à l'inhibition de l'adénylate cyclase et à la réduction du niveau d'AMP cyclique (AMPC) (Hill, 1985; Malcangio & Bowery, 1993), bien qu'une augmentation du niveau d'AMPC ait également été observée (Cunningham & Enna, 1996). En modulant le niveau d'AMPC, les récepteurs  $\text{GABA}_B$  affectent l'activité de la PKA et peuvent en conséquence modifier l'état de phosphorylation et l'activité de protéines telles que les récepteurs purinergiques  $\text{P}_{2X}$  et les canaux  $\text{K}^+$  dépendant du  $\text{Ca}^{2+}$  (Gerber & Gahwiler, 1994; Gomez-Villafuertes *et al.*, 2003). En contrepartie, l'activité des récepteurs  $\text{GABA}_B$  peut elle aussi être influencée par les protéines kinases puisque plusieurs sites de phosphorylation pour la PKA et la PKC ont été identifiés sur le domaine C-terminal des sous-unités  $\text{GABA}_{B1}$  et  $\text{GABA}_{B2}$  (Couve *et al.*, 2000, 2002). Il a d'ailleurs été observé que l'inhibition de la relâche de noradrénaline et d'acétylcholine de même que l'augmentation de la conductance  $\text{K}^+$  par les récepteurs  $\text{GABA}_B$  étaient réduites lorsque les PKC étaient activées (Dutar & Nicoll, 1988; Taniyama *et al.*, 1992). Il a également été remarqué que la désensibilisation des récepteurs  $\text{GABA}_B$  pouvait être augmentée ou réduite suite à une phosphorylation directe par la PKA (Yoshimura *et al.*, 1995; Couve *et al.*, 2002).

Tout comme il a été mentionné pour les récepteurs  $\text{GABA}_A$ , un certain nombre de protéines peuvent aussi s'associer aux récepteurs  $\text{GABA}_B$ . Notamment, la découverte récente d'une interaction avec certains membres de la famille de protéines ATF/CREB a suscité un grand intérêt puisque ces études démontraient pour la première fois un lien entre les récepteurs  $\text{GABA}_B$  et des facteurs de transcription (Nehring *et al.*, 2000; White *et al.*, 2000; Vernon *et al.*, 2001). Ceci pourrait constituer un nouveau mode de signalisation vers le noyau en déclenchant la synthèse protéique et en modulant à long terme le métabolisme des neurones. Il a également été observé que les protéines d'échafaudage tamaline, le facteur sensible au N-ethylmaleimide (NSF), MUPP1 et  $\beta$ -filamine (Bettler *et al.*, 2004) peuvent s'associer aux domaines intracellulaires des

récepteurs GABA<sub>B</sub> et influencer le transport, la signalisation et l'expression cellulaire des récepteurs. Ainsi, considérant que les récepteurs GABA<sub>B</sub> interagissent avec plusieurs effecteurs, ceux-ci pourraient, une fois activés, produire des effets variés sur l'activité neuronale.

### 1.3.2.3 Récepteurs GABA<sub>B</sub> dans l'hippocampe

Les sous-unités GABA<sub>B1</sub> et GABA<sub>B2</sub> sont exprimées en abondance dans l'hippocampe et présentent une distribution similaire (Margeta-Mitrovic *et al.*, 1999; Calver *et al.*, 2000) qui suggère la formation d'hétérodimères GABA<sub>B1</sub>-GABA<sub>B2</sub> (Charles *et al.*, 2001; Kulik *et al.*, 2003). Au niveau cellulaire, les sous-unités GABA<sub>B1</sub> et GABA<sub>B2</sub> se retrouvent surtout en périphérie des synapses glutamatergiques et GABAergiques (Kulik *et al.*, 2003) des cellules pyramidales et des interneurons du CA1. Une telle localisation extrasynaptique des récepteurs sur les éléments pré- et postsynaptiques indique qu'une diffusion de GABA hors des synapses est nécessaire pour activer les récepteurs GABA<sub>B</sub> (Scanziani, 2000) et qu'ils peuvent moduler simultanément la transmission glutamatergique et GABAergique. Cependant, l'absence de sous-unité GABA<sub>B2</sub> sur les corps cellulaires suggère que les récepteurs fonctionnels sont peu nombreux au soma des cellules pyramidales et des interneurons. Cette observation supporte d'ailleurs les études électrophysiologiques ayant démontré que les PPSIs lents assurés par les récepteurs GABA<sub>B</sub> sont générés par une stimulation dans les couches radiatum et lacunosum-moleculare, qui active principalement les interneurons ciblant les dendrites des cellules pyramidales du CA1 (Newberry & Nicoll, 1984; Solis & Nicoll, 1992; Williams & Lacaille, 1992).

Il existe plusieurs différences fonctionnelles entre les récepteurs GABA<sub>B</sub> pré- et postsynaptiques de l'hippocampe. Comme il a été mentionné précédemment, les récepteurs présynaptiques inhibent les canaux Ca<sup>2+</sup> dépendant du voltage alors que les récepteurs postsynaptiques activent les canaux GIRKs (Gahwiler & Brown, 1985; Newberry & Nicoll, 1985). Il a également été observé que les récepteurs GABA<sub>B</sub> postsynaptiques se désensibilisent beaucoup plus rapidement que les récepteurs présynaptiques lorsque l'agoniste baclofen est appliqué pour une période prolongée (Wetherington & Lambert, 2002). De plus, l'affinité des récepteurs postsynaptiques

pour six antagonistes est inférieure à celle des récepteurs présynaptiques des synapses GABA (Pozza *et al.*, 1999). Finalement, seuls les récepteurs postsynaptiques sont modulés par la toxine de *Pertussis* (Dutar & Nicoll, 1988) et la gabapentine (Bertrand *et al.*, 2001, 2003; Ng *et al.*, 2001), bien que ces derniers résultats demeurent pour l'instant controversés (Lanneau *et al.*, 2001; Jensen *et al.*, 2002). La cause de ces différences entre les récepteurs pré- et postsynaptiques n'a pas encore été identifiée, mais pourrait dépendre de la présence de différents isoformes des récepteurs GABA<sub>B</sub> sur les terminaisons axonales et les éléments postsynaptiques puisqu'il a été rapporté que la sous-unité GABA<sub>B1a</sub> est surtout exprimée sur les membranes postsynaptiques alors que GABA<sub>B1b</sub> est principalement localisée en présynaptique (Benke *et al.*, 1999; Fritschy *et al.*, 1999). D'autres facteurs pourraient aussi contribuer à la discrimination fonctionnelle et pharmacologique des récepteurs pré- et postsynaptiques, incluant des différences au niveau du couplage des récepteurs avec les protéines G, de l'accès aux sites pré- et postsynaptiques ou des réserves intracellulaires des récepteurs (Couve *et al.*, 2000).

#### **1.4 Plasticité synaptique des réseaux neuronaux**

Il est maintenant bien établi que des changements durables de la transmission synaptique sont nécessaires pour le traitement adéquat de l'information et la formation de la mémoire (Lynch, 2004). Deux formes de plasticité synaptique qui ont d'ailleurs reçu beaucoup d'attention au cours des dernières décennies sont la potentialisation à long-terme (PLT) et la dépression à long-terme (DLT). La PLT a d'abord été observée aux synapses excitatrices des cellules granulaires du gyrus dentelé suite à une brève stimulation à haute fréquence de la voie perforante (Bliss & Gardner-Medwin, 1973; Bliss & Lomo, 1973), mais a depuis été décrite à chacune des autres voies excitatrices de l'hippocampe (Schwartzkroin & Wester, 1975; Yamamoto & Chujo, 1978; Misgeld *et al.*, 1979) de même que dans plusieurs autres régions du cerveau (Malenka & Nicoll, 1993). Parce qu'elle satisfait aux trois critères susceptibles d'être important pour le stockage de l'information (spécificité, associativité et durabilité) (Bi & Poo, 2001) et qu'elle est induite dans les régions importantes pour l'apprentissage, la PLT est actuellement le principal modèle expérimental utilisé pour étudier les mécanismes

neurobiologiques de l'apprentissage et de la mémoire (Bliss & Collingridge, 1993). Plusieurs études ont été menées afin de mieux comprendre les mécanismes cellulaires impliqués au cours des différentes formes de PLT (Lynch, 2004). Dans la prochaine section, je m'attarderai principalement à la PLT exprimée aux synapses excitatrices formées par les collatérales de Schaffer et les dendrites apicales des cellules pyramidales du CA1.

#### ***1.4.1 Mécanismes de la PLT des cellules pyramidales du CA1***

Il est maintenant bien établi qu'une élévation postsynaptique de  $\text{Ca}^{2+}$  est l'étape déterminante pour l'induction de la PLT et de la DLT (Mulkey & Malenka, 1992) (Lynch *et al.*, 1983). Dans les cellules pyramidales du CA1, cet influx calcique est généré par l'activation des récepteurs NMDA (Collingridge *et al.*, 1983), qui requiert non seulement la liaison du glutamate aux récepteurs, mais également une dépolarisation postsynaptique qui élimine le blocage par les ions  $\text{Mg}^{2+}$  (Ascher & Nowak, 1988). La PLT ou la DLT sont alors induites, selon la nature de l'élévation calcique. Une stimulation à haute fréquence, une stimulation en bouffée thêta, ou une stimulation paillée combinant une faible stimulation présynaptique et une dépolarisation postsynaptique, génèrent une grande augmentation intracellulaire de  $\text{Ca}^{2+}$  et déclenchent la PLT. À l'opposé, une stimulation à basse fréquence (1 Hz) engendre une faible élévation de  $\text{Ca}^{2+}$  et produit la DLT (Lisman, 1989). Plusieurs indications suggèrent que la protéine kinase dépendante du complexe  $\text{Ca}^{2+}$ /calmoduline II (CaMKII) est activée lorsqu'une élévation massive de  $\text{Ca}^{2+}$  survient (Fukunaga *et al.*, 1993) puisque la suppression pharmacologique ou génétique de la CaMKII bloque la PLT (Malenka *et al.*, 1989; Silva *et al.*, 1992). À l'opposé, l'introduction d'une forme constitutivement active de la CaMKII dans les cellules pyramidales du CA1 entraîne la PLT (Pettit *et al.*, 1994; Lledo *et al.*, 1995), démontrant ainsi que son activation est suffisante pour induire la PLT. Il a de plus été proposé que d'autres voies de signalisation pourraient aussi être impliquées au cours de la PLT; notamment les PKCs joueraient un rôle similaire à la CaMKII puisque des inhibiteurs de PKC bloquent la PLT et qu'une activité accrue des PKCs entraîne aussi une augmentation de la transmission synaptique (Hu *et al.*, 1987; Linden & Routtenberg, 1989). La PKA, quant à elle, amplifierait indirectement

l'activité de la CaMKII en réduisant l'activité des protéines phosphatases (Blitzer *et al.*, 1998; Makhinson *et al.*, 1999).

S'il y a consensus sur l'induction postsynaptique de la PLT, il en est tout autrement pour son site d'expression. Il y a eu en effet un débat intense à savoir si la PLT dépend de changements présynaptiques de la relâche du glutamate ou résulte plutôt de modifications postsynaptiques menant à une activité accrue des récepteurs postsynaptiques AMPA. Bien que cette question ne soit pas encore entièrement résolue, il est maintenant généralement admis que la régulation à la hausse de l'activité des récepteurs AMPA contribue de façon importante à l'expression de la PLT (dans la région CA1). En effet, l'amplitude des courants postsynaptiques excitateurs miniatures (CPSEm) assurés par les récepteurs AMPA et la réponse des récepteurs AMPA à l'application exogène d'agonistes sont augmentées durant la PLT (Davies *et al.*, 1989; Manabe *et al.*, 1992). Cette plus grande efficacité des récepteurs AMPA a été attribuée à une conductance accrue des récepteurs (Derkach *et al.*, 1999) due à la phosphorylation de la sous-unité GluR1 par CaMKII (Isaac *et al.*, 1995; Liao *et al.*, 1995) et à l'insertion de récepteurs AMPA à la membrane plasmique (Shi *et al.*, 1999).

Cette augmentation soutenue de la transmission synaptique complètement indépendante de la synthèse protéique est souvent considérée comme étant la phase précoce de la PLT (e-PLT). Toutefois, il existe aussi dans la région CA1 une phase tardive de la PLT (l-PLT) qui dure plusieurs heures après l'induction et qui, contrairement à la e-PLT, est bloquée par des inhibiteurs de la synthèse protéique (Stanton & Sarvey, 1984). La  $\alpha$ -CaMKII et les récepteurs AMPA sont d'ailleurs parmi les protéines qui sont synthétisées dans les dendrites des neurones de la région CA1 durant la l-PLT (Nayak *et al.*, 1998; Ouyang *et al.*, 1999). Il a été proposé que cette synthèse protéique contribuerait aux divers changements morphologiques observés au cours de la l-PLT, dont l'augmentation du nombre et de l'aire des épines dendritiques et l'augmentation de la surface postsynaptique (Lee *et al.*, 1980; Chang & Greenough, 1984).

Finalement, il est intéressant de noter que la DLT, qui est déclenchée suite à une élévation calcique plus modeste, semble découler de l'inversion des processus d'induction et d'expression de la PLT. En effet, la diminution des CPSEm et de la



réponse au glutamate observée durant la DLT (Kandler *et al.*, 1998; Carroll *et al.*, 1999) ont été attribuées à la déphosphorylation des récepteurs AMPA par les protéines phosphatases 1, 2A et calcineurine (Mulkey *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1998; Soderling & Derkach, 2000) et à la diminution du nombre de récepteurs à la surface cellulaire (Carroll *et al.*, 1999). Donc, il apparaît que l'activité des récepteurs AMPA est régulée par leur état de phosphorylation et que le débalancement de l'équilibre entre l'activité des protéines kinases et phosphatases conduit à une potentialisation ou une dépression de la transmission synaptique dans l'hippocampe. Il existe également d'autres formes de DLT dans l'hippocampe qui utilisent des mécanismes cellulaires indépendants des récepteurs NMDA et AMPA mais dépendants des récepteurs mGluRs (Bortolotto *et al.*, 1999).

#### ***1.4.2 Corrélations entre la PLT et l'apprentissage et la mémoire***

Plusieurs indices suggèrent que la PLT et les processus de la mémoire sont intimement liés. Entre autres, il a été remarqué que la PLT est générée très efficacement lorsque l'on applique sur des tranches d'hippocampe une stimulation en bouffée thêta qui mime l'activité endogène rythmique observée chez le rat lorsque ceux-ci explorent un nouvel environnement (Larson *et al.*, 1986; Rose & Dunwiddie, 1986). De plus, les PPSEs de champ sont augmentés transitoirement dans le gyrus dentelé lorsque les rats explorent un nouvel environnement (Moser *et al.*, 1994). Les résultats les plus convaincants établissant un lien entre la PLT et la mémorisation proviennent toutefois d'études ayant comparé les mécanismes cellulaires de l'apprentissage à ceux impliqués dans la PLT. En effet, il a été démontré qu'à l'instar de la PLT, la liaison du glutamate et la densité des récepteurs AMPA sont augmentées au cours de certaines tâches d'apprentissage (Tocco *et al.*, 1991; Cammarota *et al.*, 1995) et qu'une plus grande efficacité de la transmission synaptique assurée par les récepteurs AMPA améliore aussi la mémorisation (Staubli *et al.*, 1994; Granger *et al.*, 1996), tandis qu'à l'opposé, le blocage des récepteurs AMPA produit une amnésie rétrograde (Jerusalinsky *et al.*, 1992). De même, il a été rapporté que la perturbation des récepteurs NMDA par des agents pharmacologiques ou par des outils moléculaires inhibe la PLT et réduit du même coup la performance des animaux lors de tâches d'apprentissage spatial (Morris *et al.*,

1986; Sakimura *et al.*, 1995; Tsien *et al.*, 1996). La CaMKII semble également jouer un rôle important au cours de la mémorisation puisque son activité est augmentée dans l'hippocampe suite à l'entraînement à une tâche d'apprentissage spatial et que l'injection intra-hippocampique d'un inhibiteur de la CaMKII retarde l'acquisition de cette tâche (Tan & Liang, 1996). De plus, des souris exprimant une forme mutée de la CaMKII incapable de s'auto-phosphoryler ne montraient aucune PLT dans la région CA1 de l'hippocampe et étaient inaptes à acquérir une tâche d'apprentissage spatial (Giese *et al.*, 1998). Finalement, tout comme il a été rapporté pour la l-PLT, l'injection d'un inhibiteur de la synthèse protéique dans la région CA1 de l'hippocampe produit un déficit de l'apprentissage spatial (Naghdi *et al.*, 2003). Ces études fournissent donc de nombreux indices qui renforcent l'hypothèse selon laquelle la plasticité synaptique, et particulièrement la PLT, joue un rôle important pour la formation de la mémoire, à tout le moins dans le cas de la mémoire de type spatiale.

#### ***1.4.3 Plasticité synaptique dans les circuits inhibiteurs de l'hippocampe***

Dans l'hippocampe, l'efficacité d'un stimulus à induire la PLT est fortement influencée par le niveau d'inhibition. Par exemple, il a été démontré qu'une réduction de la transmission synaptique inhibitrice assurée par les récepteurs GABA<sub>A</sub> facilite l'induction de la PLT (Wigstrom & Gustafsson, 1985), tandis que l'inhibition des récepteurs GABA<sub>B</sub> présynaptiques supprime la PLT (Mott & Lewis, 1991). Stelzer *et al.* (1994) ont de plus rapporté que la désinhibition des cellules pyramidales pouvait contribuer à la PLT. Puisque les interneurons reçoivent des afférences excitatrices pro- et rétroactives et projettent sur les cellules pyramidales de même que sur d'autres interneurons, il est probable qu'une stimulation électrique dans la région CA1 modifie non seulement la transmission synaptique excitatrice sur les cellules pyramidales, mais entraîne également des changements au sein des circuits inhibiteurs de l'hippocampe.

D'ailleurs, l'activité neuronale engendre plusieurs changements à court terme de la transmission inhibitrice. Par exemple, une stimulation double à court intervalle (25 à 2000 ms) produit généralement une dépression de la deuxième réponse par rapport à la première sur les cellules pyramidales (Jensen *et al.*, 1999b). De plus, il a été démontré que les potentiels postsynaptiques inhibiteurs sont déprimés transitoirement sur les

cellules pyramidales suite à une stimulation répétée à 5 ou 10 Hz (McCarren & Alger, 1985). Un autre phénomène bien connu aux synapses GABAergiques est la suppression transitoire de l'inhibition suite à une dépolarisation postsynaptique des cellules pyramidales de l'hippocampe (Pitler & Alger, 1992). Des études approfondies sur cette suppression de l'inhibition (DSI: depolarization-induced suppression of inhibition) ont permis de constater que la DSI est déclenchée par une élévation postsynaptique de  $Ca^{2+}$  durant la dépolarisation (Pitler & Alger, 1992; Lenz *et al.*, 1998), mais est exprimée au niveau présynaptique par une diminution de la relâche de GABA (Pitler & Alger, 1994; Alger *et al.*, 1996), laissant entrevoir l'implication d'un messager rétrograde. Wilson & Nicoll (2001) ont découvert que c'était les endocannabinoïdes qui, en étant libérés de façon rétrograde lors de la dépolarisation et en agissant sur les récepteurs cannabinoïdes de type 1 présents sur certaines terminaisons GABAergiques, étaient responsables de la DSI. Finalement, il a été rapporté qu'une téτανisation des fibres présynaptiques (5 à 100 Hz) induit une facilitation transitoire des courants postsynaptiques inhibiteurs (CPSIs) monosynaptiques sur des neurones d'hippocampe en culture (Jensen *et al.*, 1999a).

Les études qui se sont intéressées aux effets à long terme de l'activité neuronale sur la transmission synaptique des réseaux d'interneurones ont rapporté des résultats contradictoires. Certaines données suggèrent en effet qu'il y a une augmentation de l'excitabilité et une facilitation des PPSEs sur les interneurones suite à une téτανisation des collatérales de Schaffer (Buzsaki & Eidelberg, 1982; Taube & Schwartzkroin, 1987; Maccaferri & McBain, 1995; Ouardouz & Lacaille, 1995), ce qui favoriserait une meilleure efficacité de la transmission inhibitrice sur les cellules pyramidales. D'autres études ont toutefois démontré que les PPSIs étaient augmentés, diminués ou demeuraient inchangés sur les cellules principales suite à une stimulation répétée (Misgeld *et al.*, 1979; Haas & Rose, 1982; 1984; Scharfman & Sarvey, 1985; Abraham *et al.*, 1987; Miles & Wong, 1987; Taube & Schwartzkroin, 1987; Stelzer *et al.*, 1994; Grunze *et al.*, 1996). Des expériences plus récentes ont par ailleurs révélé que l'inhibition chez les rats adultes peut être modulée différemment dépendant du patron de stimulation puisqu'une stimulation intense à 100 Hz produit une dépression transitoire des PPSIs polysynaptiques enregistrés sur les cellules pyramidales, tandis qu'une stimulation modérée à la fréquence du rythme thêta augmente de façon durable l'inhibition et induit

la PLT des PPSIs polysynaptiques rapides GABA<sub>A</sub> (Chapman *et al.*, 1998; Perez *et al.*, 1999). Il est donc possible que les résultats divergents obtenus précédemment soient en partie attribuables à l'utilisation de différents protocoles de stimulation. De plus, considérant la grande diversité d'interneurones et la complexité du réseau neuronal dans la région CA1, d'autres facteurs incluant la stimulation de différents types d'afférences inhibitrices ou la stimulation d'afférences atteignant différents domaines de l'axe somato-dendritique des cellules pyramidales pourraient également expliquer ces résultats contradictoires. À cet égard, Stelzer *et al.* (1994) ont démontré que les PPSIs dendritiques étaient toujours déprimés suite à une stimulation orthodromique à 50 ou 100 Hz tandis que les effets sur les PPSIs somatiques étaient plus variables.

Donc, les changements à long terme de la transmission inhibitrice sur les cellules pyramidales peuvent découler de modifications à plusieurs sites synaptiques au sein des circuits neuronaux. Par exemple, la PLT aux synapses excitatrices des cellules pyramidales du CA1 peut être propagée passivement aux interneurones via les fibres récurrentes et faciliter l'inhibition rétroactive sur les cellules pyramidales (Maccaferri & McBain, 1995, 1996). De plus, la PLT de la transmission directement aux synapses excitatrices sur les interneurones peut également favoriser la transmission inhibitrice sur les cellules pyramidales (Ouardouz & Lacaille, 1995; Cowan *et al.*, 1998; Christie *et al.*, 2000; Perez *et al.*, 2001; Lapointe *et al.*, 2004). Finalement, il a été observé chez les rats nouveaux-né et juvéniles que la modulation à long terme de la transmission inhibitrice dans l'hippocampe peut également résulter de la PLT ou la DLT de la transmission directement aux synapses GABAergiques des cellules pyramidales (Xie *et al.*, 1995; Caillard *et al.*, 1999a, b; 2000; Shew *et al.*, 2000). Ainsi, les données actuellement disponible suggèrent que la transmission inhibitrice puisse aussi être influencée par l'activité neuronale, et que cette plasticité puisse avoir lieu à plusieurs endroits dans le circuit inhibiteur.

### **1.5 Objectifs de la thèse**

Il a été proposé que les interneurones, en plus de contrôler l'excitabilité des cellules pyramidales, joueraient également un rôle déterminant au cours de certaines tâches de mémorisation en fournissant les conditions spatiales et temporelles favorables à

l'établissement de modifications synaptiques (Paulsen & Moser, 1998). Donc, il apparaît important de caractériser plus en profondeur les propriétés synaptiques des circuits inhibiteurs. Dans ce contexte, le but principal de cette thèse consistait à étudier les propriétés et les mécanismes de modulation de la transmission aux synapses GABAergiques des cellules pyramidales et des interneurons de la région CA1 de l'hippocampe.

Considérant que des études antérieures ont démontré l'existence d'une PLT des PPSIs polysynaptiques sur les cellules pyramidales suite à une stimulation en bouffée thêta ( $\theta$ ), mais une dépression transitoire après une stimulation à haute fréquence (Perez *et al.*, 1999), le projet de thèse visait dans un premier temps à déterminer si des changements similaires de la transmission se produisent directement aux synapses GABA sur les cellules pyramidales et le cas échéant, d'élucider, à l'aide d'agents pharmacologiques qui bloquent certaines voies de signalisation, les mécanismes cellulaires responsables de la PLT aux synapses GABAergiques. Dans un deuxième temps, les caractéristiques des synapses GABA des cellules pyramidales et des interneurons de la couche radiatum ont été examinées afin de comparer les propriétés de la transmission (cinétique des CPSIs, potentiel d'inversion, rapport  $CPSI_2/CPSI_1$  suite à une stimulation double à court intervalle) et d'évaluer les propriétés plastiques des synapses GABA en utilisant trois protocoles de stimulation qui induisent la plasticité de la transmission GABAergique sur les cellules pyramidales (une stimulation en bouffée thêta, une stimulation à haute fréquence et une dépolarisation postsynaptique). Dans un dernier temps, la thèse tentait d'établir le profil pharmacologique des récepteurs  $GABA_A$  synaptiques présents sur les interneurons de la couche oriens/alveus en étudiant les effets de divers modulateurs allostériques. Un parallèle avec le profil pharmacologique des récepteurs  $GABA_A$  présents sur les cellules pyramidales a également été effectué.

## **CHAPITRE 2**

**LA POTENTIALISATION À LONG TERME DE LA TRANSMISSION  
SYNAPTIQUE GABA<sub>A</sub> DANS L'HIPPOCAMPE DE RAT DÉPEND DES  
RÉCEPTEURS GABA<sub>B</sub> ET DES RÉCEPTEURS MÉTABOTROPES DU  
GLUTAMATE**

**GABA<sub>B</sub> receptor- and metabotropic glutamate receptor-dependent  
cooperative long-term potentiation of rat hippocampal GABA<sub>A</sub> synaptic  
transmission**

Christian Patenaude, C. Andrew Chapman, Sandrine Bertrand, Patrice Congar and Jean-  
Claude Lacaille\*

Centre de Recherche en Sciences Neurologiques et Département de Physiologie,  
Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada H3C 3J7

**Publié dans**

**Journal of physiology 553: 155-167, 2003**

## SUMMARY

Repetitive stimulation of Schaffer collaterals induces activity-dependent changes in the strength of polysynaptic inhibitory postsynaptic potentials (IPSPs) in hippocampal CA1 pyramidal neurons that are dependent on stimulation parameters. In the present study, we investigated the effects of two stimulation patterns, theta-burst stimulation (TBS) and 100 Hz tetani, on pharmacologically isolated monosynaptic GABAergic responses in adult CA1 pyramidal cells. Tetanization with 100 Hz trains transiently depressed both early and late IPSPs, whereas TBS induced long-term potentiation (LTP) of early IPSPs that lasted at least 30 minutes. Mechanisms mediating this TBS-induced potentiation were examined using whole-cell recordings. The paired-pulse ratio of monosynaptic inhibitory postsynaptic currents (IPSCs) was not affected during LTP, suggesting that presynaptic changes in GABA release are not involved in the potentiation. Bath application of the GABA<sub>B</sub> receptor antagonist CGP55845 or the group I/II metabotropic glutamate receptor antagonist E4-CPG inhibited IPSC potentiation. Preventing postsynaptic G-protein activation or Ca<sup>2+</sup> rise by postsynaptic injection of GDP-β-S or BAPTA, respectively, abolished LTP, indicating a G-protein- and Ca<sup>2+</sup>-dependent induction in this LTP. Finally during paired-recordings, activation of individual interneurons by intracellular TBS elicited solely short-term increases in average unitary IPSCs in pyramidal cells. These results indicate that a stimulation paradigm mimicking the endogenous theta rhythm activates cooperative postsynaptic mechanisms dependent on GABA<sub>B</sub>R, mGluR, G-proteins and intracellular Ca<sup>2+</sup>, which lead to a sustained potentiation of GABA<sub>A</sub> synaptic transmission in pyramidal cells. GABAergic synapses may therefore contribute to functional synaptic plasticity in adult hippocampus.



## INTRODUCTION

Long-term potentiation (LTP) of excitatory synaptic transmission has been examined extensively in the hippocampus. In contrast, much less is known about plasticity of GABAergic inhibitory transmission. Since hippocampal GABAergic interneurons powerfully control the excitability of CA1 pyramidal neurons (Lacaille and Schwartzkroin, 1988; Freund and Buzsáki, 1996), plasticity of inhibitory synaptic transmission may exert major influences on hippocampal excitability and function. Growing evidence suggest that the efficacy of GABAergic synapses can be persistently enhanced in neonatal rat hippocampus (reviewed by Gañarsa et al., 2002). However, contradictory results have been reported at mature GABAergic synapses. Inhibitory postsynaptic currents (IPSCs) have been shown to be depressed during the expression of excitatory LTP in CA1 pyramidal cells (Stelzer et al., 1994) and this long-term depression (LTD) of GABAergic inhibition may underlie the EPSP-to-spike coupling associated with LTP (Lu et al., 2000).

In contrast, the activation of local inhibitory circuits in area CA1 generates polysynaptic inhibitory responses in pyramidal cells that showed potentiation following a stimulation paradigm that induces LTP at excitatory synapses (Haas and Rose, 1982). The long-lasting plasticity in polysynaptic inhibition is highly stimulus-dependent, showing long-term potentiation after theta-burst stimulation (TBS), but not following 100 Hz tetanization (Perez et al., 1999; see also Chapman et al., 1998). This activity-dependent enhancement in polysynaptic inhibition may result from changes occurring at several synaptic sites in the hippocampal circuit. First, an increase in synaptic drive onto pyramidal cells that results in an increased excitatory drive on feedback interneurons (Maccaferri and McBain, 1995), and/or a direct strengthening of excitatory synapses onto interneurons (Ouardouz and Lacaille, 1995; Perez et al., 2001) could both increase the synaptic activation of interneurons leading to an increase in the amount of GABA released. Second, the reports of lasting potentiation of miniature IPSCs (Kang et al., 1998) and monosynaptic inhibitory responses (Shew et al., 2000) in developing hippocampus, as well as a long-term increase of GABAergic transmission following repetitive stimulation in the nucleus of the solitary tract (Grabauskas and Bradley, 1999), cerebellum (Kano et al., 1992) or developing visual cortex (Komatsu, 1996), all suggest

that a strengthening of GABAergic synapses themselves may also contribute to enhance inhibition, and therefore modulate neuronal excitability in parallel with plasticity at excitatory synapses.

Therefore, the aims of the present study were : 1) to examine whether long-term plasticity could occur directly at hippocampal GABAergic synapses by comparing monosynaptically-evoked inhibitory responses in CA1 pyramidal neurons after TBS or 100 Hz tetani in the presence of ionotropic glutamate receptor antagonists; and if so, 2) to determine what mechanisms were responsible for such long-term changes. Our results show that TBS, but not 100 Hz trains, reliably induced LTP of monosynaptic GABA<sub>A</sub> responses. This stimulus-dependent potentiation was cooperative, requiring the activation of postsynaptic G-proteins, GABA<sub>B</sub> receptors, group I/II metabotropic glutamate receptors (mGluRs), and an increase in postsynaptic Ca<sup>2+</sup>. We also demonstrate that activation of these mechanisms is likely to require the simultaneous activation of several interneurons and/or excitatory afferents.

## **METHODS**

### *Slice preparation*

All experiments were carried out according to the guidelines laid down by our local Animal Care Committee at Université de Montréal. Adult male (4-6 weeks) Sprague-Dawley rats were anesthetized with halothane (MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario) by inhalation (2.0 %). After decapitation, the brain was removed and placed in cold oxygenated (95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>) artificial cerebrospinal fluid (ACSF) containing (in mM): 124 NaCl, 5 KCl, 1.25 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 MgSO<sub>4</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 26 NaHCO<sub>3</sub> and 10 dextrose (pH~7.4, 295-310 mosmol<sup>-1</sup>). Hippocampal slices were prepared with a vibratome (Campden Instruments Ltd., Loughborough, UK) and allowed to recover in oxygenated ACSF at room temperature for at least 1 hour before experiments.

### *Intracellular recordings*

Hippocampal slices (450 μm) were placed in a gas-fluid interface chamber and continuously perfused with ACSF (1.0 ml/min) at room temperature while their upper surfaces were exposed to a humidified 95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub> atmosphere. Intracellular

recording electrodes were pulled from microfilament capillary glass on a Flaming-Brown micropipette puller (Sutter Instrument P-87, Novato, CA) and filled with a solution containing 4 M potassium acetate and 0.01 M KCl. Recordings were performed at room temperature to improve the stability during long-term recordings. Membrane potential of CA1 pyramidal cells was held a few millivolts below spike threshold by constant depolarizing current injection to allow the recording of large-amplitude biphasic IPSPs. These IPSPs were amplified in bridge mode (Axoclamp 2A, Axon Instruments, Union City, CA, USA), displayed on a digital oscilloscope (model 1604; Gould, Ilford, UK), digitized using a data acquisition board (Axon instruments TL-1-125) and stored on a microcomputer. Responses were also stored in digitized format using a video tape recorder (Neuro-Corder DR-886, Neuro Data Instruments Co., New-York, NY) for later retrieval and analysis. Bridge balance was monitored regularly during recordings and adjusted as necessary.

#### *Whole-cell recordings*

Hippocampal slices (300  $\mu\text{m}$ ) were placed in a recording chamber continuously perfused with oxygenated ACSF at a rate of 2.0-3.0 ml/min. An upright microscope (Zeiss Axioskop, Thornwood, NY) equipped with a long-range water immersion objective (X40), Nomarski optics and an infrared camera (Cohu 6500, San Diego, CA) was used for visual identification of cells. Patch pipettes (3-9 M $\Omega$ ) were filled with a solution containing (in mM): 140 potassium gluconate, 5 NaCl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 10 N-2-hydroxyethylpiperazine-*N'*-2-ethanesulfonic acid (HEPES), 0.5 ethylene glycol-bis( $\beta$ -aminoethyl ether)-*N,N,N',N'*-tetraacetic acid (EGTA), 10 phosphocreatine, 2 ATP-tris, 0.4 GTP-tris and 0.1 % biocytin (pH adjusted to 7.2-7.3 with KOH, 275-290 mosmol<sup>-1</sup>). After obtaining tight-seals (>1 G $\Omega$ ), whole-cell recordings were obtained from CA1 pyramidal cells in current-clamp or voltage-clamp configurations using an Axoclamp 2A or an Axopatch 1D amplifier, respectively (Axon Instr.). Experiments obtained in current-clamp were carried out at 32°C (Fig. 2) and voltage-clamp experiments were performed at 22-24°C (Fig. 3-6). Inhibitory responses were low-pass filtered at 10 KHz (-3 dB), analog-filtered at 1 KHz (model 900, 8 pole bessel filter; Frequency Devices, Haverhill, MA) and digitized at 20 KHz on a microcomputer using a data acquisition

board (Axon instr. TL-1-125) and pClamp6/7 software (Axon Instr.). In voltage-clamp experiments, recordings were discarded if series resistances increased > 25% or decreased > 20%.

### *Synaptic responses and data analysis*

Synaptic responses were evoked by constant monophasic current pulses (50  $\mu$ sec, 25-300  $\mu$ A) delivered through a stimulus isolation unit (WPI-A360, World Precision Instr., Sarasota, FL) to a stimulating electrode (fine monopolar, resin-coated tungsten electrode or concentric bipolar platinum-iridium electrode; Frederick Haer Co., Bowdoinham, ME) placed in stratum radiatum of CA1 region. Monosynaptic inhibitory responses were pharmacologically isolated using 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) and ( $\pm$ )-2-amino-5-phosphopentanoic acid (AP5) to block non-NMDA and NMDA receptors, respectively. Stimulation intensity was adjusted so that the amplitude of the fast GABA<sub>A</sub>-mediated response was about 50% of maximum.

Inhibitory responses were evoked every 30 sec and cells were kept for further analysis only if recordings were stable over a 10 min baseline period. Slices then received either three trains of high frequency stimulation (HFS) or three episodes of TBS delivered at 30 sec intervals. HFS consisted of 50  $\mu$ sec duration pulses repeated at 100 Hz for 1 sec and an individual episode of TBS was composed of five bursts separated by 200 ms intervals (5 Hz), each burst consisting of four 100  $\mu$ sec pulses at 100 Hz. Following HFS or TBS, inhibitory responses were recorded for 30 min, and untetanized control cells were recorded for a similar 40 min period. Tests in various conditions were interleaved with control experiments.

The peak amplitude of early and late GABAergic responses was measured relative to the pre-stimulus baseline using Clampfit 6/7 (Axon Instr.). Potentiation of early and late responses in intracellular recordings with sharp electrodes was assessed by comparing the average responses recorded during the last 5 min of baseline period (n=10 traces) to those acquired after 30 sec, 5-10 min, 15-20 min and 25-30 min post-tetanus (n=10 traces) using repeated measures ANOVAs followed by Newman-Keuls tests (Fig. 1). In whole-cell recordings, early IPSP/C amplitudes were compared between the last 5

min of baseline period and 25-30 min post-TBS using Student's t-test. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM, and differences were considered significant when  $p < 0.05$ .

#### *Paired-recordings of GABA<sub>A</sub> unitary IPSCs*

Unitary inhibitory postsynaptic currents (uIPSCs) were evoked during paired whole-cell recordings from a synaptically connected interneuron, located in stratum lacunosum-moleculare near its border with stratum radiatum, and a CA1 pyramidal cell, as previously described (Bertrand and Lacaille, 2001). Briefly, interneurons were recorded in whole cell current-clamp mode using an Axoclamp 2A amplifier and pyramidal cells were voltage clamped at  $-40$ mV with an Axopatch 200B amplifier (Axon Instr.). uIPSCs were elicited by a single presynaptic action potential triggered by somatic depolarization of the interneuron every 5 to 7 sec. To investigate the plasticity of the interneuron-pyramidal cell synapse, the theta-burst stimulation (TBS) was delivered to the interneuron intracellularly using current injection. During TBS, the postsynaptic pyramidal cell was held in current clamp mode. uIPSCs were analyzed as previously described (Bertrand and Lacaille, 2001). In summary plots, data from 13 to 18 consecutive IPSCs were binned and averaged across experiments.

#### *Pharmacology*

Concentrated stock solutions of CNQX, AP5 (Tocris Cookson, Ellisville, MO), CGP55845 (Novartis, Basel, Switzerland), acetazolamide and (RS)- $\alpha$ -ethyl-4-carboxyphenylglycine (E4-CPG; Tocris Cookson) were prepared in advance, frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$ , and diluted to their final concentrations on the day of experiment. These agents were bath applied throughout the recording period, except acetazolamide which was perfused starting 20 min before the beginning of experiment. For experiments with blocking activation of postsynaptic G-proteins, GTP was replaced by  $100\ \mu\text{M}$  guanosine 5'-O-(2-thiodiphosphate) (GDP- $\beta$ -S) in the intracellular solution. In experiments where the  $\text{Ca}^{2+}$  chelator 1,2-bis(2-aminophenoxy)ethane- $N,N,N',N'$ -tetraacetate (BAPTA) was added to the patch solution, K-gluconate was reduced to  $110\ \text{mM}$

and EGTA was removed. All chemicals were purchased from Sigma (St-Louis, MO) unless otherwise indicated.

### *Histology*

In most whole-cell recordings, biocytin was added to the patch solution to confirm morphologically that cells were pyramidal neurons. After recordings, slices containing biocytin-filled cells were fixed at 4°C overnight with 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer (PB) and were then washed and stored in 0.1 M PB. To reveal biocytin, the slices were processed using the Vectastain ABC kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA) as previously described (Chapman and Lacaille, 1999a), air-dried for 24 h, mounted with DPX (Electron Microscopy Sciences, Ft Washington, PA) and observed under a light microscope.

## **RESULTS**

### **TBS induces LTP at GABA synapses**

Stable intracellular recordings were obtained with sharp electrodes from 30 CA1 pyramidal cells that had a mean resting membrane potential of  $-56.9 \pm 0.9$  mV, a mean input resistance of  $63 \pm 3$  M $\Omega$  and a mean action potential amplitude of  $85.6 \pm 1.4$  mV. When cells were held at subthreshold membrane potentials ( $-52.2 \pm 0.8$  mV), Schaffer collateral stimulation in the presence of CNQX (20  $\mu$ M) and AP-5 (50  $\mu$ M) evoked biphasic IPSPs composed of an early GABA<sub>A</sub>-mediated component (peak latency:  $27.5 \pm 1.1$  ms) and a late component dependent on GABA<sub>B</sub> receptors (peak latency:  $269.0 \pm 5.6$  ms). In untetanized cells, the amplitude of early IPSPs was stable for the 40 min recording period ( $99 \pm 3$  % of baseline), but the amplitude of late IPSPs slowly decreased to  $86 \pm 5$  % of baseline after 40 min (Fig. 1A, C;  $n = 10$ ). A similar small « run-down » of late IPSPs was also observed previously (Perez et al., 1999). When TBS was delivered, the amplitude of early IPSPs increased gradually to  $114 \pm 3$  % of baseline at 5-10 min post-TBS, remained elevated at 15-20 min post-TBS ( $110 \pm 2$  %;  $p < 0.05$ , repeated measures ANOVA) and at 25-30 min post-TBS ( $106 \pm 3$  % of baseline;  $p < 0.05$ , one-tailed; Fig. 1A,C), whereas the amplitude of late IPSPs declined to  $87 \pm 7$

% of baseline, a level similar to that observed in untetanized cells. In contrast, both early and late IPSPs were depressed to  $68 \pm 8$  % and  $52 \pm 17$  % of baseline, respectively, immediately after high frequency stimulation (HFS) (Fig. 1B;  $p < 0.05$ ). IPSPs then returned to control levels within 5 min post-HFS and remained constant through 30 min (early:  $97 \pm 5$  % of baseline, late:  $79 \pm 4$  % of baseline; Fig. 1C). Thus, while a selective LTP of early GABA<sub>A</sub>-mediated IPSPs was induced by TBS, HFS resulted in a transient depression of both early and late IPSPs and did not exert long-term changes.

### **Postsynaptic G-protein activation is required for LTP**

We next investigated the mechanisms of TBS-induced potentiation of early GABA<sub>A</sub> responses using whole-cell recordings. To determine if LTP could be elicited at a temperature closer to physiological conditions, we carried out current-clamp experiments at 32°C. Similar to that observed with intracellular recordings using sharp microelectrodes at room temperature, the amplitude of early IPSPs increased progressively and was potentiated to  $122 \pm 9$  % of baseline levels 30 min after TBS ( $n = 11$ ; Fig. 2), suggesting that LTP of GABA<sub>A</sub> synaptic transmission can be expressed at a near physiological temperature. Since G protein-coupled receptors are involved in tetanization-induced long-term potentiation at inhibitory synapses in visual cortex (Komatsu, 1996), we next examined whether blocking postsynaptic G proteins affected the potentiation. This was done by replacing GTP in the patch solution with GDP- $\beta$ -S (0.1 mM). This substitution did not alter the baseline IPSPs (Fig. 2A) but abolished TBS-induced LTP ( $101 \pm 6$  % of baseline 30 min after TBS;  $n=5$ ), indicating that activation of postsynaptic G proteins in CA1 pyramidal cells is required for the induction of LTP of GABA<sub>A</sub> synaptic responses.

### **LTP of synaptic currents does not involve changes in GABA release**

Whole-cell voltage-clamp recordings were next conducted to verify that GABA<sub>A</sub> inhibitory postsynaptic currents (IPSCs) could also be potentiated (holding potential ( $V_h$ ) = - 55 to -60 mV). Cells ( $n = 59$ ) had electrophysiological properties (input resistance, spike accommodation) characteristic of pyramidal cells and for 44 of them,

biocytin-labelling confirmed their pyramidal nature. Monosynaptic early IPSCs were completely blocked by bath application of bicuculline (25  $\mu$ M), confirming that they were mediated by GABA<sub>A</sub> receptors (data not shown). Consistent with current-clamp results, we found that early IPSCs gradually increased in the first 2-5 min following TBS (Fig. 3B) and were significantly potentiated to  $141 \pm 13$  % of baseline levels 30 min post-TBS ( $n = 12$ ). This potentiation was not attributed to changes in intrinsic properties of pyramidal cells since input resistance ( $158 \pm 11$  M $\Omega$  during baseline vs  $163 \pm 18$  M $\Omega$  post-TBS) and holding current ( $-31 \pm 11$  pA during baseline vs  $-40 \pm 14$  pA post-TBS) were not affected by LTP ( $p > 0.3$ ). The reversal potential of IPSCs ( $E_{IPSC}$ ) was shifted from  $-64.9 \pm 0.5$  mV during baseline to  $-69.1 \pm 0.6$  mV during LTP ( $p < 0.05$ ;  $n = 5$ ). It is however unlikely that displacement in  $E_{IPSC}$  contributed to LTP because  $E_{IPSC}$  was also significantly shifted towards hyperpolarized potentials at the end of recording in untetanized cells (baseline:  $-64.6 \pm 1.2$  mV; 30 min later:  $-66.8 \pm 1.3$  mV;  $p < 0.05$ ;  $n = 7$ ), in which IPSCs were not potentiated ( $102 \pm 5$  % of baseline;  $n = 11$ ). Although the shift in  $E_{IPSC}$  appears more pronounced after TBS than in untetanized cells ( $-4.2$  mV for TBS-cells vs  $-2.2$  mV for untetanized cells), this difference was not significant (t-test;  $p > 0.1$ ). Therefore, these results argue against a modification of Cl<sup>-</sup> gradient in LTP, and suggest that the potentiation is mediated by an increase in GABA<sub>A</sub> receptor activity.

We wondered whether the potentiation of IPSCs was accompanied by presynaptic changes in GABA release. To examine this question, we tested if changes in the paired-pulse ratio (PPR), which is representative of changes in the probability of transmitter release (Zucker, 1989) could be observed during LTP. Paired-pulse stimulation given at a 75 ms interval generated two successive IPSCs that showed paired-pulse depression. In untetanized cells, IPSC amplitude and PPR were both stable throughout the recording period (Fig. 3C<sub>1</sub>, D; PPR during baseline:  $0.77 \pm 0.10$ ; 30 min later:  $0.86 \pm 0.09$ ;  $p > 0.1$ ;  $n = 5$ ). During LTP, the increase in IPSC amplitude was not accompanied by a change in PPR (Fig. 3C<sub>2</sub>, D; baseline ratio:  $0.73 \pm 0.03$ ; 30 min post-TBS:  $0.74 \pm 0.04$ ;  $n = 5$ ), suggesting that presynaptic mechanisms governing the release of GABA were not affected during LTP.



### **GABA<sub>B</sub> receptor activation in LTP**

G-protein-coupled receptors play important roles in the modulation of GABA synaptic transmission (Cartmell and Schoepp, 2000). Notably, GABA<sub>B</sub> receptors have been reported to regulate inhibitory synaptic transmission following repeated stimulation and/or postsynaptic depolarization (Komatsu, 1996; Kawaguchi and Hirano, 2000; Kotak et al., 2001). We therefore wanted to determine whether G protein-dependent mechanisms in LTP involved GABA<sub>B</sub> receptors. The application of the GABA<sub>B</sub> receptor antagonist CGP55845 (1-5  $\mu$ M) affected GABA transmission in two ways. First, the amplitude of IPSCs was transiently depressed to  $85 \pm 8$  % of baseline immediately after TBS in the presence of CGP55845 ( $n = 10$ ), as compared to a small increase to  $109 \pm 5$  % of baseline in its absence (Fig. 4B;  $n = 12$ ; t-test,  $p < 0.05$ ). Second, CGP55845 produced variable effects on the potentiation of IPSCs, blocking LTP in half of cells tested (5/10) but not in the remaining ones. Overall, however, TBS did not produce significant LTP in the presence of CGP55845 ( $118 \pm 12$  % of baseline; Fig. 4B, C;  $p > 0.1$ ), suggesting that LTP of GABA synapses depends on GABA<sub>B</sub> receptor activation.

The transient depression of IPSCs following TBS in the presence of the GABA<sub>B</sub> receptor antagonist may result from an alteration of synaptic transmission during the episodes of TBS because a slow inward current reaching  $-23.0 \pm 5.9$  pA ( $n = 4$ ) was generated in presence of CGP55845, but not in its absence ( $-3.3 \pm 1.1$  pA;  $n = 5$ ; Fig. 4D). A similar inward current has been described in CA1 pyramidal cells following intense stimulation and prolonged activation of GABA<sub>A</sub> receptors (Kaila et al., 1997). It has been attributed to bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) efflux through GABA<sub>A</sub> receptors (Grover et al., 1993) or  $\text{HCO}_3^-$ -dependent increase in extracellular  $\text{K}^+$  concentration (Smirnov et al., 1999). Analogous mechanisms appear responsible for the generation of the inward current during TBS because this current almost completely disappeared in the presence of acetazolamide (2  $\mu$ M), an inhibitor of carbonic anhydrase, the enzyme synthesizing  $\text{HCO}_3^-$  (Fig. 4D;  $-6.7 \pm 2.4$  pA;  $n = 8$ ). It is therefore possible that CGP55845, by blocking GABA<sub>B</sub> receptor-mediated presynaptic inhibition, may increase GABA release and prolong GABA<sub>A</sub> receptor activation. This may in turn result in dendritic  $\text{Cl}^-$

accumulation and collapse of  $\text{Cl}^-$  gradient (Staley et al., 1995; Staley and Proctor, 1999), which may promote  $\text{HCO}_3^-$ -dependent currents.

To determine if this inward current is responsible for the transient depression of IPSCs and inhibition of LTP, we examined whether simultaneous application of CGP55845 and acetazolamide would eliminate the depression and restore LTP. While the inward current disappeared, the transient depression ( $83 \pm 7$  % of baseline) and inhibition of LTP ( $122 \pm 13$  % of baseline;  $n = 8$ ) persisted in the presence of CGP55845 and acetazolamide (Fig. 4B, C). The results indicate that inhibition of presynaptic  $\text{GABA}_B$  receptors generate a  $\text{HCO}_3^-$ -dependent inward current during TBS, but this is not responsible for the inhibition of LTP of IPSCs. Thus,  $\text{GABA}_B$  receptors located postsynaptically, rather than presynaptically, may be those critical for LTP at GABA synapses.

#### **Group I/II mGluR antagonist attenuates LTP**

As described above,  $\text{GABA}_B$  receptor blockade did not always inhibit LTP, suggesting that other mechanisms might also participate in this potentiation. Because fast excitatory transmission by ionotropic glutamate receptors was blocked, but metabotropic glutamate receptors (mGluRs) could still be activated, we tested if mGluR-dependent mechanisms could be involved in LTP. The delivery of TBS during the application of 500  $\mu\text{M}$  E4CPG, a group I/II mGluR antagonist, resulted in an initial gradual increase in IPSCs that was similar to that observed in control (Fig. 5B). However, this potentiation reached a plateau about 10-15 min after TBS such that IPSCs were only enhanced to  $115 \pm 7$  % of baseline 30 min post-TBS ( $n = 7$ ), a level that was not significantly different from baseline (Fig. 5B, C). This inhibition of LTP therefore indicates that group I/II mGluRs may also participate in LTP of inhibitory synaptic transmission.

#### **A postsynaptic $\text{Ca}^{2+}$ rise is needed at GABA synapses to elicit LTP**

Given that mGluRs can trigger postsynaptic  $\text{Ca}^{2+}$  elevations in hippocampal neurons (Murphy and Miller, 1988), we next wanted to test if an increase in postsynaptic

$\text{Ca}^{2+}$  is required to elicit LTP of IPSCs. As shown in Fig. 5B, LTP was induced when the basal postsynaptic  $\text{Ca}^{2+}$  level was only moderately buffered by a low concentration (0.5 mM) of the  $\text{Ca}^{2+}$  chelator EGTA present in the patch pipette (see methods; same as in Fig. 3B). In contrast, when a high concentration of the  $\text{Ca}^{2+}$  chelator BAPTA (10 mM) was substituted for EGTA to prevent  $\text{Ca}^{2+}$  elevation, LTP was abolished (Fig. 4B, C;  $95 \pm 6$  % of baseline;  $n = 9$ ). These results therefore indicate that, as found for plasticity at excitatory synapses (Malenka, 1991), a rise in postsynaptic  $\text{Ca}^{2+}$  is also required for the induction of LTP at GABA synapses onto CA1 pyramidal cells.

### **Short-term plasticity elicited by TBS in interneuron-pyramidal cell pairs**

The results described so far were obtained using extracellular stimulation in stratum radiatum which activates several inhibitory/excitatory fibres. To determine if LTP could also be induced by activation of a single interneuron, we obtained paired whole-cell recordings from synaptically-connected interneurons in stratum lacunosum-moleculare (LM) and pyramidal cells (PYR). Five of 93 LM-PYR pairs obtained were synaptically connected, which corresponds to 5.4 % of all cell pairs tested (Bertrand and Lacaille, 2001). The intracellular delivery of TBS to a single LM interneuron resulted in short-term potentiation (STP) of average unitary IPSC (uIPSC) amplitude in 3 of the 5 pairs tested (Fig. 6), and no changes in the remaining 2 pairs. In the 3 pairs with changes, the average amplitude of uIPSCs (including failures) was significantly increased until 180 sec post-TBS and returned to control values 360 sec post-TBS (Fig. 6Aa<sub>1</sub>; Bb<sub>1</sub>). This STP of uIPSCs was associated with a significant decrease in failure rate, as the percentage of failures decreased from  $75.3 \pm 3$  % to  $62.2 \pm 4$  % 90 sec post-TBS and further to  $60.7 \pm 13$  % 180 sec post-TBS, before returning to control level 360-450 sec after TBS (Fig. 6Bb<sub>2</sub>). In contrast, the amplitude of uIPSC was not affected when failures of synaptic transmission were excluded (Fig. 6Aa<sub>2</sub>, Bb<sub>3</sub>). These results demonstrate that at synapses between individual LM interneuron and pyramidal cells, TBS activation elicits solely short-term changes, which are likely to involve presynaptic mechanisms. Thus, cooperativity among inhibitory and excitatory inputs appears to be required for LTP.

## DISCUSSION

The major findings of the present study are that tetanization at 100 Hz produced short-term depression of both GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> responses of CA1 pyramidal cells, whereas theta-patterned stimulation induced selective long-term potentiation of monosynaptic GABA<sub>A</sub> responses. This is markedly different from plasticity at excitatory synapses of CA1 pyramidal cells, where both tetanic and theta-patterned stimulation reliably induce LTP (Larson et al., 1986; Davies et al., 1991). The examination of the signalling pathways mediating TBS-induced LTP of inhibition revealed that postsynaptic G protein-dependent mechanisms are necessary for LTP induction, probably through activation of postsynaptic GABA<sub>B</sub> receptors and group I/II mGluRs, and that a rise in postsynaptic Ca<sup>2+</sup> is also required. Moreover, we found that concomitant activation of several interneurons/presynaptic fibers appears necessary to induce LTP since the intracellular delivery of TBS to a single interneuron resulted only in a transient increase in GABA<sub>A</sub> responses at individual interneuron-pyramidal cell synapses.

### **Synaptic inhibition regulated at several sites in the hippocampal circuit**

Perez et al. (1999) previously reported that both early GABA<sub>A</sub> and late GABA<sub>B</sub> components of polysynaptic IPSPs, evoked in pyramidal cells by stimulation of local inhibitory circuits, displayed long-lasting enhancement following theta-patterned stimulation. A long-lasting enhancement was present following 100 Hz tetanization only when postsynaptic Ca<sup>2+</sup> elevation was prevented. This activity-dependent plasticity of polysynaptic responses was also prevented by NMDA receptor blockade. In contrast, the present study of pharmacologically isolated monosynaptic GABAergic responses, has determined that only GABA<sub>A</sub>-mediated monosynaptic IPSPs are enhanced after theta-patterned stimulation by NMDA receptor independent processes. The different mechanisms involved in the long-term plasticity of polysynaptic versus monosynaptic responses indicate that these phenomena may involve changes at distinct sites in the circuit. For monosynaptic responses, direct modulation of GABA synapses may be induced by TBS. For polysynaptic responses, since feedforward and feedback excitatory inputs to interneurons are functional, TBS-induced LTP at excitatory synapses of

pyramidal cells may passively propagate to interneurons (Maccaferri and McBain, 1995) and/or LTP may occur directly at excitatory synapses of interneurons (Ouardouz and Lacaille, 1995; Perez et al., 2001). These changes may lead to an increase in synaptic activation of interneurons, resulting in an enhancement of GABA release and potentiation of inhibition in pyramidal cells. Thus, theta-patterned activation may influence inhibition of pyramidal neurons by regulating synaptic transmission at many levels in the hippocampal circuit. Moreover, the activation of multiple processes by theta patterned stimulation could explain why a potentiation of late IPSPs was observed only for polysynaptic and not for monosynaptic responses, since changes leading to enhanced activation of interneurons and GABA release are observed solely in polysynaptic recording conditions.

### **Frequency-dependent plasticity of monosynaptic GABA<sub>A</sub> responses**

The modulation of GABAergic synapses in the adult hippocampal CA1 region appears highly dependent on tetanization parameters and may switch from a sustained enhancement of GABA<sub>A</sub> synaptic function to a transient depression of both GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> responses with increased frequency of repetitive stimulation. The depression following 100 Hz tetani could involve presynaptic mechanisms because both early and late components of IPSPs were affected. A transient depression of early IPSCs was also observed when TBS was given in presence of a GABA<sub>B</sub> receptor antagonist. Although we did not investigate the underlying mechanisms, we believe that a shift in the Cl<sup>-</sup> gradient leading to dendritic inward current and suppression of GABA responses is unlikely to contribute since the depression persisted even though the inward current was prevented with the carbonic anhydrase inhibitor acetazolamide. Alternatively, a depletion of releasable vesicles caused by increased GABA release during sustained tetanization (HFS), as well as during TBS when GABA<sub>B</sub> receptor-mediated presynaptic inhibition was removed, could account for the short-term depression (Jensen et al., 1999b). In turn, this depletion of releasable vesicles may have precluded the activation of postsynaptic mechanisms, which could explain the absence of LTP of monosynaptic GABA<sub>A</sub> responses following HFS.

The effectiveness of theta-patterned stimulation in inducing LTP at excitatory synapses has been linked to a transient reduction in GABAergic transmission via presynaptic GABA<sub>B</sub> autoreceptors (Davies et al., 1991). For the potentiation of GABA<sub>A</sub> transmission, however, TBS may result in LTP because of an effective activation of postsynaptic GABA<sub>B</sub> receptors, mGluRs and Ca<sup>2+</sup>-dependent processes, while not activating other mechanisms that contribute to depression (Stelzer et al., 1994; Stelzer and Shi, 1994).

### **LTP involves postsynaptic mechanisms**

The suggestion that postsynaptic changes are involved in LTP is supported by the observations that 1) TBS potentiates selectively GABA<sub>A</sub>, but not GABA<sub>B</sub> responses, 2) PPR is unaffected by LTP, 3) the reduction of LTP by a GABA<sub>B</sub> receptor antagonist persisted after the elimination of the slow inward current resulting from presynaptic GABA<sub>B</sub> receptor blockade, 4) blocking activation of postsynaptic G proteins prevents LTP and 5) the LTP is also prevented by postsynaptic injection of BAPTA. GABA<sub>A</sub> receptors contains phosphorylation sites for protein kinases and their function may be regulated depending on their phosphorylation/dephosphorylation state (Smart, 1997). Since GABA<sub>B</sub> receptors are linked to cyclic AMP (cAMP) production (Cunningham and Enna, 1996), signalling via cAMP/protein kinase A pathways could participate in LTP. Although reports concerning the potentiation of hippocampal GABA<sub>A</sub> receptor function by PKA-dependent phosphorylation remain controversial (Kapur and Macdonald, 1996; Poisbeau et al., 1999), such effects on GABA<sub>A</sub> synaptic transmission need to be explored in detail in CA1 region. Alternatively, modifications in protein phosphatases activity might also be involved (Wang et al., 2003).

A displacement of E<sub>IPSC</sub> toward hyperpolarized potentials was observed during whole-cell recordings, which should increase the Cl<sup>-</sup> driving force. Activity-dependent shifts in Cl<sup>-</sup> reversal potential have been reported, but these changes were toward positive membrane potentials which decreased inhibitory transmission (Sun et al., 2000; Gusev and Alkon, 2001). During development, the action of GABA switches from excitatory to inhibitory because of an increased expression of the K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> cotransporter 2 (KCC2), which shifts the Cl<sup>-</sup> reversal potential toward more hyperpolarized potentials

(Clayton et al., 1998). However, it is unlikely that the shifts in  $E_{IPSC}$  were critically involved in the potentiation of IPSCs in the present study since similar shifts were also present in untetanized cells that did not show potentiation of IPSCs.

While long-term GABAergic plasticity has been reported to result from postsynaptic changes in layer V neurons of the visual cortex (Komatsu, 1996) and in layer II/III neocortical pyramidal cells (Holmgren and Zilberter, 2001), LTP of GABAergic transmission in the hippocampus has mainly been linked to presynaptic changes. Shew et al. (2000) demonstrated that 100 Hz tetanization induces a GABA<sub>B</sub> receptor-dependent LTP of early IPSPs in rat CA1 pyramidal neurons during development. The GABA<sub>B</sub> receptors that mediate this effect are thought to be located presynaptically because irreversible activation of postsynaptic G-proteins by GTP- $\gamma$ -S did not prevent the potentiation. In addition, Kang et al. (1998) described a potentiation of GABA<sub>A</sub> synaptic transmission induced by repetitive activation of interneurons that triggers GABA<sub>B</sub> receptor-dependent intracellular Ca<sup>2+</sup> elevation in astrocytes. This potentiation was also induced by direct stimulation of astrocytes and blocked by preventing astrocytic Ca<sup>2+</sup> rises. However, since ionotropic glutamate receptor antagonists blocked this astrocyte-mediated potentiation, it is unlikely that such mechanisms contribute to the TBS-induced potentiation of monosynaptic IPSP/Cs observed here. Thus, the present results are, to our knowledge, the first indication that long-term potentiation at adult hippocampal GABA synapses involves postsynaptic GABA<sub>B</sub> receptor activation. These results are consistent with a growing body of evidence reflecting the importance of GABA<sub>B</sub> receptors for the long-term regulation of inhibitory synaptic transmission in different brain areas (Komatsu, 1996; Kawaguchi and Hirano, 2000, 2002; Kotak et al., 2001).

### **Cooperativity requirement for LTP**

The intracellular delivery of TBS to a single interneuron resulted in a short-term increase in uIPSCs in pyramidal cells. A similar transient IPSC increase has been observed following tetanic stimulation in paired recordings in culture (Jensen et al., 1999a). The absence of long-term increase during paired recordings suggests that the activation of a single interneuron is insufficient for LTP induction at GABA synapses.

This may result from the fact that simultaneous stimulation of several interneurons is necessary to activate postsynaptic GABA<sub>B</sub> receptors (Scanziani, 2000; Bertrand et al., 2001) or that mechanisms others than those activated by GABA are involved. Interestingly, Komatsu (1996) reported that tetanization-induced LTP of inhibitory transmission in the visual cortex required GABA<sub>B</sub> receptor activation as well as postsynaptic Ca<sup>2+</sup> rise linked to  $\alpha_1$ -adrenoceptor and/or 5-HT<sub>2</sub> receptor activation. The implication of GABA-independent mechanisms in TBS-induced LTP is supported by the observation that the potentiation of IPSCs is prevented by a group I/II mGluR antagonist. mGluRs play important roles in excitatory LTP in area CA1 (Bashir et al., 1993) as well as in LTP at excitatory synapses of oriens-alveus interneurons (Perez et al., 2001). However, while it is well known that mGluRs can decrease the release of GABA (Desai et al., 1994; Gereau and Conn, 1995), information concerning their role in long-term regulation of inhibitory transmission is scarce (Liu et al., 1993; Chevaleyre and Castillo, 2003).

How can mGluRs affect the transmission at GABA synapses? TBS also triggers the release of glutamate from excitatory fibers, which may spillover and activate perisynaptic mGluRs located at proximity of GABAergic synapses on pyramidal cells (Baude et al., 1993; Lujan et al., 1997). Given that group I mGluRs are linked to inositol-1,4,5-triphosphate (IP3) formation and release of Ca<sup>2+</sup> from internal stores (Murphy and Miller, 1988), they could trigger Ca<sup>2+</sup> signals leading to LTP. Because in some cells, a residual LTP persisted in presence of the GABA<sub>B</sub> receptor antagonist, it is possible that the strength of stimulation of Schaffer collateral fibers which impinged on those cells may have been sufficient to provide appropriate mGluR-mediated signalling to induce potentiation. Further, it remains to be examined if, as reported for astrocytes (Kang et al., 1998), GABA<sub>B</sub> receptors can generate Ca<sup>2+</sup> rises in CA1 pyramidal cells which may be sufficient for LTP induction. Thus, we suggest that the co-activation of GABAergic and glutamatergic mechanisms, either in parallel or in synergy (Hirono et al., 2001), may cooperatively lead to LTP of GABA<sub>A</sub> synaptic transmission in adult pyramidal cells.



**Functional significance**

The hippocampal theta rhythm may contribute to learning and memory by promoting plasticity at excitatory synapses. Our work indicates that theta-patterned activity also induces plasticity at GABAergic synapses. What is the physiological relevance of this strengthening of GABA synapses? LTP can be induced at Schaffer collateral-pyramidal cell synapses by either TBS or 100 Hz tetani. However, LTP of field EPSPs (fEPSPs) was of larger magnitude following TBS than 100 Hz tetani, when GABA<sub>A</sub> inhibition was blocked by bicuculline (Chapman et al., 1998). This unmasking of LTP of fEPSPs by bicuculline may reflect a sustained increase in inhibition induced by TBS, opposing the LTP at excitatory synapses (Chapman et al., 1998). Thus, the physiological relevance of LTP at GABA synapses may be an activity-dependent regulation of excitability of pyramidal cells. In addition, since inhibitory interneurons contribute to pacing of theta oscillations in the hippocampus (Chapman and Lacaille, 1999a & b), theta-dependent strengthening of GABA synapses may serve to reinforce their role in hippocampal theta activity. Finally, rhythmic activation of excitatory and inhibitory inputs to pyramidal cells appear necessary to cooperatively promote plasticity of GABA synapses. Such cooperative induction of plasticity at inhibitory synapses may provide a novel mechanism through which hippocampal excitability can be modulated adaptively in an activity-dependent manner, and thus participate in the processes mediating learning and memory.

**REFERENCES**

- Bashir ZI, Bortolotto ZA, Davies CH, Berretta N, Irving AJ, Seal AJ, Henley JM, Jane DE, Watkins JC & Collingridge GL (1993). Induction of LTP in the hippocampus needs synaptic activation of glutamate metabotropic receptors. *Nature* **363**, 347-350.
- Baude A, Nusser Z, Roberts JD, Mulvihill E, McIlhinney RA & Somogyi P (1993). The metabotropic glutamate receptor (mGluR1 alpha) is concentrated at perisynaptic membrane of neuronal subpopulations as detected by immunogold reaction. *Neuron* **11**, 771-787.
- Bertrand S & Lacaille JC (2001). Unitary synaptic currents between lacunosum-moleculare interneurons and pyramidal cells in rat hippocampus. *J Physiol* **532**, 369-384.
- Cartmell J & Schoepp DD (2000). Regulation of neurotransmitter release by metabotropic glutamate receptors. *J Neurochem* **75**, 889-907.
- Chapman CA, Perez Y & Lacaille JC (1998). Effects of GABA<sub>A</sub> inhibition on the expression of long-term potentiation in CA1 pyramidal cells are dependent on tetanization parameters. *Hippocampus* **8**, 289-298.
- Chapman CA & Lacaille JC (1999a). Cholinergic induction of theta-frequency oscillations in hippocampal inhibitory interneurons and pacing of pyramidal cell firing. *J Neurosci* **19**, 8637-8645.
- Chapman CA & Lacaille JC (1999b). Intrinsic theta-frequency membrane potential oscillations in hippocampal CA1 interneurons of stratum lacunosum-moleculare. *J Neurophysiol* **81**, 1296-1307.
- Chevaleyre V & Castillo PE (2003). Heterosynaptic LTD of hippocampal GABAergic synapses: A novel role of endocannabinoids in regulating excitability. *Neuron* **38**, 461-472.
- Clayton GH, Owens GC, Wolff JS & Smith RL (1998). Ontogeny of cation-Cl<sup>-</sup> cotransporter expression in rat neocortex. *Brain Res Dev Brain Res* **109**, 281-292.
- Cunningham MD & Enna SJ (1996). Evidence for pharmacologically distinct GABA<sub>B</sub> receptors associated with cAMP production in rat brain. *Brain Res* **720**, 220-224.
- Davies CH, Starkey SJ, Pozza MF & Collingridge GL (1991). GABA<sub>B</sub> autoreceptors regulate the induction of LTP. *Nature* **349**, 609-611.

- Desai MA, McBain CJ, Kauer JA & Conn PJ (1994). Metabotropic glutamate receptor-induced disinhibition is mediated by reduced transmission at excitatory synapses onto interneurons and inhibitory synapses onto pyramidal cells. *Neurosci Lett* **181**, 78-82.
- Freund TF & Buzsáki G (1996). Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* **6**, 347-470.
- Gäiarsa JL, Caillard O & Ben-Ari Y (2002). Long-term plasticity at GABAergic and glycinergic synapses: mechanisms and functional significance. *TINS* **25**, 564-570.
- Gereau RW & Conn PJ (1995). Multiple presynaptic metabotropic glutamate receptors modulate excitatory and inhibitory synaptic transmission in hippocampal area CA1. *J Neurosci* **15**, 6879-6889.
- Grabauskas G & Bradley RM (1999). Potentiation of GABAergic synaptic transmission in the rostral nucleus of the solitary tract. *Neuroscience* **94**, 1173-1182.
- Grover LM, Lambert NA, Schwartzkroin PA & Teyler TJ (1993). Role of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ions in depolarizing GABA<sub>A</sub> receptor-mediated responses in pyramidal cells of rat hippocampus. *J Neurophysiol* **69**, 1541-1555.
- Gusev PA & Alkon DL (2001). Intracellular correlates of spatial memory acquisition in hippocampal slices: Long-term disinhibition of CA1 pyramidal cells. *J Neurophysiol* **86**, 881-899.
- Haas HL & Rose G (1982). Long-term potentiation of excitatory synaptic transmission in the rat hippocampus: the role of inhibitory processes. *J Physiol* **329**, 541-552.
- Hirono M, Yoshioka T & Konishi S (2001). GABA<sub>B</sub> receptor activation enhances mGluR-mediated responses at cerebellar excitatory synapses. *Nat Neurosci* **4**, 1207-1216.
- Holmgren CD & Zilberter Y (2001). Coincident spiking activity induces long-term changes in inhibition of neocortical pyramidal cells. *J Neurosci* **21**, 8270-8277.
- Jensen K, Jensen MS & Lambert JDC (1999a). Post-tetanic potentiation at GABAergic IPSCs in cultured rat hippocampal neurones. *J Physiol* **519**, 71-84.
- Jensen K, Lambert JDC & Jensen MS (1999b). Activity-dependent depression of GABAergic IPSCs in cultured hippocampal neurons. *J Neurophysiol* **82**, 42-49.
- Kaila K, Lamsa K, Smirnov S, Taira T & Voipio J (1997). Long-lasting GABA-mediated depolarization evoked by high-frequency stimulation in pyramidal neurons

- of rat hippocampal slice is attributable to a network-driven, bicarbonate-dependent  $K^+$  transient. *J Neurosci* **17**, 7662-7672.
- Kang J, Jiang L, Goldman SA & Nedergaard M (1998). Astrocyte-mediated potentiation of inhibitory synaptic transmission. *Nat Neurosci* **1**, 683-692.
- Kano M, Rexhausen U, Dreessen J & Konnerth A (1992). Synaptic excitation produces a long-lasting rebound potentiation of inhibitory synaptic signals in cerebellar Purkinje cells. *Nature* **356**, 601-604.
- Kapur J & Macdonald RL (1996). Cyclic AMP-dependent protein kinases enhances hippocampal dentate granule cell GABA<sub>A</sub> receptor currents. *J Neurophysiol* **76**, 2626-2634.
- Kawaguchi SY & Hirano T (2000). Suppression of inhibitory synaptic potentiation by presynaptic activity through postsynaptic GABA<sub>B</sub> receptors in a Purkinje neuron. *Neuron* **27**, 339-347.
- Kawaguchi SY & Hirano T (2002). Signaling cascade regulating long-term potentiation of GABA<sub>A</sub> receptor responsiveness in cerebellar Purkinje neurons. *J Neurosci* **22**, 3969-3976.
- Komatsu Y (1996). GABA<sub>B</sub> receptors, monoamine receptors, and postsynaptic inositol triphosphate-induced  $Ca^{2+}$  release are involved in the induction of long-term potentiation at visual cortical inhibitory synapses. *J Neurosci* **16**, 6342-6352.
- Kotak VC, DiMattina C & Sanes DH (2001). GABA<sub>B</sub> and Trk receptor signaling mediates long-lasting inhibitory synaptic depression. *J Neurophysiol* **86**, 536-540.
- Lacaille J-C & Schwartzkroin PA (1988). Stratum lacunosum-moleculare interneurons of hippocampal CA1 region. II. Intracellular and intradendritic recordings of local circuit synaptic interactions. *J Neurosci* **8**, 1411-1424.
- Larson J, Wong D & Lynch G (1986). Patterned stimulation at the theta frequency is optimal for the induction of hippocampal long-term potentiation. *Brain Res* **368**, 347-350.
- Liu YB, Disterhoft JF & Slater NT (1993). Activation of metabotropic glutamate receptors induces long-term depression of GABAergic inhibition in hippocampus. *J Neurophysiol* **69**, 1000-1004.

- Lu YM, Mansuy IM, Kandel ER & Roder J (2000). Calcineurin-mediated LTD of GABAergic inhibition underlies the increased excitability of CA1 neurons associated with LTP. *Neuron* **26**, 197-205.
- Lujan R, Roberts JD, Shigemoto R, Ohishi H & Somogyi P (1997). Differential plasma membrane distribution of metabotropic glutamate receptors mGluR1 $\alpha$ , mGluR2 and mGluR5, relative to neurotransmitter release sites. *J Chem Neuroanat* **13**, 219-241.
- Maccaferri G & McBain CJ (1995). Passive propagation of LTD to stratum oriens-alveus inhibitory neurons modulates the temporoammonic input to the hippocampal CA1 region. *Neuron* **15**, 137-145.
- Malenka RC (1991). The role of postsynaptic calcium in the induction of long-term potentiation. *Mol Neurobiol* **5**, 289-295.
- Murphy SN & Miller RJ (1988). A glutamate receptor regulates Ca<sup>2+</sup> mobilization in hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci* **85**, 8737-8741.
- Ouardouz M & Lacaille J-C (1995). Mechanisms of selective long-term potentiation of excitatory synapses in stratum oriens/alveus interneurons of rat hippocampal slices. *J Neurophysiol* **73**, 810-819.
- Perez Y, Chapman CA, Woodhall G, Robitaille R & Lacaille J-C (1999). Differential induction of long-lasting potentiation of inhibitory postsynaptic potentials by theta patterned stimulation versus 100 Hz tetanization in hippocampal pyramidal cells in vitro. *Neuroscience* **90**, 747-757.
- Perez Y, Morin F & Lacaille JC (2001). A hebbian form of long-term potentiation dependent on mGluR1a in hippocampal inhibitory interneurons. *Proc Natl Acad Sci* **98**, 9401-9406.
- Poisbeau P, Cheney MC, Browning MD & Mody I (1999). Modulation of synaptic GABA<sub>A</sub> receptor function by PKA and PKC in adult hippocampal neurons. *J Neurosci* **19**, 674-683.
- Scanziani M (2000). GABA spillover activates postsynaptic GABA<sub>B</sub> receptors to control rhythmic hippocampal activity. *Neuron* **25**, 673-681.
- Shew T, Yip S & Sastry BR (2000). Mechanisms involved in tetanus-induced potentiation of fast IPSCs in rat hippocampal CA1 neurons. *J Neurophysiol* **83**, 3388-3401.

- Smart TG (1997). Regulation of excitatory and inhibitory neurotransmitter-gated ion channels by protein phosphorylation. *Curr Opin Neurobiol* **7**, 358-367.
- Smirnov S, Paalasmaa P, Uusisaari M, Voipio J & Kaila K (1999). Pharmacological isolation of the synaptic and nonsynaptic components of the GABA-mediated biphasic response in rat CA1 hippocampal pyramidal cells. *J Neurosci* **19**, 9252-9260.
- Staley KJ, Soldo BL & Proctor WR (1995). Ionic mechanisms of neuronal excitation by inhibitory GABA<sub>A</sub> receptors. *Science* **269**, 977-981.
- Staley KJ & Proctor WR (1999). Modulation of mammalian dendritic GABA<sub>A</sub> receptor function by the kinetics of Cl<sup>-</sup> and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transport. *J Physiol* **519**, 693-712.
- Stelzer A & Shi H (1994). Impairment of GABA<sub>A</sub> receptor function by N-methyl-D-aspartate-mediated calcium influx in isolated CA1 pyramidal cells. *Neuroscience* **62**, 813-828.
- Stelzer A, Simon G, Kovacs G & Rai R (1994). Synaptic disinhibition during maintenance of long-term potentiation in the CA1 hippocampal subfield. *Proc Natl Acad Sci* **91**, 3058-3062.
- Sun MK, Nelson TJ & Alkon DL (2000). Functional switching of GABAergic synapses by ryanodine receptor activation. *Proc Natl Acad Sci* **97**, 12300-12305.
- Wang J, Liu SH, Haditsch U, Tu WH, Cochrane K, Ahmadian G, Tran L, Paw J, Wang YT, Mansuy IM, Salter MM & Lu YM (2003). Interaction of calcineurin and type-A GABA receptor  $\gamma_2$  subunits produces long-term depression at CA1 inhibitory synapses. *J Neurosci* **23**, 826-836.
- Zucker RS (1989). Short-term synaptic plasticity. *Ann Rev Neurosci* **12**, 13-31.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

This research was funded by grants to J.-C. L. from the Canadian Institutes of Health Research (MT-10848), Fonds de la Recherche en Santé du Québec, and Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche. J.-C.L. is the recipient of a Canada Research Chair in Cellular and Molecular Neurophysiology. C.A.C. is currently in the Center for Studies in Behavioral Neurobiology, Department of Psychology, Concordia University, Montréal, Québec, Canada. S.B. is currently in the Laboratoire de physiologie et physiopathologie de la signalisation cellulaire, Université Bordeaux II, Bordeaux, France.

## FIGURE LEGENDS

Figure 1: Long-term potentiation (LTP) of monosynaptic early IPSPs is induced by theta-burst stimulation (TBS) but not by high frequency stimulation (HFS) in CA1 pyramidal cells.

Cells recorded intracellularly received either TBS (A) or HFS (B). A. Average monosynaptic IPSPs from a representative cell ( $a_1$ ) and graphs of the early ( $a_2$ ) and late ( $a_3$ ) IPSP amplitude for all cells tested prior to (1) and after (2,3) delivery of TBS in stratum radiatum. Fast GABA<sub>A</sub>-mediated responses (●), but not late GABA<sub>B</sub>-mediated IPSPs (▲), were gradually increased following TBS. B. Results for cells that received HFS. Early ( $b_2$ ) and late ( $b_3$ ) IPSPs were depressed immediately after HFS and returned to control levels within 5 min. Arrows indicate the times that TBS or HFS were delivered. In this and subsequent figures, numbers (1-3) indicate times at which traces were taken. C. Summary histogram of average IPSP amplitude in untetanized cells, following TBS and 100 Hz tetani ( $n = 10$  per group), illustrating the selective potentiation of early IPSPs 30 min post-TBS.

Figure 2: LTP requires postsynaptic G-protein activation.

A. Examples of average IPSPs obtained before (1) and after (2) TBS in whole-cell current-clamp recordings when the patch solution contained GTP ( $a_1$ ) or GDP- $\beta$ -S ( $a_2$ ). B. Graph of IPSP amplitude in cells containing GTP (●) or GDP- $\beta$ -S (□). LTP of IPSPs induced by TBS was abolished in cells in which GDP- $\beta$ -S was present to block the activation of G proteins. C. Histogram of average IPSP amplitude 30 min after TBS showing the unchanged IPSPs in untetanized cells, the significant potentiation of IPSPs in cells receiving TBS, and the abolition of LTP in cells loaded with GDP- $\beta$ -S ( $*p < 0.05$ ). Numbers in parentheses indicate the number of cells recorded in each condition.

Figure 3: Paired-pulse ratio of IPSCs is not affected following LTP induction.

Representative IPSCs from an untetanized cell ( $a_1$ ) and a cell that received TBS ( $a_2$ ). B. Mean amplitude of IPSCs in untetanized cells (○;  $n=11$ ) and cells that received TBS (●;



n=12), showing LTP of IPSCs following delivery of TBS. C. Paired-stimulation given at a 75 ms interval produced similar paired-pulse depression of IPSCs in an untetanized cell ( $c_1$ ) and a cell that received TBS ( $c_2$ ). D. Histogram of the paired-pulse ratio (PPR) during the control period (open bars) and 30 min later (filled bars) in untetanized cells, or during LTP in cells that received TBS. No change in PPR was found in either group of cells. Numbers in parentheses indicate the number of cells tested.

Figure 4: TBS-induced LTP of IPSCs depends on GABA<sub>B</sub> receptor activation.

A. Examples of IPSCs obtained from a cell in the presence of 2  $\mu$ M CGP55845 ( $a_1$ ) and 2  $\mu$ M CGP55845 + 2  $\mu$ M acetazolamide (actz) ( $a_2$ ). B. Graph of average IPSC amplitude for cell groups in CGP55845 ( $\Delta$ ) and CGP55845 + acetazolamide ( $\blacktriangledown$ ). Notice the similar changes in IPSCs in both conditions. IPSCs in normal ACSF (TBS alone;  $\circ$ ) are illustrated for comparison (same as in Fig. 3). C. Summary histogram of average IPSC amplitudes showing that the LTP induced by TBS was inhibited by CGP55845 alone and by CGP55845 co-applied with acetazolamide. D. Mean responses from 3 episodes of TBS obtained from a cell in control ACSF (*left*), in presence of CGP55845 (*middle*) and CGP55845 + acetazolamide (*right*). Note that the slow inward current generated during the application of the GABA<sub>B</sub> receptor antagonist disappeared when acetazolamide was added. The dotted line corresponds to the baseline level before the delivery of TBS.

Figure 5: LTP of IPSCs is reduced by a group I/II mGluR antagonist and is abolished by postsynaptic Ca<sup>2+</sup> chelation.

A. Representative IPSCs recorded before and after TBS during perfusion with 500  $\mu$ M E4-CPG ( $a_1$ ) and in a cell loaded with 10 mM BAPTA ( $a_2$ ). B. The average IPSC amplitudes show a considerable decrease in the potentiation of IPSCs in E4-CPG ( $\bullet$ ) and the prevention of LTP when cells were loaded with BAPTA ( $\diamond$ ). Data for cells recorded with a standard patch solution (TBS alone  $\circ$ ; 0.5 mM EGTA; see methods) has been added for comparison (same as in Fig. 3). C. Summary histogram illustrating

that TBS-induced potentiation of IPSCs is inhibited by 500  $\mu$ M E4-CPG and blocked by 10 mM BAPTA.

Figure 6: Short-term potentiation of unitary IPSCs during paired interneuron-pyramidal cell recordings.

A. Superimposed average uIPSCs including ( $a_1$ ) and excluding ( $a_2$ ) failures recorded from a representative lacunosum-moleculare interneuron-pyramidal cell pair (LM-PYR) in control, 90 sec and 180 sec after TBS. The pyramidal cell soma was held at -40mV (holding potential ( $V_h$ ), top traces). uIPSCs were generated by a single spike (membrane potential ( $V_m$ ), middle traces) evoked by somatic current injection (bottom traces) in the interneuron in current-clamp mode. B. Histograms of average uIPSCs including failures ( $b_1$ ), average failure rate ( $b_2$ ) and average uIPSCs excluding failures ( $b_3$ ) for all pairs tested ( $n=3$ ). The transient increase in uIPSCs following TBS is accompanied by a decrease in the failure rate of synaptic transmission (\*  $p < 0.05$ ).



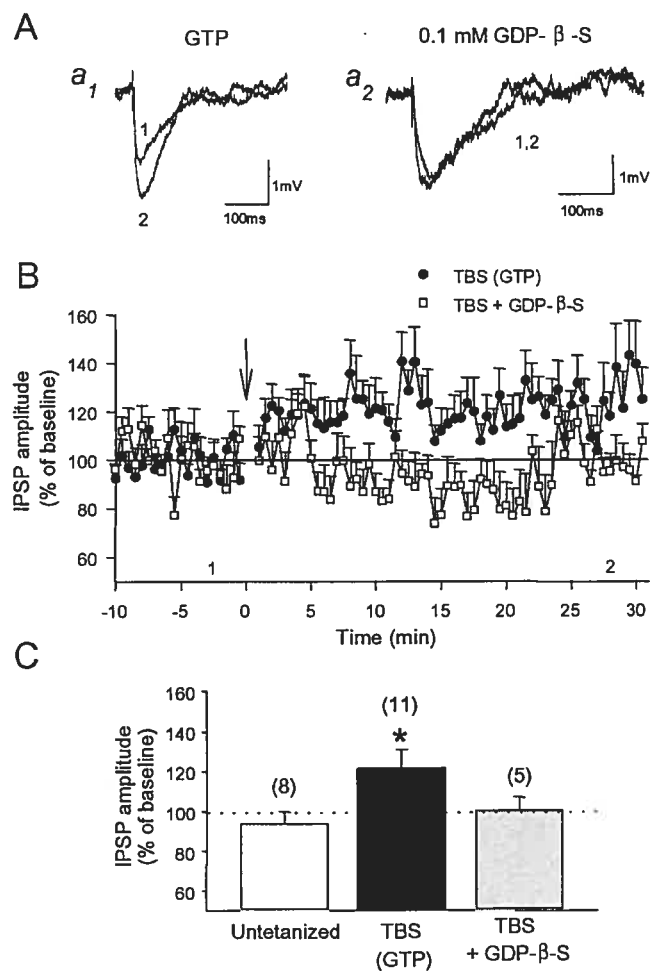


Figure 2

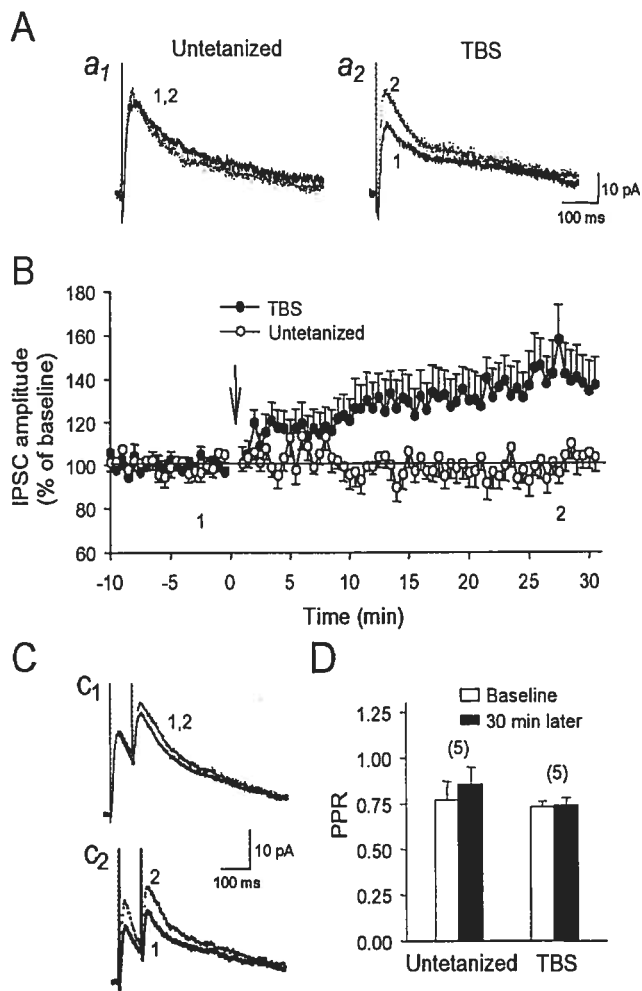


Figure 3

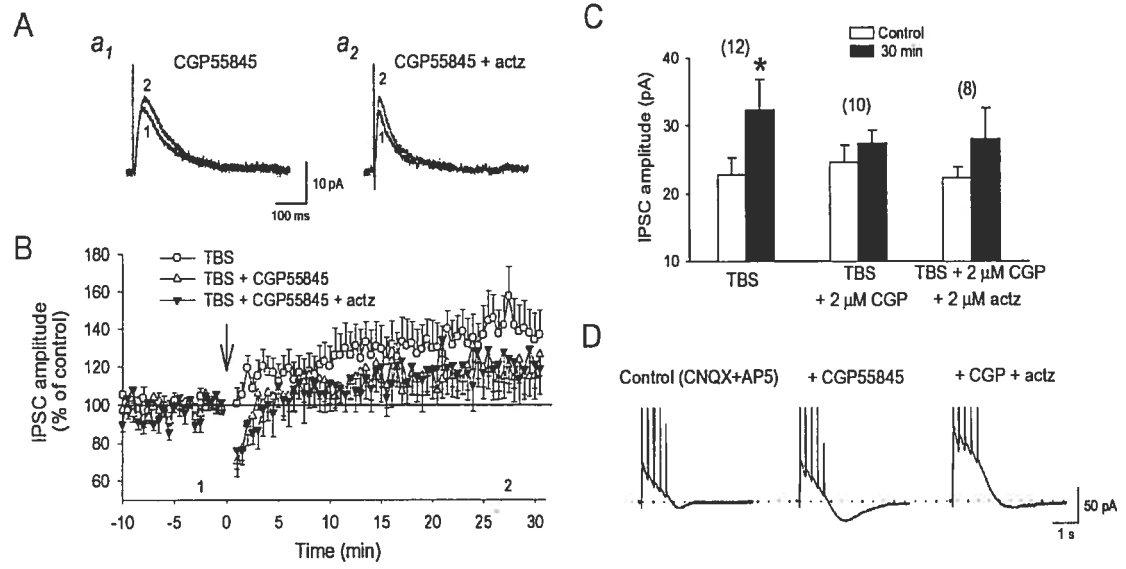


Figure 4

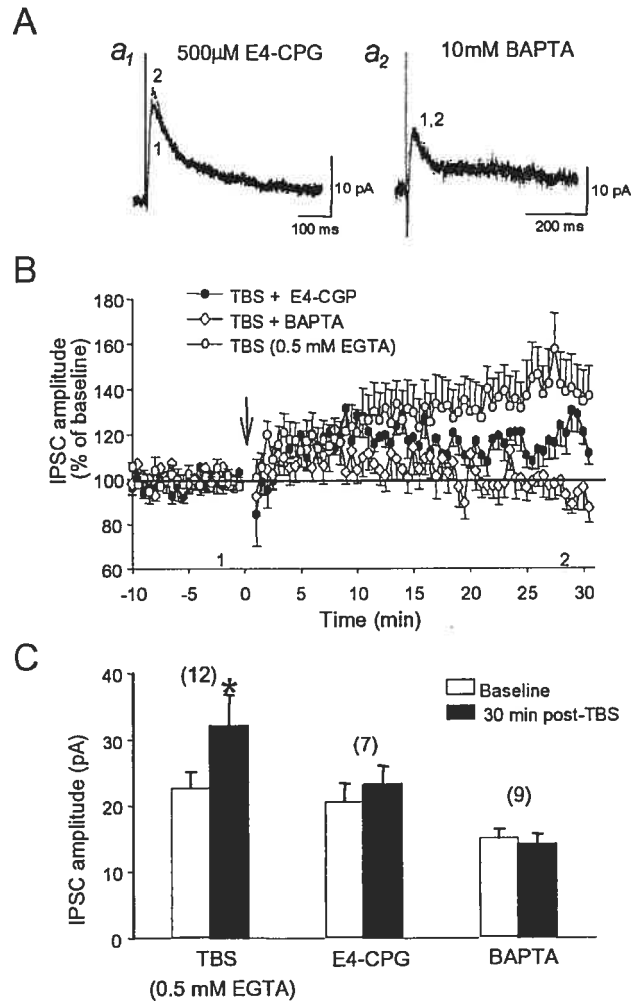


Figure 5

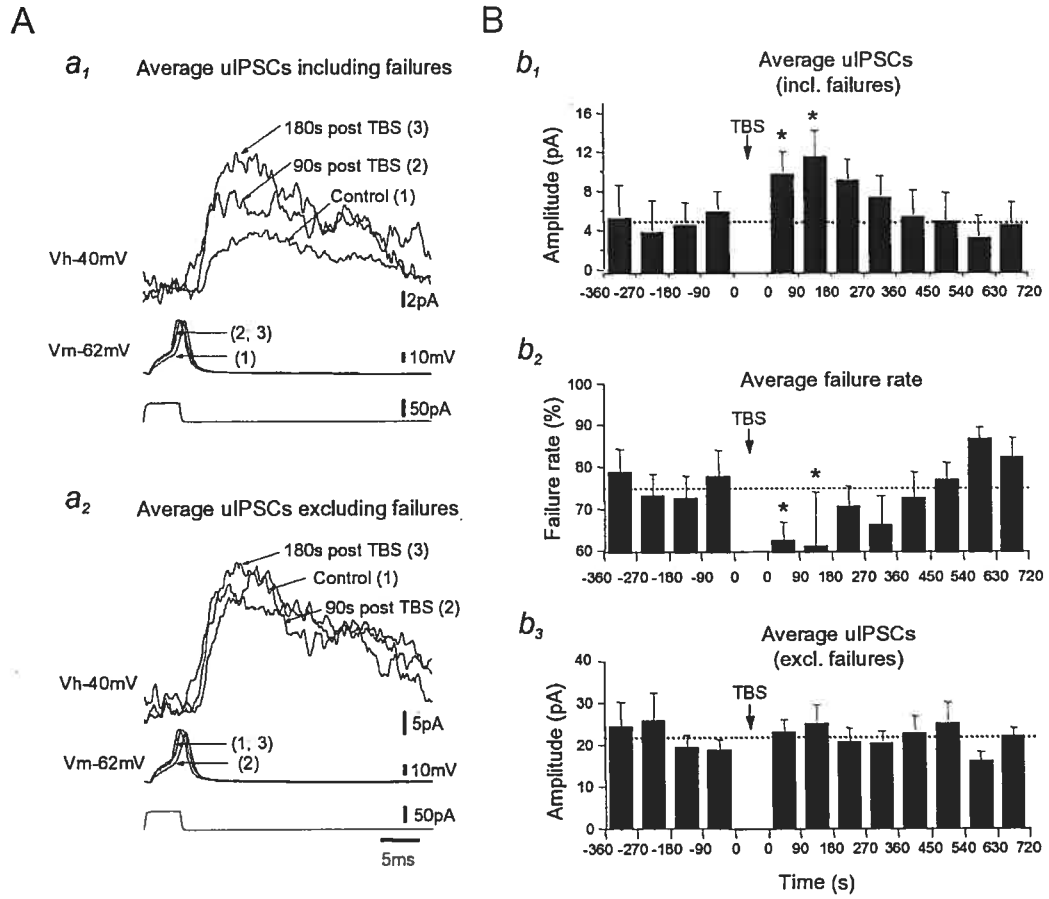


Figure 6



## **CHAPITRE 3**

# **SPÉCIFICITÉ CELLULAIRE DE LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE GABA ET DE LA PLASTICITÉ DÉPENDANTE DE L'ACTIVITÉ DANS LES INTERNEURONES DE LA COUCHE RADIATUM DE L'HIPPOCAMPE DE RAT**

**Cell-type specific GABA synaptic transmission and activity-dependent  
plasticity in rat hippocampal stratum radiatum interneurons**

Christian Patenaude, Guy Massicotte and Jean-Claude Lacaille\*

Centre de Recherche en Sciences Neurologiques et Département de Physiologie,  
Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada H3C 3J7

**Manuscript en révision dans  
European Journal of Neuroscience, mai 2005**

**ABSTRACT**

In hippocampal pyramidal cells, the efficacy of synaptic transmission at GABAergic synapses, is modulated by activity. However, whether such plasticity occurs at inhibitory synapses on interneurons remains largely unknown. Using whole cell voltage-clamp recordings of inhibitory postsynaptic currents (IPSCs) in rat hippocampal slices, we examined if GABA synapses of stratum radiatum interneurons were affected by stimulation protocols known to alter efficacy at inhibitory synapses of CA1 pyramidal cells. Monosynaptically evoked IPSCs exhibited different properties with significantly faster kinetics, higher coefficients of variation, an I-V relationship shifted to depolarized values and a smaller paired-pulse depression, in interneurons than in pyramidal cells. GABA synapses on interneurons also showed a different capacity for plasticity. Indeed, theta-burst stimulation induced a long-term potentiation of eIPSCs in both cell types, but the induction mechanisms differed in interneurons since it was not affected by antagonists of GABA<sub>B</sub> receptors and group I/II mGluRs. Furthermore, 100 Hz tetanization selectively elicited a short-term depression of eIPSCs in pyramidal cells. A postsynaptic depolarization produced a transient suppression of eIPSCs (depolarization-induced suppression of inhibition) in pyramidal cells but not in interneurons. Spontaneous IPSCs were similarly reduced following depolarization in pyramidal cells, but not in interneurons. These results indicate that GABA synapses of stratum radiatum interneurons exhibit different properties and capacity for activity-dependent plasticity than those of pyramidal cells. This cell-type specific mode of transmission and adaptive regulation of GABA synapses may contribute to hippocampal plasticity and functions.

## INTRODUCTION

Activity-dependent synaptic plasticity have largely focused on central glutamatergic excitatory synapses (Malenka & Nicoll, 1999). Growing evidence indicate that synaptic transmission at GABA synapses is also modulated by neuronal activity, via multiple activity-dependent changes and in a region-specific manner (Gaiarsa *et al.*, 2002). GABA synaptic responses can be transiently depressed by  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent mechanisms after a postsynaptic membrane depolarization in hippocampal pyramidal cells and cerebellar Purkinje cells (depolarization-induced suppression of inhibition, DSI) (Llano *et al.*, 1991; Pitler & Alger, 1992). In the latter, DSI is followed by a depolarization-induced potentiation of inhibition and a rebound potentiation, which respectively arise from an increase in GABA release by retrograde activation of presynaptic N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors and an enhancement in postsynaptic GABA<sub>A</sub> receptor responsiveness (Kano *et al.*, 1996; Duguid & Smart, 2004). GABAergic synaptic transmission also exhibit long-term depression (LTD) or long-term potentiation (LTP) in immature hippocampal pyramidal cells, which depends on activation or blockade of NMDA receptors, respectively (McLean *et al.*, 1996). High frequency stimulation and coincident pre- and postsynaptic activity have also been shown to elicit long-term modifications at GABA synapses onto CA1 pyramidal cells (Lu *et al.*, 2000; Shew *et al.*, 2000; Chevaleyre & Castillo, 2003; Woodin *et al.*, 2003).

Synaptic mechanisms differ at glutamatergic mossy fiber synapses of dentate gyrus interneurons and CA3 pyramidal cells (Geiger *et al.*, 1997), as well as between mossy fiber synapses of CA3 interneurons and pyramidal cells (Lei & McBain, 2002; Walker *et al.*, 2002). The types of short- and long-term synaptic plasticity expressed at these interneuron vs pyramidal cell glutamate synapses was also shown to be different (Maccaferri & McBain, 1996; McMahon & Kauer, 1997; Cowan *et al.*, 1998; Christie *et al.*, 2000; Aaron & Dichter, 2001; Perez *et al.*, 2001). Similar cell-type specific regulation of synaptic transmission also exists at hippocampal GABA synapses since IPSC kinetics were reported to be different between CA1 interneurons and pyramidal cells (Hájos & Mody, 1997) as well as between dentate basket cell-basket cell synapses vs basket cell-principal cell synapses (Bartos *et al.*, 2001, 2002). Moreover, although Hoffmann *et al.* (2003) reported recently that a postsynaptic depolarization fails to

induce DSI in interneurons, information about the plastic properties of GABA synapses is largely lacking in hippocampal inhibitory interneurons. Nevertheless, plasticity at these synapses may be important for our understanding of network alterations during hippocampal plasticity.

We recently found that theta-bursts stimulation induces LTP at GABA synapses of pyramidal cells (Patenaude *et al.*, 2003). Given the heterogeneous properties of glutamate synaptic mechanisms and plasticity in pyramidal cells and interneurons, we examined if plasticity of GABA synapses differs between interneurons and pyramidal cells. Specifically, we explored whether theta-bursts stimulation (TBS), high frequency stimulation (HFS) and a postsynaptic depolarization, three paradigms known to respectively induce LTP, a short-term depression and a transient suppression of inhibitory synaptic transmission in pyramidal cells (Pitler & Alger, 1992; Patenaude *et al.*, 2003), produced similar effects in interneurons. Our results reveal that GABA synapses on CA1 stratum radiatum interneurons exhibit differences in synaptic transmission and plasticity.

## **METHODS**

### *Slice preparation*

All experiments were carried out according to the guidelines of the local Animal Care Committee at Université de Montréal. Male Sprague-Dawley rats (4-6 weeks) were anesthetized by inhalation with 2% halothane (MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario, Canada) and decapitated. Brains were removed and placed in cold oxygenated (95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>) artificial cerebrospinal fluid (ACSF) containing (in mM): 124 NaCl, 5 KCl, 1.25 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 MgSO<sub>4</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 26 NaHCO<sub>3</sub> and 10 dextrose (pH~7.4, 295-310 mOsm). Hippocampal slices (300 µm) were prepared with a Leica VT1000S microtome (Leica Microsystems, Heidelberg, Germany), were allowed to recover for at least 1h and were transferred to a recording chamber continuously perfused at 2-3 ml min<sup>-1</sup> with oxygenated ACSF at room temperature. Neurons located in the CA1 region were identified visually with the aid of an upright microscope (Zeiss Axioskop,

Thornwood, NY, USA) equipped with a long-range water immersion objective (40X, Nomarski optics) and an infrared camera (Cohu 6500, San Diego, CA, USA).

### *Whole-cell recording*

Patch pipettes (3-6 M $\Omega$ ) were pulled from borosilicate capillaries (o.d.: 1.0 mm, i.d.: 0.58 mm) on a P-97 Flaming-Brown micropipette puller (Sutter Instrument Co., Novato, CA, USA). Patch pipettes were filled either with (in mM): 140 K-gluconate, 5 NaCl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 10 N-2-hydroxyethylpiperazine-*N'*-2-ethanesulfonic acid (HEPES), 0.5 ethylene glycol-bis( $\beta$ -aminoethyl ether)-*N,N,N',N'*-tetraacetic acid (EGTA), 10 phosphocreatine, 2 ATP-tris, 0.4 GTP-tris and 0.1-0.2 % biocytin (pH adjusted to 7.2-7.3 with KOH, 275-285 mOsm) for experiments with theta burst (TBS) or high frequency stimulation (HFS), or with (in mM) 100 CsMeSO<sub>3</sub>, 60 CsCl, 10 HEPES, 1 MgCl<sub>2</sub>, 0.2 EGTA, 5 QX-314, 2 ATP-tris, 0.4 GTP-tris and 0.1-0.2 % biocytin (pH adjusted to 7.2-7.3 with CsOH, 280-290 mOsm) for DSI experiments. Whole-cell voltage-clamp recordings were made at room temperature from CA1 pyramidal cells or interneurons located in stratum radiatum (RAD), near stratum lacunosum-moleculare border, using a Multi-Clamp 700A amplifier (Axon Instruments, Foster City, CA, USA). In some experiments, current pulses (1 sec duration, -100 to 450 pA in 50 pA increments) were given in current-clamp mode to verify the cell firing pattern. Cells were discarded if the series resistance varied by more than 20% during the course of an experiment. After recordings, slices containing biocytin-filled cells were processed for a morphological identification, as previously described (Chapman & Lacaille, 1999b; Patenaude *et al.*, 2003).

### *Electrical stimulation and data analysis*

Synaptic responses were evoked by monophasic constant current pulses (50  $\mu$ sec) delivered through a stimulus isolation unit (WPI-A360, World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA) to a concentric bipolar stimulating electrode (Frederick Haer Co., Bowdoinham, ME, USA) placed in stratum radiatum of CA1 area. Inhibitory responses were low-pass filtered at 2 KHz (-3 dB), analog-filtered at 1 KHz (8 pole bessel filter model 900, Frequency Devices, Haverhill, MA, USA) and digitized at 5 or

10 KHz on a PC computer using a Digidata 1200 interface and pClamp9 software (Axon Instr.). Monosynaptic inhibitory postsynaptic currents (eIPSCs) were isolated by the addition of 20  $\mu$ M 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) and 50  $\mu$ M ( $\pm$ )-2-amino-5-phosphopentanoic acid (AP5) to block ionotropic glutamate receptors. To determine the effect of TBS and HFS, eIPSCs were evoked at low frequency (0.033 Hz) for a 10 min stable baseline period at stimulation intensity adjusted for IPSCs of approximately 50% maximum amplitude. Slices then received either three episodes of TBS (each episode composed of five bursts separated by 200 ms, each burst consisting of four 100  $\mu$ sec pulses at 100 Hz) or three trains of HFS (100  $\mu$ sec pulses repeated at 100 Hz for 1 sec) delivered at 30 sec intervals. Stimulation parameters were then returned to baseline and eIPSCs were recorded for 30 min. Average eIPSCs during the last 5 min of baseline period were compared to those acquired 2.5 or 30 min following tetanization. The delivery of paired stimuli (75 ms interval) allowed to measure the paired-pulse ratio (PPR), which was obtained by comparing the amplitude of the second IPSC relative to the first one ( $PPR = IPSC_2 / IPSC_1$ ). In pyramidal cells, the first IPSC had not fully recovered when the second pulse was delivered and so, the decaying phase of the first IPSC served as baseline for the second IPSC. The coefficient of variation ( $CV^2$ ) and reversal potential of IPSCs ( $E_{IPSCs}$ ) were determined prior to tetanization.  $CV^2$  was calculated using the equation  $CV^2 = SD^2 / M^2$ , where M is the mean IPSC amplitude and SD is the standard deviation of the responses (Malinow & Tsien, 1990). IPSC reversal potential ( $E_{IPSC}$ ) was obtained by a linear fit of the peak IPSCs measured at different membrane potentials (from -50 to -75 mV, in 5 mV increments).

For DSI experiments, eIPSCs were evoked at 0.2 Hz before and after postsynaptic membrane depolarization from -70 to 0 mV for periods lasting 1, 3 and 5 sec. For each voltage step duration, five DSI episodes were elicited at 120 sec intervals and averaged. Mean DSI was expressed as the percent decrease in the amplitude of the first 3 eIPSCs immediately after the depolarization relative to the 5 control IPSCs preceding the depolarization ( $DSI = 100 (1 - (amp_{after} / amp_{before}))$ ). DSI was also assessed on spontaneous IPSCs (sIPSCs), which were measured in the same cells with a detection threshold set at 2-3 times the rms of the background noise, and were accepted after

visual inspection. The mean DSI of sIPSCs was obtained by measuring the cumulative charge transfer (sum of area under all sIPSCs) in the 5-sec period after the depolarization (lasting 5 sec) relative to the sIPSCs taken 5 sec prior to the depolarizing step. The first second of data following the depolarization was discarded to eliminate the influence of voltage-dependent currents on sIPSCs. All data are expressed as mean  $\pm$  SEM. Differences were considered significant at  $p < 0.05$  using Student's t-tests or ANOVAs.

## RESULTS

### Different properties of IPSCs in radiatum interneurons

Growing body of evidence indicates that some inhibitory fibers contacting RAD interneurons and pyramidal cells may originate from distinct sources and exhibit different properties. For instance, some hippocampal interneurons are specialized to selectively innervate other interneurons (Acsády *et al.*, 1996; Gulyás *et al.*, 1996), and interneurons may receive selective inputs from septal GABAergic afferents (Freund & Antal, 1988). In addition, inhibitory afferents from a common source may have target-specific mechanisms (Gupta *et al.*, 2000). Thus, we first characterized the basic mechanisms of GABA synapses between RAD interneurons located near the lacunosum-moleculare border and pyramidal cells. With cells held at  $-50$  to  $-55$  mV and with potassium gluconate as the main electrolyte, monosynaptic fast eIPSCs consisted of outward currents (Fig. 1). These eIPSCs were completely blocked by  $25 \mu\text{M}$  bicuculline, confirming that they were GABA<sub>A</sub> receptor mediated ( $n=10$ ; data not shown). The analysis of eIPSC kinetics revealed that the rise time and the width at half amplitude of eIPSCs were faster in interneurons (Fig 1A). The current-voltage (I-V) relationship of eIPSCs also proved to be different and the observed reversal potential of eIPSCs ( $E_{\text{eIPSC}}$ ) was shifted by  $\sim 5$  mV toward positive values in interneurons (Fig. 1B). We next tested if presynaptic GABA release properties also differed in RAD interneurons by measuring the paired-pulse depression of eIPSCs. Consistent with differential release mechanisms, we found that the depression of the second IPSC (75 ms interval) was significantly less in interneurons (Fig. 1C). Additionally, the coefficient of



variation ( $CV^2$ ) of eIPSCs was twofold higher in interneurons (Fig. 1D). Given that stimulation was applied in stratum radiatum, the faster time course of eIPSCs in RAD interneurons may simply result from a somatic origin of eIPSCs in these cells relative to a dendritic origin for those in pyramidal cells. In an attempt to verify this possibility, we measured the amplitude, rise time and decay time constants of sIPSCs recorded with a high chloride intracellular solution. These measurements revealed that sIPSCs had a similar amplitude in interneurons and pyramidal cells, but exhibited slower rise time and faster decay time in RAD interneurons. The properties of eIPSCs and sIPSCs in RAD interneurons and pyramidal cells are summarized in Table 1. Taken together, these results indicate important basic differences in IPSC properties and presynaptic GABA release mechanisms at GABA synapses on RAD interneurons and pyramidal cells.

### **TBS-induced LTP in RAD interneurons**

Because some basic properties of eIPSCs were different in RAD interneurons and pyramidal cells, we investigated if activity-dependent plasticity also differed at these synapses. Theta-burst stimulation (TBS) has previously been demonstrated to induce long-term potentiation (LTP) of monosynaptic GABA<sub>A</sub> transmission in pyramidal cells (Perez *et al.*, 1999; Patenaude *et al.*, 2003). We therefore examined whether LTP could also be elicited at GABA synapses impinging on RAD interneurons. As shown in Fig. 2, TBS significantly increased the amplitude of eIPSCs in pyramidal cells, and this potentiation persisted for at least 30 min ( $127 \pm 6\%$  of control,  $n=10$ ; Fig. 2B). In individual cells, the significant potentiation was observed in 7 out of 10 pyramidal cells and reached  $137 \pm 2\%$  of control (Fig 2A, C;  $n=7$ ). For RAD interneurons, TBS also induced a significant increase in eIPSCs at 30 min post-TBS for all cells tested ( $130 \pm 14\%$  of control; Fig 2E;  $n=10$ ). In individual cells, LTP induction was less consistent in RAD interneurons and half of them (5/10) displayed a significant increase in eIPSCs (Fig. 2E). In these five cells, the potentiation of eIPSCs reached  $163 \pm 18\%$  of control at 30 min post-TBS (Fig. 2D, F;  $n=5$ ). To test if the variability was due to heterogeneous subgroups, we compared the membrane and IPSC properties of RAD interneurons with and without LTP. As indicated in Table 2, we did not find any

significant differences in these parameters between interneurons expressing or not LTP. In pyramidal cells, TBS-induced LTP of IPSCs depends on the cooperative activation of postsynaptic GABA<sub>B</sub> receptors and group I/II metabotropic glutamate receptors (Patenaude *et al.*, 2003). We confirmed this and found that combined application of antagonists for GABA<sub>B</sub> receptors, 5  $\mu$ M CGP 55845, and group I/II mGluRs, 500  $\mu$ M E4-CPG, abolished LTP of eIPSCs in pyramidal cells ( $102 \pm 8$  % of control; n=4). We tested if LTP in RAD interneurons involved similar mechanisms. In contrast to pyramidal cells, combined application of CGP 55845 and E4-CPG did not prevent LTP in interneurons (LTP incidence: 3 of 7 cells tested). The magnitude of potentiation was not affected and eIPSCs were potentiated to  $149 \pm 19$  % of control at 30 min post-TBS in cells with LTP (Fig. 2D, F; n=3). Thus, long-lasting facilitation of GABA synaptic transmission following rhythmic stimulation at theta frequency is a phenomenon expressed in RAD interneurons and pyramidal cells, but the induction mechanisms appear different in RAD interneurons.

#### **Absence of tetanization-induced short-term depression of IPSCs in RAD interneurons**

We previously reported that 100 Hz tetanic stimulation resulted in a transient depression (approximately 2-5 min) of inhibitory synaptic transmission in adult CA1 pyramidal cells, and that this depression could involve presynaptic mechanisms since both GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> components of IPSPs were affected (Patenaude *et al.*, 2003). We observed a similar depression of eIPSCs 2.5 min after HFS in pyramidal cells ( $71 \pm 5$  % of control;  $p < 0.05$ ; Fig. 3A, B; n=8) and found that, consistent with a presynaptic mechanism, the depression was associated with a significant difference in the paired-pulse ratio (PPR) of eIPSCs ( $0.64 \pm 0.03$  in control vs  $0.80 \pm 0.05$  after HFS; Fig. 3C). IPSC amplitude and PPR returned to control levels within 5-10 min and remained constant for the 30 min period post-tetanus (amplitude:  $111 \pm 9$  % of control; PPR:  $0.68 \pm 0.04$ ). In contrast, this transient short-term depression was not seen in RAD interneurons following similar stimulation (Fig. 3D-F, n=8). eIPSCs and PPR remained unchanged at 2.5 min (IPSCs:  $94 \pm 25$  % of control; PPR:  $0.91 \pm 0.05$  during control vs

$0.94 \pm 0.08$  at 2.5 min post-HFS) and at 30 min (IPSCs:  $91 \pm 15$  % of control; PPR:  $1.05 \pm 0.07$ ) post-HFS. These results indicate that the short-term depression of GABA IPSCs following 100 Hz stimulation may be due to a presynaptic reduction in GABA release that occurs exclusively at GABA synapses on pyramidal cells and not at those on RAD interneurons. Thus, GABA synapses show target-specific short-term depression in CA1 hippocampus.

### **Absence of DSI in RAD interneurons**

Depolarization-induced suppression of inhibition (DSI) is characterized by a transient suppression of inhibitory synaptic responses due to type 1 cannabinoid receptor (CB1R) activation on GABAergic presynaptic terminals (Wilson & Nicoll, 2001). Recent data suggest that DSI may be differentially expressed in hippocampal pyramidal cells and interneurons (Hoffman *et al.*, 2003). We examined whether this was the case for RAD interneurons. Depolarization of pyramidal cells for 1 sec resulted in a significant reduction of eIPSC amplitude in 6 of 7 cells (average %DSI:  $35 \pm 10$  %; Fig. 4A, C). Longer depolarizing pulses of 3 and 5 sec resulted in similar DSI that reached  $50 \pm 9$  % (n=6) and  $41 \pm 8$  % (n=6), respectively. In contrast, depolarization of RAD interneurons for 1 sec did not affect eIPSCs in any of the 7 cells tested (average %DSI:  $-5 \pm 5$  %; Fig. 4B, C). Depolarization of longer duration did not uncover any DSI in interneurons (for 3 sec, average %DSI:  $-9 \pm 4$  %; for 5 sec, average %DSI:  $-8 \pm 14$  %; n=5).

Because CB1R are primarily present on interneurons immunoreactive for cholecystokinin (Katona *et al.*, 1999; Marsicano & Lutz, 1999; Tsou *et al.*, 1999) and these interneurons represent only a fraction of the interneuron population, the absence of DSI in RAD interneurons may reflect the fact that the stimulation paradigm used was not effective in recruiting cholecystokinin inhibitory afferents with CB1Rs. Therefore we examined if spontaneous IPSCs (sIPSCs), which arise from a large number of inhibitory afferents, could undergo DSI in RAD interneurons. In our conditions, we found that sIPSCs were significantly suppressed by a mean level of  $27.5 \pm 13.3$  % in pyramidal cells at 5 sec following depolarizing pulses (Fig. 5A, C;  $p < 0.05$ ; n=6). In

contrast, no change in sIPSCs was observed following similar depolarization in RAD interneurons (Fig. 5B, C; %DSI  $4.5 \pm 7.5$ ;  $p = 0.8$ ;  $n=6$ ). These results extend those reported recently by Hoffman et al. (2003) and indicate that DSI is differentially expressed at GABA synapses of pyramidal cells and RAD interneurons.

### **Morphological features of RAD interneurons**

The inclusion of biocytin in the patch solution allowed us to examine the morphology of RAD interneurons. From twenty-seven RAD interneurons recorded, eighteen showed sufficient labeling to be characterized anatomically. Unfortunately, the axon of these cells were only partially stained and we were unable to completely reconstruct their axonal arborization. Because of the absence of clear output morphology, as well as of the similar synaptic properties (IPSC kinetics, I-V relationship, PPR,  $CV^{-2}$ ; data not shown) and plasticity among RAD interneurons, these cells were pooled together in a single group. Figure 6A/B illustrates two examples of typical biocytin-labelled interneurons recorded in stratum radiatum, and Figure 6C summarizes the differential effects of TBS, HFS, and postsynaptic membrane depolarization on IPSCs recorded from pyramidal cells and RAD interneurons.

## **DISCUSSION**

In the present study, we investigated the properties of transmission and plasticity of GABA synapses in stratum radiatum interneurons. Our results indicate that the properties of evoked and spontaneous GABA<sub>A</sub> postsynaptic currents are different in these interneurons since they exhibit different kinetics, higher coefficients of variation, a depolarized I-V relationship and smaller paired-pulse depression than those in pyramidal cells. GABA synapses on these interneurons were further distinguishable by their capacity for synaptic plasticity. TBS induced long-term potentiation of eIPSCs was similar in magnitude in interneurons and pyramidal cells but differed in induction mechanisms, whereas HFS elicited short-term depression only in pyramidal cells and not in interneurons. Similarly, postsynaptic membrane depolarization resulted in a transient suppression of evoked and spontaneous IPSCs in pyramidal cells but not in interneurons.

These different functional properties of GABA synapses suggest that inhibitory synaptic transmission contribute in a cell-type specific manner to hippocampal function.

We were unable to confirm the specific morphological subtype of RAD interneurons because of an incomplete axonal labelling. Nevertheless, two different patterns of dendritic arborization were observed among these cells. Some interneurons had stellate-like oriented dendrites extending in stratum radiatum and occasionally crossing the pyramidal cell layer and stratum lacunosum-moleculare, similar to the Schaffer-associated interneurons previously reported at the border between stratum radiatum and lacunosum-moleculare (Vida *et al.*, 1998). Other interneurons were reminiscent of RLM cells described by Hájos and Mody (1997) and had aspiny vertically oriented dendrites descending in stratum radiatum and often reaching stratum oriens and the alveus, with only short dendrites entering stratum lacunosum-moleculare. This putative morphological identification will need to be confirmed with complete staining of dendritic and axonal arborizations of interneurons.

### **Different properties of GABA synapses in interneurons**

Previous studies that investigated the properties of interneuron inhibitory responses showed that spontaneous IPSCs displayed similar (Atzori, 1996) or slower (Hájos & Mody, 1997) kinetics in hippocampal interneurons than in pyramidal cells. In contrast, our data indicating that eIPSCs are significantly faster in RAD interneurons are consistent with the rapid signaling observed at inhibitory synapses of dentate gyrus basket cells (Bartos *et al.*, 2001). These apparently conflicting results may reflect the high degree of diversity of GABA<sub>A</sub> receptor-mediated synaptic mechanisms within or among interneuron subgroups (Hájos & Mody, 1997; Bacci *et al.*, 2003). In our experiments, electrical stimulation in stratum radiatum could have preferentially activated dendritic GABA synapses of pyramidal cells, whereas for RAD interneurons, the location of the activated synapses could have been more proximal to the soma. This would be consistent with the observations that GABAergic terminals appear to be more abundant in perisomatic and proximal dendritic regions of interneurons (Gulyás *et al.*, 1999). However, if slower eIPSCs in pyramidal cells had been simply caused by electrotonic filtering and selective activation of afferents, we would have expected to

find sIPSCs with similar kinetics in pyramidal cells and interneurons because these responses arise from heterogeneous populations of GABA synapses located over the somatodendritic compartment. In contrast, sIPSCs also exhibited a slower decay time in pyramidal cells. Thus, the selective activation of dendritic vs somatic GABA synapses in pyramidal cells and interneurons, respectively, is unlikely to be fully responsible for the slower eIPSC in pyramidal cells.

Another factor that might contribute to the difference in IPSCs between pyramidal cells and RAD interneurons is the assembly of different GABA<sub>A</sub> receptor subunits. Indeed, immunohistochemical studies demonstrated that subpopulations of interneurons show intense immunoreactivity for  $\alpha 1$  subunit (Gao & Fritschy, 1994; Fritschy & Möhler, 1995) whereas pyramidal cells are immunoreactive for  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  and  $\alpha 5$  subunits (Fritschy & Möhler, 1995; Nusser *et al.*, 1996). Interestingly, faster IPSC decay times in interneurons is consistent with the reported faster kinetics of deactivation and/or desensitization of GABA<sub>A</sub> receptors composed of  $\alpha 1$  versus  $\alpha 2$  subunits (Okada *et al.*, 2000; Vicini *et al.*, 2001). Moreover, GABA<sub>A</sub> receptors in stratum radiatum interneurons display lower sensitivity to picrotoxin and smaller unitary conductance than those in pyramidal cells, further supporting a cell-type specific molecular heterogeneity of GABA<sub>A</sub> receptors (Semyanov & Kullmann, 2002). Finally, a cell-type specific regulation of GABA<sub>A</sub> receptor function by protein kinases in hippocampal neurons (Nusser *et al.*, 1999; Poisbeau *et al.*, 1999) may also be involved in determining IPSC properties. However, such selective modulation is unlikely to be fully responsible for the difference in IPSC kinetics because phosphorylation of GABA<sub>A</sub> receptors has been shown to affect mainly the decaying phase of inhibitory responses (Jones & Westbrook, 1997; Nusser *et al.*, 1999).

Moreover, our data show that there is a difference in the I-V relationship of eIPSCs between pyramidal cells and interneurons. This discrepancy is unlikely to result from a differential regulation of intracellular chloride homeostasis since these values were obtained in whole-cell configuration, in which the large reservoir of Cl<sup>-</sup> ions in the pipette solution determines the Cl<sup>-</sup> equilibrium. Because the same recording solution was used for pyramidal cells and interneurons, the IPSC reversal potential should be

similar in both cell types. Hence, the difference in I-V relationship and  $E_{IPSC}$  observed between RAD interneurons and pyramidal cells may rather result from a distinct permeability of GABA<sub>A</sub> channels to Cl<sup>-</sup> and/or bicarbonate ions (Thompson, 1994). We cannot rule out also the possibility that space-clamp problems due to activation of GABA<sub>A</sub> receptors located at different electrotonic distances, could have contributed to the depolarized  $E_{IPSCs}$  in RAD interneurons.

### **Differential plasticity at GABA synapses of interneurons**

In pyramidal cells, long-term enhancement of GABA<sub>A</sub> neurotransmission by TBS requires the cooperative activation of postsynaptic GABA<sub>B</sub> receptor- and group I/II metabotropic glutamate receptor (mGluR) signaling pathways (Patenaude *et al.*, 2003). Although GABA<sub>B</sub> receptors and group I/II mGluRs are expressed and functional in GABAergic interneurons (Lacaille, 1991; Khazipov *et al.*, 1995; van Hooft *et al.*, 2000; Kulik *et al.*, 2003; Ferraguti *et al.*, 2004), these receptors are not involved in TBS-induced LTP in RAD interneurons because LTP was still induced during their blockade. The mechanisms implicated in this persistent enhancement of GABAergic synaptic transmission remain unexplored, but several signaling pathways may potentially participate in this process. For instance,  $\alpha_1$ -adrenoceptor- and 5-HT<sub>2</sub> receptor-mediated inositol triphosphate formation and Ca<sup>2+</sup> release from internal stores promote LTP at visual cortical inhibitory synapses (Komatsu, 1996). Also neuropeptide Y application has been shown to induce a long-lasting increase of GABAergic neurotransmission in layer V pyramidal cells of neocortex (Bacci *et al.*, 2002). Finally, metabotropic P2Y purinoceptor agonists have recently been reported to mediate LTP of GABAergic synaptic transmission in cerebellar Purkinje cells through an increase in postsynaptic GABA<sub>A</sub> receptor sensitivity resulting from activation of Ca<sup>2+</sup> stores and intracellular Ca<sup>2+</sup> elevation (Saitow *et al.*, 2005). Additional investigations are therefore needed to clarify the mechanisms of LTP at GABA<sub>A</sub> synapses in RAD interneurons.

In pyramidal cells, short-term depression of GABA synapses induced by HFS was suggested to result from a depletion of releasable vesicles (Patenaude *et al.*, 2003). In support of such presynaptic mechanisms, we demonstrated that the depression of eIPSCs in pyramidal cells was associated with a change in paired-pulse depression.

Because GABA synapses of pyramidal cells exhibit robust paired-pulse depression, these GABA terminals may be characterized by a high probability of release and thus, be particularly susceptible to depletion of releasable vesicles by repetitive stimulation. In contrast, eIPSCs in interneurons showed less paired-pulse depression, indicating that these terminals have a lower probability of release. They may thus be less susceptible to depletion of releasable vesicles and not show depression. The diversity of release properties at GABA terminals we found among different hippocampal cell types is consistent with the heterogeneous release properties in neocortical inhibitory networks reported recently (Gupta *et al.*, 2000; Beierlein *et al.*, 2003).

The functional heterogeneity of GABA synapses was further emphasized by the observation that DSI was reliably induced in pyramidal cells but not in interneurons. Because DSI in pyramidal cells results from the release of endocannabinoids and retrograde activation of presynaptic CB1Rs (Ohno-Shosaku *et al.*, 2001; Wilson & Nicoll, 2001), its absence in RAD interneurons implies that inhibitory afferents to interneurons are either deprived of CB1Rs, and thus probably originate from cholecystinin-negative interneurons (Tsou *et al.*, 1999), or that postsynaptic depolarization does not lead to release of endocannabinoids in these cells. The latter possibility seems the most likely explanation since Hoffmann *et al.* (2003) showed that WIN55,212-2, a CB1R agonist, was capable of reducing sIPSCs in stratum radiatum interneurons, even though no DSI was detected in these cells.

## Conclusion

We found that in analogy to glutamate excitatory synapses which show different properties and mechanisms of plasticity in interneurons versus pyramidal cells (Maccaferri & McBain, 1996; Perez *et al.*, 2001; Bischofberger & Jonas, 2002; Lapointe *et al.*, 2004), GABA synapses also display cell-type specific properties of transmission and plasticity. Given that the source of inhibitory inputs onto pyramidal cells and interneurons may originate from the same (Nunzi *et al.*, 1985; Acsády *et al.*, 1996; Atzori, 1996) or distinct (Freund & Antal, 1988; Acsády *et al.*, 1996; Gulyás *et al.*, 1996) interneurons, it remains to be determined if the distinct properties of transmission and plasticity in pyramidal cells and interneurons depend on postsynaptic cells (target-



specificity), presynaptic fibers (afferent-specificity), or both. To resolve this issue, inhibitory synaptic responses recorded simultaneously in pyramidal cells and interneurons will need to be characterized. Nonetheless, considering that inhibitory interneurons contribute to pacing of theta oscillations in the hippocampus (Cobb *et al.*, 1995; Chapman & Lacaille, 1999a; b), that synaptic interactions between GABAergic interneurons are important for the generation of network oscillations (Wang & Buzsaki, 1996) and that modeling studies indicate that plasticity at several locations within inhibitory networks is necessary for the synchronization of neuronal assemblies (Bibbig *et al.*, 2002), the functional diversity at GABA synapses suggest cell-type specific roles in the control of hippocampal excitability and rhythmic activity.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

This research was funded by grants to J.-C. L. from the Canadian Institutes of Health Research (MT-10848) and Fonds de la Recherche en Santé du Québec. J.-C. L. is the recipient of a Canada Research Chair in Cellular and Molecular Neurophysiology.

**ABBREVIATIONS**

ACSF: Artificial cerebrospinal fluid

CA1: Ammon's Horn 1

CA3: Ammon's Horn 3

CB1R: Type 1 cannabinoid receptors

CV<sup>2</sup>: Coefficient of variation

DSI: Depolarization-induced suppression of inhibition

GABA:  $\gamma$ -aminobutyric acid

eIPSCs: Evoked inhibitory postsynaptic currents

E<sub>eIPSC</sub>: IPSC reversal potential

I-V relationship: Current-voltage relationship

HFS: High frequency stimulation

Hz: Hertz

IPSCs: Inhibitory postsynaptic currents

LTD: Long-term depression

LTP: Long-term potentiation

mGluR: Metabotropic glutamate receptor

NMDA: N-methyl-D-aspartate

PPR: Paired-pulse ratio

RAD: Radiatum

sIPSCs: Spontaneous inhibitory postsynaptic currents

TBS: Theta-burst stimulation

5-HT: Serotonin

**REFERENCES**

- Aaron, G.B. & Dichter, M.A. (2001) Excitatory synapses from CA3 pyramidal cells onto neighboring pyramidal cells differ from those onto inhibitory interneurons. *Synapse*, **42**, 199-202.
- Acsády, L., Görcs, T.J. & Freund, T.F. (1996) Different populations of vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive interneurons are specialized to control pyramidal cells or interneurons in the hippocampus. *Neuroscience*, **73**, 317-334.
- Atzori, M. (1996) Pyramidal cells and stratum lacunosum-moleculare interneurons in the CA1 hippocampal region share a GABAergic spontaneous input. *Hippocampus*, **6**, 72-78.
- Bacci, A., Huguenard, J.R., Prince, D.A. (2002) Differential modulation of synaptic transmission by neuropeptide Y in rat neocortical neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **99**, 17125-17130.
- Bacci, A., Rudolph, U., Huguenard, J.R. & Prince, D.A. (2003) Major differences in inhibitory synaptic transmission onto two neocortical interneuron subclasses. *J. Neurosci.*, **23**, 9664-9674.
- Bartos, M., Vida, I., Frotscher, M., Geiger, J.R. & Jonas, P. (2001) Rapid signaling at inhibitory synapses in a dentate gyrus interneuron network. *J. Neurosci.*, **21**, 2687-2698.
- Bartos, M., Vida, I., Frotscher, M., Meyer, A., Monyer, H., Geiger, J.R. & Jonas, P. (2002) Fast synaptic inhibition promotes synchronized gamma oscillations in hippocampal interneuron networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **99**, 13222-13227.
- Beierlein, M., Gibson, J.R. & Connors, B.W. (2003) Two dynamically distinct inhibitory networks in layer 4 of the neocortex. *J. Neurophysiol.*, **90**, 2987-3000.
- Bibbig, A., Traub, R.D. & Whittington, M.A. (2002) Long-range synchronization of  $\gamma$  and  $\beta$  oscillations and the plasticity of excitatory and inhibitory synapses: a network model. *J. Neurophysiol.*, **88**, 1634-1654.
- Bischofberger, J. & Jonas, P. (2002) TwoB or not twoB: differential transmission at glutamatergic mossy fiber-interneuron synapses in the hippocampus. *Trends Neurosci.*, **25**, 600-603.

- Chapman, C.A. & Lacaille, J.C. (1999a) Cholinergic induction of theta-frequency oscillations in hippocampal inhibitory interneurons and pacing of pyramidal cell firing. *J. Neurosci.*, **19**, 8637-8645.
- Chapman, C.A. & Lacaille, J.C. (1999b) Intrinsic theta-frequency membrane potential oscillations in hippocampal CA1 interneurons of stratum lacunosum-moleculare. *J. Neurophysiol.*, **81**, 1296-1307.
- Chevalleyre, V. & Castillo, P.E. (2003) Heterosynaptic LTD of hippocampal GABAergic synapses: A novel role of endocannabinoids in regulating excitability. *Neuron*, **38**, 461-472.
- Christie, B.R., Franks, K.M., Seamans, J.K., Saga, K. & Sejnowski, T.J. (2000) Synaptic plasticity in morphologically identified CA1 stratum radiatum interneurons and giant projection cells. *Hippocampus*, **10**, 673-683.
- Cobb, S.R., Buhl, E.H., Halasy, K., Paulsen, O. & Somogyi, P. (1995) Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons. *Nature*, **378**, 75-78.
- Cowan, A.I., Stricker, C., Reece, L.J. & Redman, S.J. (1998) Long-term plasticity at excitatory synapses on aspiny interneurons in area CA1 lacks synaptic specificity. *J. Neurophysiol.*, **79**, 13-20.
- Duguid, I.C., Smart, T.G. (2004) Retrograde activation of presynaptic NMDA receptors enhances GABA release at cerebellar interneuron-Purkinje cell synapses. *Nat. Neurosci.*, **7**, 525-533.
- Ferraguti, F., Cobden, P., Pollard, M., Cope, D., Shigemoto, R., Watanabe, M. & Somogyi, P. (2004) Immunolocalization of metabotropic glutamate receptor 1 $\alpha$  (mGluR1 $\alpha$ ) in distinct classes of interneuron in the CA1 region of the rat hippocampus. *Hippocampus*, **14**, 193-215.
- Freund T.F. & Antal M. (1988) GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature*, **336**, 170-173.
- Fritschy, J.M. & Möhler, H. (1995) GABAA-receptor heterogeneity in the adult rat brain: differential regional and cellular distribution of seven major subunits. *J. Comp. Neurol.*, **359**, 154-194.

- Gaiarsa, J.L., Caillard, O. & Ben-Ari, Y. (2002) Long-term plasticity at GABAergic and glycinergic synapses: mechanisms and functional significance. *Trends Neurosci*, **25**, 564-570.
- Gao, B. & Fritschy, J.M. (1994) Selective allocation of GABAA receptors containing the alpha 1 subunit to neurochemically distinct subpopulations of rat hippocampal interneurons. *Eur. J. Neurosci.*, **6**, 837-853.
- Geiger, J.R., Lubke, J., Roth, A., Frotscher, M. & Jonas, P. (1997) Submillisecond AMPA receptor-mediated signaling at a principal neuron-interneuron synapse. *Neuron*, **18**, 1009-1023.
- Gulyás, A.I., Hájos, N. & Freund, T.F. (1996) Interneurons containing calretinin are specialized to control other interneurons in the rat hippocampus. *J. Neurosci.*, **16**, 3397-3411.
- Gulyás, A.I., Megias, M., Emri, Z. & Freund, T.F. (1999) Total number and ratio of excitatory and inhibitory synapses converging onto single interneurons of different types in the CA1 area of the rat hippocampus. *J. Neurosci.*, **19**, 10082-10097.
- Gupta, A., Wang, Y. & Markram, H. (2000) Organizing principles for a diversity of GABAergic interneurons and synapses in the neocortex. *Science*, **287**, 273-278.
- Hájos, N. & Mody, I. (1997) Synaptic communication among hippocampal interneurons: Properties of spontaneous IPSCs in morphologically identified cells. *J. Neurosci.*, **17**, 8427-8442.
- Hoffman, A.F., Riegel, A.C. & Lupica, C.R. (2003) Functional localization of cannabinoid receptors and endogenous cannabinoid production in distinct neuron populations of the hippocampus. *Eur. J. Neurosci.*, **18**, 524-534.
- Jones, M.V. & Westbrook, G.L. (1997) Shaping of IPSCs by endogenous calcineurin activity. *J. Neurosci.*, **17**, 7626-7633.
- Kano, M., Fukunaga, K. & Konnerth, A. (1996) Ca<sup>2+</sup>-induced rebound potentiation of gamma-aminobutyric acid-mediated currents requires activation of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase II. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 13351-13356.
- Katona, I., Sperlágh, B., Sik, A., Käfalvi, A., Vizi, E.S., Mackie, K. & Freund, T.F. (1999) Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release

- from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J. Neurosci.*, **19**, 4544-4558.
- Khazipov, R., Congar, P. & Ben-Ari, Y. (1995) Hippocampal CA1 lacunosum-moleculare interneurons: modulation of monosynaptic GABAergic IPSCs by presynaptic GABAB receptors. *J. Neurophysiol.*, **74**, 2126-2137.
- Komatsu, Y. (1996) GABA<sub>B</sub> receptors, monoamine receptors, and postsynaptic inositol trisphosphate-induced Ca<sup>2+</sup> release are involved in the induction of long-term potentiation at visual cortical inhibitory synapses. *J. Neurosci.*, **16**, 6342-6352.
- Kulik, A., Vida, I., Luján, R., Haas, C.A., López-Bendito, G., Shigemoto, R. & Frotscher, M. (2003) Subcellular localization of metabotropic GABA<sub>B</sub> receptor subunits GABA<sub>B1a/b</sub> and GABA<sub>B2</sub> in the rat hippocampus. *J. Neurosci.*, **23**, 11026-11035.
- Lacaille, J.C. (1991) Postsynaptic potentials mediated by excitatory and inhibitory amino acids in interneurons of stratum pyramidale of the CA1 region of rat hippocampal slices in vitro. *J. Neurophysiol.*, **66**, 1441-1454.
- Lapointe, V., Morin, F., Ratte, S., Croce, A., Conquet, F. & Lacaille, J.C. (2004) Synapse-specific mGluR1-dependent long-term potentiation in interneurons regulates mouse hippocampal inhibition. *J. Physiol.*, **555**, 125-135.
- Lei, S. & McBain, C.J. (2002) Distinct NMDA receptors provide differential modes of transmission at mossy fiber-interneuron synapses. *Neuron*, **33**, 921-933.
- Llano, I., Leresche, N. & Marty, A. (1991) Calcium entry increases the sensitivity of cerebellar Purkinje cells to applied GABA and decreases inhibitory synaptic currents. *Neuron*, **6**, 565-574.
- Lu, Y.M., Mansuy, I.M., Kandel, E.R. & Roder, J. (2000) Calcineurin-mediated LTD of GABAergic inhibition underlies the increased excitability of CA1 neurons associated with LTP. *Neuron*, **26**, 197-205.
- Maccaferri, G. & McBain, C.J. (1996) Long-term potentiation in distinct subtypes of hippocampal nonpyramidal neurons. *J. Neurosci.*, **16**, 5334-5343.
- Malenka, R.C. & Nicoll, R.A. (1999) Long-term potentiation--a decade of progress? *Science*, **285**, 1870-1874.

- Malinow, R. & Tsien, R.W. (1990) Presynaptic enhancement shown by whole-cell recordings of long-term potentiation in hippocampal slices. *Nature*, **346**, 177-180.
- Marsicano, G. & Lutz, B. (1999) Expression of the cannabinoid receptor CB1 in distinct neuronal subpopulations in the adult mouse forebrain. *Eur. J. Neurosci.*, **11**, 4213-4225.
- McLean, H.A., Caillard, O., Ben-Ari, Y. & Gaiarsa, J.L. (1996) Bidirectional plasticity expressed by GABAergic synapses in the neonatal rat hippocampus. *J. Physiol.*, **496**, 471-477.
- McMahon, L.L. & Kauer, J.A. (1997) Hippocampal interneurons express a novel form of synaptic plasticity. *Neuron*, **18**, 295-305.
- Nunzi, M.G., Gorio, A., Milan, F., Freund, T.F., Somogyi, P. & Smith, A.D. (1985) Cholecystinin-immunoreactive cells form symmetrical synaptic contacts with pyramidal and nonpyramidal neurons in the hippocampus. *J. Comp. Neurol.*, **237**, 485-505.
- Nusser, Z., Sieghart, W., Benke, D., Fritschy, J.M. & Somogyi, P. (1996) Differential synaptic localization of two major gamma-aminobutyric acid type A receptor  $\alpha$  subunits on hippocampal pyramidal cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **93**, 11939-11944.
- Nusser, Z., Sieghart, W. & Mody, I. (1999) Differential regulation of synaptic GABA<sub>A</sub> receptors by cAMP-dependent protein kinase in mouse cerebellar and olfactory bulb neurones. *J. Physiol.*, **521**, 421-435.
- Ohno-Shosaku, T., Maejima, T. & Kano, M. (2001) Endogenous cannabinoids mediate retrograde signals from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals. *Neuron*, **29**, 729-738.
- Okada, M., Onodera, K., Van Renterghem, C., Sieghart, W. & Takahashi, T. (2000) Functional correlation of GABA<sub>A</sub> receptor  $\alpha$  subunits expression with the properties of IPSCs in the developing thalamus. *J. Neurosci.*, **20**, 2202-2208.
- Patenaude, C., Chapman, C.A., Bertrand, S., Congar, P. & Lacaille, J.C. (2003) GABA<sub>B</sub> receptor- and metabotropic glutamate receptor-dependent cooperative long-term



- potentiation of rat hippocampal GABA<sub>A</sub> synaptic transmission. *J. Physiol.*, **553**, 155-167.
- Perez, Y., Chapman, C.A., Woodhall, G., R., R. & Lacaille, J.C. (1999) Differential induction of long lasting potentiation of IPSPs by theta patterned stimulation versus 100 Hz tetanization in hippocampal pyramidal cells in vitro. *Neuroscience*, **90**, 747-757.
- Perez, Y., Morin, F. & Lacaille, J.C. (2001) A hebbian form of long-term potentiation dependent on mGluR1a in hippocampal inhibitory interneurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **98**, 9401-9406.
- Pitler, T.A. & Alger, B.E. (1992) Postsynaptic spike firing reduces synaptic GABA<sub>A</sub> responses in hippocampal pyramidal cells. *J. Neurosci.*, **12**, 4122-4132.
- Poisbeau, P., Cheney, M.C., M.D., B. & Mody, I. (1999) Modulation of synaptic GABA<sub>A</sub> receptor function by PKA and PKC in adult hippocampal neurons. *J. Neurosci.*, **19**, 674-683.
- Saitow, F., Murakoshi, T., Suzuki, H., Konishi, S. (2005) Metabotropic P2Y purinoceptor-mediated presynaptic and postsynaptic enhancement of cerebellar GABAergic transmission. *J. Neurosci.*, **25**, 2108-2116.
- Semyanov, A. & Kullmann, D.M. (2002) Relative picrotoxin insensitivity distinguishes ionotropic GABA receptor-mediated IPSCs in hippocampal interneurons. *Neuropharmacology*, **43**, 726-736.
- Shew, T., Yip, S. & Sastry, B.R. (2000) Mechanisms involved in tetanus-induced potentiation of fast IPSCs in rat hippocampal CA1 neurons. *J. Neurophysiol.*, **83**, 3388-3401.
- Thompson, S.M. (1994) Modulation of inhibitory synaptic transmission in the hippocampus. *Prog. Neurobiol.*, **42**, 575-609.
- Tsou, K., Mackie, K., Sañudo-Peña, M.C. & Walker, J.M. (1999) Cannabinoid CB1 receptors are localized primarily on cholecystokinin-containing GABAergic interneurons in the rat hippocampal formation. *Neuroscience*, **93**, 969-975.
- van Hooft, J.A., Giuffrida, R., Blatow, M. & Monyer, H. (2000) Differential expression of group I metabotropic glutamate receptors in functionally distinct hippocampal interneurons. *J. Neurosci.*, **20**, 3544-3551.

- Vicini, S., Ferguson, C., Prybylowski, K., Kralic, J., Morrow, A.L. & Homanics, G.E. (2001) GABA<sub>A</sub> receptor  $\alpha$ 1 subunit deletion prevents developmental changes of inhibitory synaptic currents in cerebellar neurons. *J. Neurosci.*, **21**, 3009-3016.
- Vida, I., Halasy, K., Szinyei, K., Somogyi, P., Buhl, E.H. (1998) Unitary IPSPs evoked by interneurons at the stratum radiatum-stratum lacunosum-moleculare border in the CA1 area of the rat hippocampus in vitro. *J. Physiol.*, **506**, 755-773.
- Walker, H.C., Lawrence, J.J. & McBain, C.J. (2002) Activation of kinetically distinct synaptic conductances on inhibitory interneurons by electrotonically overlapping afferents. *Neuron*, **35**, 161-171.
- Wang, X.J. & Buzsaki, G. (1996) Gamma oscillation by synaptic inhibition in a hippocampal interneuronal network model. *J. Neurosci.*, **16**, 6402-6413.
- Wilson, R.I. & Nicoll, R.A. (2001) Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature*, **410**, 588-592.
- Woodin, M.A., Ganguly, K. & Poo, M.M. (2003) Coincident pre- and postsynaptic activity modifies GABAergic synapses by postsynaptic changes in Cl<sup>-</sup> transporter activity. *Neuron*, **39**, 807-820.

Table 1: Properties of eIPSCs and sIPSCs at GABA synapses of pyramidal cells and RAD interneurons

eIPSCs	Pyramidal cells	Interneurons
Rise time (ms)	10.5 ± 0.8 (18)	6.0 ± 1.6 (18) *
Half-width (ms)	54.7 ± 3.6 (12)	19.4 ± 3.3 (17) *
Observed E <sub>IPSC</sub> (mV)	-66.7 ± 0.7 (18)	-61.3 ± 0.8 (18) *
Paired-pulse ratio	0.68 ± 0.02 (11)	0.90 ± 0.04 (15) *
Coefficient of variation	0.12 ± 0.01 (18)	0.25 ± 0.02 (18) *
<b>sIPSCs</b>		
Amplitude (pA)	25.3 ± 3.2 (6)	21.4 ± 2.0 (6)
Rise time (ms)	1.5 ± 0.3 (6)	2.3 ± 0.2 (6) *
Decay time (ms)	36.8 ± 4.5 (6)	25.3 ± 3.5 (6) *

All values are means ± SEM, independent t-test comparison, \*  $p < 0.05$ .

Table 2: Membrane and eIPSC properties in interneurons expressing or not LTP

	Interneurons with LTP	Interneurons without LTP
Input resistance (MΩ)	535 ± 242 (5)	327 ± 136 (5)
Action potential half-width (ms)	1.5 ± 0.2 (4)	1.7 ± 0.3 (3)
Afterhyperpolarization (mV) <sup>a</sup>	6.5 ± 0.6 (4)	7.6 ± 1.2 (3)
Spike frequency adaptation <sup>b</sup>	1.7 ± 0.1 (4)	2.0 ± 0.4 (3)
IPSCs rise time (ms)	6.7 ± 2.0 (5)	4.6 ± 0.9 (5)
IPSC decay time (ms)	83.9 ± 49.1 (4)	33.7 ± 8.9 (4)
Observed E <sub>IPSC</sub> (mV)	- 62.9 ± 2.0 (5)	-60.5 ± 1.6 (5)
Paired-pulse ratio	0.84 ± 0.09 (4)	0.97 ± 0.09 (3)
Coefficient of variation	0.23 ± 0.05 (5)	0.28 ± 0.05 (5)

All values are means ± SEM, independent t-test comparison.

<sup>a</sup> Afterhyperpolarization calculated as the difference between the action potential threshold and the most negative level reached during the repolarizing phase.

<sup>b</sup> Spike frequency adaptation was calculated as the ratio of the instantaneous frequency of the fourth and last spike intervals during action potential train induced by intracellular depolarization.

## FIGURE LEGENDS

Figure 1: Different properties of monosynaptic inhibitory postsynaptic currents (eIPSCs) in RAD interneurons and pyramidal cells.

A. Examples of eIPSCs from a pyramidal cell (pyr) and a RAD interneuron (Int.). Normalized traces (*right*) illustrate that the kinetics of eIPSCs were faster in interneurons. B. Superimposed traces of eIPSCs at holding potentials ranging from  $-50$  to  $-75$  mV in a pyramidal cell (*top left*) and an interneuron (*bottom left*). Graph of the mean I-V relationships for all cells tested, (*right*) showing that observed reversal potential is more depolarized in interneurons (filled squares;  $n=18$ ) than in pyramidal cells (open circles;  $n=18$ ). C. Representative eIPSCs evoked by paired-pulse stimulation from a pyramidal cell and an interneuron. Bar graph of the mean paired-pulse ratio (PPR) for all cells showing that paired-pulse depression is significantly less in interneurons (filled bar,  $n=15$ ) than in pyramidal cells (open bar,  $n=11$ ). D. Graph of the coefficient of variation ( $CV^2$ ) of eIPSCs in individual pyramidal cells (open circles;  $n=18$ ) and interneurons (open squares;  $n=18$ ), and respective mean values (filled symbols), demonstrating that the  $CV^2$  is twofold higher in interneurons.

Figure 2: TBS induces long-term potentiation of eIPSCs in RAD interneurons and pyramidal cells.

A. Average eIPSCs (*top*) from a representative pyramidal cell prior to TBS (1), 30 min after TBS (2), and superimposed traces (1+2), as well as a graph of IPSC amplitude for the 7 of 10 cells that showed LTP (*bottom*). The increase in eIPSCs following TBS (arrow) lasted for at least 30 min. In this and subsequent figures, numbers (1, 2) indicate times for corresponding traces. B. Graph of IPSC amplitude before and 30 min post-TBS for all pyramidal cells tested. C. Bar graph of average IPSC amplitude for all cells with LTP, showing the significant increase in IPSCs 30 min post-TBS ( $n=7$ ). D. Average eIPSCs from representative interneurons in control conditions (*top row*) or in the presence of  $5 \mu\text{M}$  CGP55845 and  $500 \mu\text{M}$  E4-CPG (*bottom row*). Traces were taken prior to TBS (1), 30 min after TBS (2), and superimposed traces (1+2). Graph of IPSC amplitude for cells expressing LTP (control, *filled squares*,  $n = 5$ ; in CGP55845 and E4-CPG, *open triangles*,  $n = 3$ ), demonstrating the sustained increase in eIPSCs after the

delivery of TBS. E. Graphs of IPSC amplitude before and 30 min post-TBS for all interneurons tested in control conditions (left; n=10) and in CGP55845 and E4-CPG (right; n=7). F. Bar graphs of average IPSC amplitude for interneurons with LTP (left, filled bars, control conditions; right, open bars, in presence of CGP55845 and E4-CPG), illustrating the significant increase in IPSCs 30 min post-TBS in both conditions.

Figure 3: High frequency stimulation (HFS) elicits a transient depression of eIPSCs in pyramidal cells but not in RAD interneurons.

A. Average eIPSCs evoked by paired stimulation at 75 ms interval (*top*) in a representative pyramidal cell during the control period (1), 2.5 min after HFS (2), and superimposed (1+2), as well as graph of eIPSC amplitude for all cells tested (*bottom*). IPSCs were depressed immediately after HFS (arrow) and recovered in 5 to 10 min. (B-C). Bar graphs of average IPSC amplitude (B) and PPR (C) illustrating that the IPSC depression was accompanied by a significant increase in the paired-pulse ratio (n=8). Representative traces (D; *top*) and graphs for all cells (D, *bottom*; E) showing the lack of change following similar stimulation in RAD interneurons. Neither the amplitude (D and E) nor the paired-pulse ratio (F) were affected by HFS (n=8).

Figure 4: Depolarization-induced suppression of inhibition (DSI) of eIPSCs in pyramidal cells but not in RAD interneurons.

A. Representative traces from a pyramidal cell (*top*), and graph of normalized IPSC amplitude for all cells tested (*bottom*), showing that a 5 sec depolarization from -70 to 0 mV induced DSI (arrows). B. Representative example from a RAD interneuron (*top*) and graph of normalized IPSC amplitude for all RAD cells tested (*bottom*), demonstrating that a 5 sec depolarization failed to depress eIPSCs in these interneurons. C. Bar graphs of DSI magnitude induced by voltage steps of different duration (1, 3 or 5 sec) illustrating that DSI was present in pyramidal cells (open bars) but not in RAD interneurons (filled bars). Depolarizing pulses shown in A and B were truncated.

Figure 5: DSI of spontaneous IPSCs (sIPSC) in pyramidal cells but not in RAD interneurons.

A. Example of an episode of DSI of sIPSCs (*top*) after depolarization of the postsynaptic membrane for 5 sec in a pyramidal cell, and bar graph of cumulative charge transfer of sIPSCs (sum of the area under individual sIPSCs) in 5 sec-bins taken from the same cell (*bottom*) showing the depression in sIPSCs post-depolarization. B. Representative trace (*top*) and corresponding bar graph of cumulative charge transfer of sIPSCs (*bottom*) obtained from a RAD interneuron demonstrating the lack of effect of depolarization on sIPSCs. C. Bar graph of DSI magnitude measured 5 sec after the voltage step illustrating that postsynaptic depolarization did not elicit DSI of sIPSCs in RAD interneurons.

Figure 6: Morphology of RAD interneurons and cell-type specific differential plasticity.

A and B. Camera lucida drawings of two representative biocytin-filled RAD interneurons (*thick lines*: dendrites; *thin lines*: axon). C. Bar graphs summarizing the differential effects of TBS, HFS, and postsynaptic depolarization on IPSCs recorded from pyramidal cells (open bars) and interneurons (filled bars).

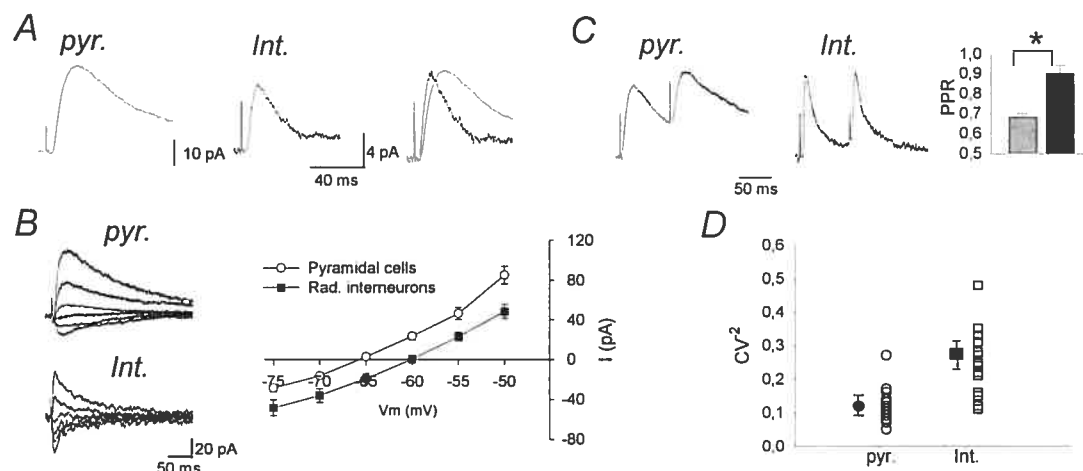


Figure 1

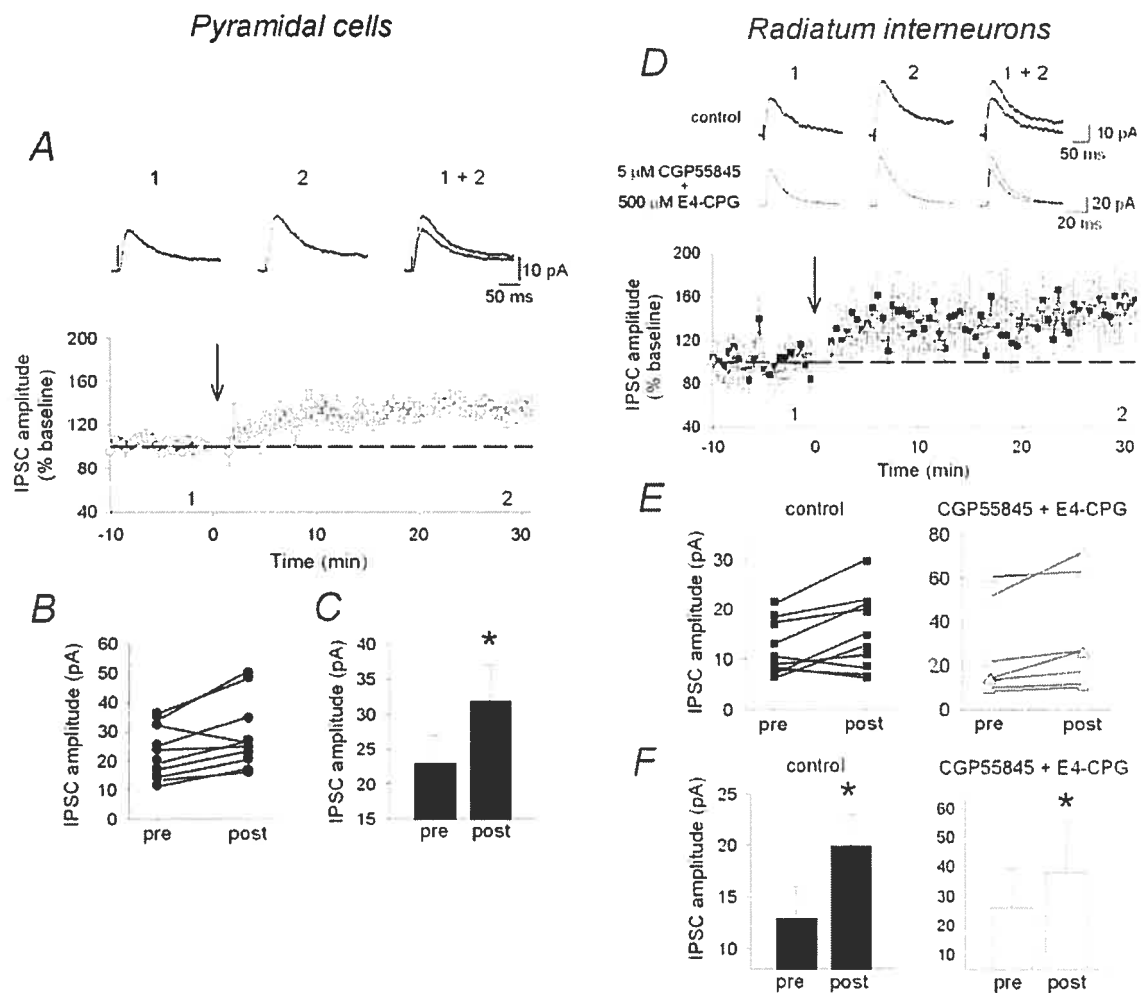


Figure 2



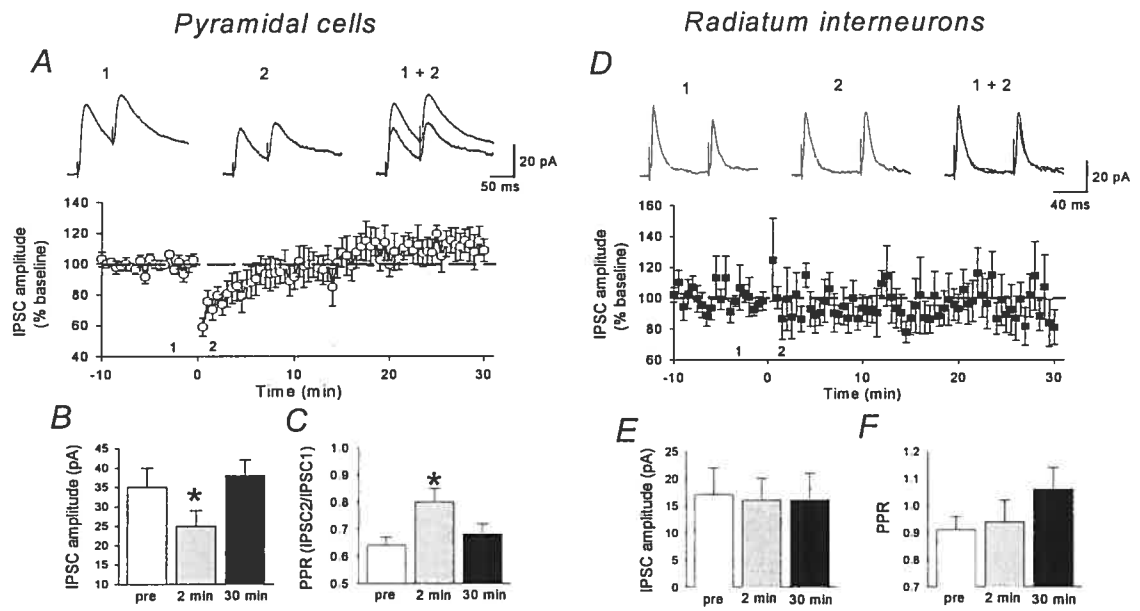


Figure 3

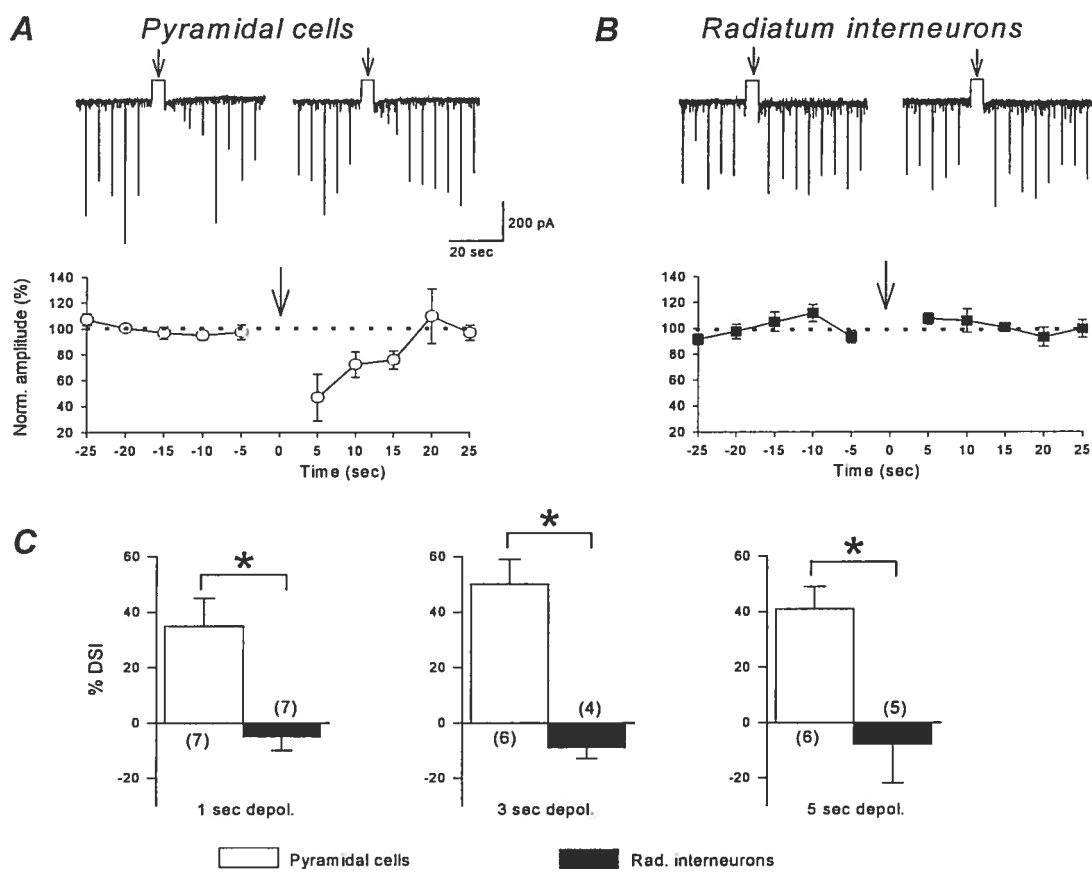


Figure 4

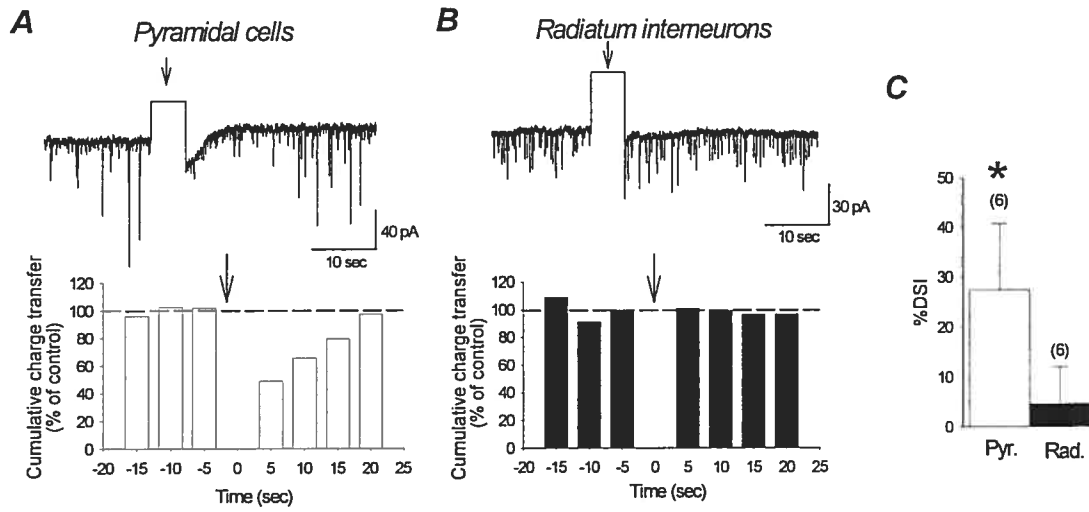


Figure 5

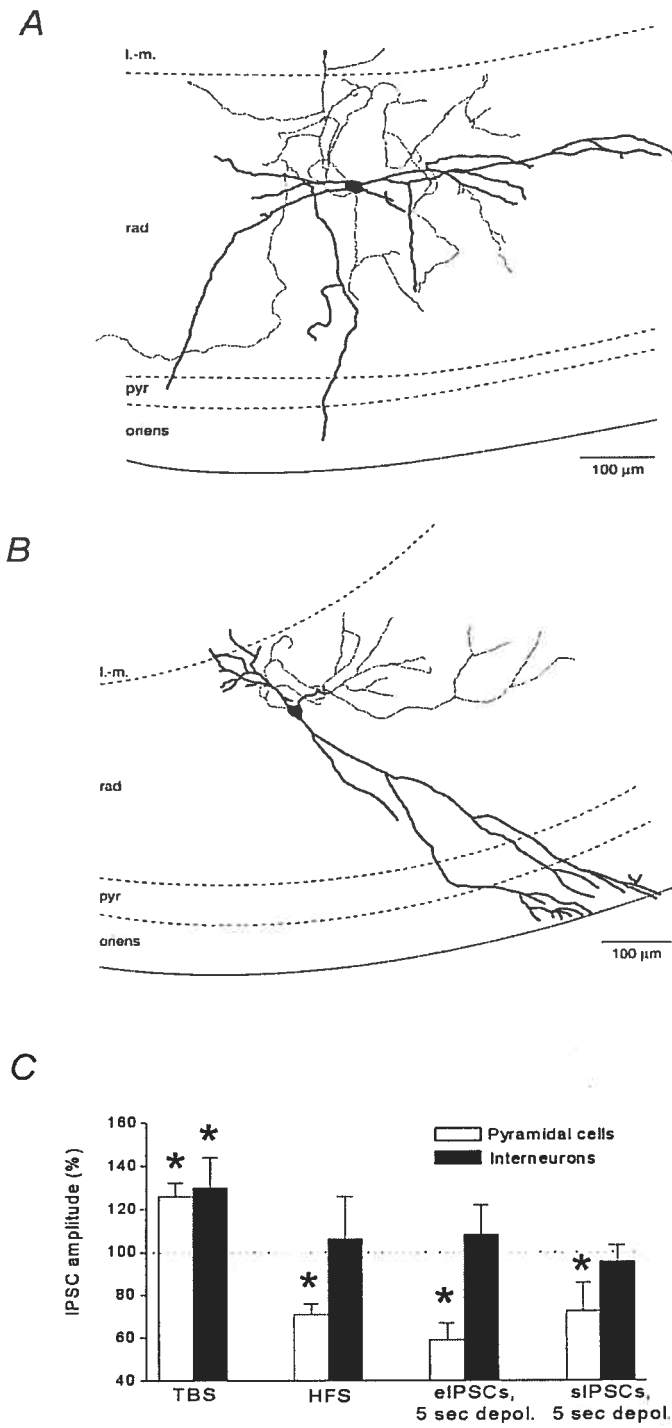


Figure 6

## **CHAPITRE 4**

# **SENSIBILITÉ DES RÉCEPTEURS GABA<sub>A</sub> SYNAPTIQUES À DES MODULATEURS ALLOSTÉRIQUES DANS LES INTERNEURONES ORIENS- ALVEUS DE L'HIPPOCAMPE**

**Sensitivity of synaptic GABA<sub>A</sub> receptors to allosteric modulators in  
hippocampal oriens-alveus interneurons**

Christian Patenaude, Suzanne Nurse and Jean-Claude Lacaille

Centre de recherche en sciences neurologiques and Département de physiologie,

Université de Montréal, Montréal, Québec, H3C 3J7, Canada

**Publié dans**

**Synapse 41: 29-39, 2001**

**ABSTRACT**

GABA<sub>A</sub> receptors are heteropentamers that are heterogeneously distributed at different synapses in the central nervous system. Although the modulation of GABA<sub>A</sub> receptors received much attention in hippocampal pyramidal cells, information is scarce regarding the pharmacology of these receptors in inhibitory interneurons. We investigated the pharmacological properties of GABA<sub>A</sub>-mediated miniature inhibitory postsynaptic currents (mIPSCs) using whole-cell voltage clamp recordings in two morphologically identified types of hippocampal CA1 interneurons, horizontal and vertical cells of stratum oriens-alveus. The negative modulators zinc (200 μM) and furosemide (600 μM) significantly decreased the amplitude of mIPSCs. Benzodiazepine agonists also produced significant effects: 10 μM zolpidem increased the amplitude, rise time and decay time constant (decay τ) of mIPSCs, whereas 10 μM flunitrazepam affected similarly the amplitude and decay τ, but not the rise time. The neurosteroid allopregnanolone (10 μM) prolonged the decay τ of mIPSCs. Since these modulators act on different GABA<sub>A</sub> receptor subunits, this pharmacological profile suggests that GABA<sub>A</sub> receptors at spontaneously active inhibitory synapses onto vertical and horizontal interneurons are heterogeneous and formed by co-assembly of different combinations of subunits (α<sub>1-5</sub>β<sub>1-3</sub>γ<sub>1-3</sub>). Furthermore these synaptic GABA<sub>A</sub> receptors appear in large part pharmacologically similar to those of pyramidal cells.

## INTRODUCTION

$\gamma$ -Aminobutyric acid type A (GABA<sub>A</sub>) receptors are the principal mediators of fast inhibitory synaptic transmission in the central nervous system (CNS). They form chloride-permeable pentameric ionotropic receptors (Nayeem et al., 1994) that are sensitive to a variety of agents including zinc, benzodiazepines, barbiturates, neurosteroids and anaesthetics (Johnston, 1996). In mammals, multiple types of GABA<sub>A</sub> receptor subunits divided in seven classes have been identified ( $\alpha_{1-6}$ ,  $\beta_{1-3}$ ,  $\gamma_{1-3}$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$  and  $\rho_{1-3}$ ) (Bonnert et al., 1999; reviewed by Hevers and Lüddens, 1998) and these subunits are heterogeneously expressed throughout the CNS (Wisden et al., 1992; Fritschy and Möhler, 1995). Although this diversity may imply a multitude of GABA<sub>A</sub> receptor subtypes (for a review, see Hevers and Lüddens, 1998), the number of functional receptors may be limited by the preferential co-assembly of certain subunits (McKernan and Whiting, 1996).

In the hippocampus, GABAergic interneurons control the excitability of both projection cells and other interneurons (Freund and Buzsaki, 1996), in large part via GABA<sub>A</sub> synaptic mechanisms (Sivilotti and Nistri, 1991). However, interneurons receive inhibitory afferents from many sources, some of which are interneuron-selective. Indeed, specific types of interneurons are specialised to innervate only other interneurons (Gulyas et al., 1996; reviewed by Freund and Buzsaki, 1996). In addition, GABAergic afferents originating from the septohippocampal pathway target selectively hippocampal interneurons (for a review, see Freund and Buzsaki, 1996). Also, the kinetics of spontaneous GABA<sub>A</sub>-mediated IPSCs vary between interneurons, and are different from those of pyramidal cells (Hajos and Mody, 1997; but see Atzori, 1996). Many types of GABA<sub>A</sub> receptor subunits are expressed in the hippocampus (Fritschy and Möhler, 1995; Sperk et al., 1997), but subpopulations of interneurons show intense immunoreactivity for  $\alpha_1$  subunit (Fritschy and Möhler, 1995; Gao and Fritschy, 1994) whereas pyramidal cells are immunoreactive for  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  and  $\alpha_5$  subunits (Fritschy and Möhler, 1995; Nusser et al., 1996), suggesting that GABA<sub>A</sub> receptors may have different subunit configurations in these two cell types.



Although the pharmacological properties of GABA<sub>A</sub> receptors have been characterized in hippocampal pyramidal cells (Banks et al., 1998; Pawelzik et al., 1999; Taketo and Yoshioka, 2000; Tietz et al., 1999), much less is known about the pharmacological profile of synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in hippocampal interneurons (Berger et al., 1998). The presence of interneuron-selective GABAergic afferents and the differential expression of  $\alpha$  subunits in interneurons raise the possibility that the subunit composition of synaptic GABA<sub>A</sub> receptors may be particular in hippocampal interneurons. To address this question, we investigated the pharmacological properties of GABA<sub>A</sub>-mediated miniature inhibitory postsynaptic currents (mIPSCs), in morphologically identified interneurons in CA1 stratum (str.) oriens-alveus of rat hippocampal slices. We found that synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in the interneurons were modulated negatively by zinc and furosemide, and positively by zolpidem, flunitrazepam and allopregnanolone, suggesting an heterogeneous composition of these receptors, but which appeared similar to that of pyramidal cells. Part of this work was published in abstract form (Patenaude et al., 1999).

## **MATERIALS AND METHODS**

### *Slice preparation*

Male Sprague-Dawley rats (21-28 days old) were anesthetized with halothane and decapitated. The brain was removed and placed in cold oxygenated (95% O<sub>2</sub>- 5% CO<sub>2</sub>) artificial cerebrospinal fluid (ACSF) containing (in mM) 124 NaCl, 5 KCl, 1.25 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 MgSO<sub>4</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 26 NaHCO<sub>3</sub> and 10 dextrose (pH 7.4, 295-310 mOsm). Hippocampal slices (300  $\mu$ m thick) were prepared using a vibratome (Cambridge Instruments) and transferred to oxygenated ACSF at room temperature. After at least an hour of incubation, a slice was placed in a recording chamber on an upright microscope (Zeiss Axioskop) equipped with a long-range objective (X40), DIC optics and an infrared camera (Cohu 6500) for visual identification of cells. The slices were continuously perfused at 2.5 ml/min with oxygenated ACSF at room temperature .

*Electrophysiological recordings and analysis*

Patch pipettes (3-10 M $\Omega$ ) were filled with recording solution containing (in mM) 120 CsCl, 5 NaCl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 10 lidocaine N-ethylbromide (QX-314), 10 HEPES, 2 ATP-Tris, 0.4 GTP-Tris and 0.1% biocytin. The pH was adjusted to 7.2-7.3 with CsOH (255-295 mOsm). Whole cell recordings were obtained from interneurons with horizontally oriented soma and dendrites, located in the superior half of str. oriens, near the alveus (OA). Cells were voltage-clamped at -60 mV and miniature inhibitory postsynaptic currents (mIPSCs) were recorded with an Axopatch 1D amplifier (Axon Instruments). Currents were low-pass filtered at 10 kHz (-3 dB), digitized at 22 kHz (Neuro-corder DR-886) and recorded on videotape. Recordings were further low-pass filtered at 1 kHz with an eight-pole Bessel filter (Frequency Devices 900L) and digitized on a PC computer using pClamp6 software (Axon Instruments). Series resistance was regularly monitored, and cells with 20% change in series resistance were rejected. Miniature inhibitory currents were recorded during 90 second periods in control solution, during drug application and after washout. Each synaptic events clearly distinguishable from background noise was selected by visual inspection and analysed using NPM software (Dr. S. Traynelis, Emory University). The amplitude, 10-90% rise time and decay time constant (decay  $\tau$ ) were measured for each mIPSC and for the averaged mIPSC (of all events in the 90 sec period). Overlapping mIPSCs were excluded from analysis. Decay time were well fitted by a single exponential function in most cases (determined by eye). Occasional mIPSCs that were best fitted by a biexponential function were excluded from analysis. Kolmogorov-Smirnov tests were used to compare the distributions of mIPSCs and Student's t-tests to compare the mean parameters in control and drug conditions. Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM), and differences were considered significant when  $p < 0.05$ .

*Pharmacology*

Miniature IPSCs were pharmacologically-isolated by blocking ionotropic glutamate receptors with the antagonists 6-cyano-7-nitroquinoxalin-2,3-dione (CNQX, 20  $\mu$ M) and ( $\pm$ )-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP-5, 50  $\mu$ M), and voltage-

dependent Na<sup>+</sup> channels with tetrodotoxin (TTX, 0.5 μM). Concentrated stock solution of AP-5, CNQX, bicuculline methiodide, zinc, furosemide, zolpidem, flunitrazepam and allopregnanolone were prepared, kept frozen at – 20°C, and diluted to their final concentration before bath application. Zolpidem and flunitrazepam were dissolved in methanol (0.625%), and furosemide and allopregnanolone in dimethyl sulfoxide (0.625% and 0.125%, respectively). AP-5, CNQX, furosemide, zolpidem, flunitrazepam and allopregnanolone were obtained from RBI and all other chemicals were purchased from Sigma.

### *Histology*

After recording, slices containing biocytin-filled cells were transferred to a freshly prepared solution of 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer (PB) and fixed overnight at 4°C. After washing in 0.1 M phosphate buffer, slices were embedded in agarose and cut in 80 μm thick sections on a vibratome (Oxford Series 1000, Scott Scientific). Sections were treated with 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 20 min to eliminate endogenous peroxidases. Individual sections were then rinsed for 5 min in four changes of PB saline containing 0.1% Triton and incubated for 24 h with avidin-biotin complex (1:200, ABC kit, Vectastain). After rinsing for 1 h in Tris-buffered saline (pH 7.6), sections were incubated for 12 min in a Tris-buffered solution containing 0.05% diaminobenzidine (DAB), 7.5 mM NiSO<sub>4</sub>, 0.0025% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and 0.02% imidazoline (pH 7.6). Sections were rinsed in Tris-buffered saline at pH 7.6, placed on a microscope slide, and air dried for 24 h before mounting in DPX. Biocytin-filled neurons were drawn with a camera lucida.

## **RESULTS**

Miniature inhibitory currents were recorded at – 60 mV in 36 cells in the presence of glutamate receptor antagonists AP-5 and CNQX, and the sodium channel blocker TTX. Mean series resistance was 13.5 ± 0.6 MΩ and mean cell input resistance was 316 ± 24 MΩ. The action potential-independent miniature IPSCs (mIPSCs) were GABA<sub>A</sub>-mediated since they were completely and reversibly abolished by the GABA<sub>A</sub>

antagonist bicuculline methiodide (25  $\mu$ M) (Figure 1A; n = 6). Characteristics of averaged mIPSCs are summarized in Table I for all cells in control conditions.

#### *GABA<sub>A</sub>-mediated mIPSCs in morphologically identified OA interneurons*

The inclusion of biocytin in the internal patch solution allowed a morphological identification of the interneurons studied. The cells were classified in two different cell types according to their morphology. The first cell type represented 69% of well-filled cells (n = 11 cells) and had a morphology similar to horizontal cells (McBain et al., 1994; Schlander and Frotscher, 1986). Their soma was localized near the alveus border and their dendritic tree projected in str. oriens. Their axon crossed str. pyramidale and radiatum and coursed into str. lacunosum-moleculare where extensive arborization occurred (Fig. 1B). The second cell type, which represented 31% of well-filled cells (n = 5 cells) had a morphology similar to vertical cells (Lacaille et al., 1987; McBain et al., 1994; Schlander and Frotscher, 1986). Their soma was located in str. oriens, and their dendrites were oriented either horizontally in str. oriens or vertically crossing the pyramidal cell layer and reaching in str. radiatum (Fig. 1C). Their axonal arborization coursed in str. oriens and pyramidale. The remaining cells (n = 20 cells) had incomplete labelling of dendrites or axons, and were considered unidentified. Horizontal, vertical and unidentified cells exhibited similar responses to modulators and their results were thus pooled together.

#### *Negative modulation by zinc*

Previous studies demonstrated that extracellular application of zinc inhibits GABA<sub>A</sub>-mediated currents (Legendre and Westbrook, 1991) and that GABA<sub>A</sub> receptors lacking a  $\gamma$  subunit are more sensitive to zinc (Draguhn et al, 1990). Therefore, we tested the ability of zinc to inhibit GABA<sub>A</sub> mIPSCs in OA interneurons. Bath application of 200  $\mu$ M zinc for 15 min significantly decreased the mean amplitude of averaged mIPSCs to  $83 \pm 14\%$  of control (Fig. 2A,C), but did not significantly change the mean rise time ( $105 \pm 3\%$  of control), decay  $\tau$  ( $95 \pm 6\%$  of control) and frequency ( $86 \pm 38\%$  of control) (Fig. 2C; n = 5 cells). The cumulative distribution of mIPSC

amplitudes was significantly shifted towards smaller amplitudes during zinc exposure (Kolmogorov-Smirnov) in 4 of 5 cells (Fig. 2B; range of number of events in different cells: 66-319 events in control, 66-358 events in zinc). These results indicate that synaptic GABA<sub>A</sub> receptors of OA interneurons are negatively modulated by zinc, and with a low sensitivity.

#### *Negative modulation by furosemide*

At relatively low dose, the diuretic furosemide has been reported to act as a selective GABA<sub>A</sub> receptor antagonist on cerebellar granule cells (Korpi et al, 1995) and to inhibit selectively GABA<sub>A</sub> fast IPSCs on hippocampal CA1 pyramidal cells (Banks et al., 1998). Therefore, the effect of furosemide was tested on GABA<sub>A</sub> mIPSCs in OA interneurons. Application of 600  $\mu$ M furosemide for 15 min significantly decreased the mean amplitude of averaged mIPSCs to  $65 \pm 16\%$  of control (Fig. 3A,C; n = 5 cells). In agreement with this effect on averaged mIPSCs, the cumulative distribution of mIPSC amplitudes was significantly shifted towards smaller values during furosemide exposure, in all 5 cells tested (Fig. 3B; Kolmogorov-Smirnov; range of number of events in different cells: 126-263 events in control, 78-242 events in furosemide). The mean rise time ( $105 \pm 9\%$  of control) and frequency ( $121 \pm 21\%$  of control) of mIPSCs were not significantly affected by furosemide (Fig. 3C). Unexpectedly, the mean decay  $\tau$  was significantly increased to  $133 \pm 11\%$  of control during furosemide application (Fig. 3C). However this change in decay  $\tau$  is likely due to the vehicle solution (0.625% DMSO) since its application without furosemide produced a similar significant increase of mIPSCs decay  $\tau$  to  $138 \pm 17\%$  of control (n = 3; Fig. 3C). These results suggest that synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in OA interneurons are negatively modulated by furosemide.

#### *Positive modulation by benzodiazepines*

Pharmacological agents interacting with benzodiazepine binding sites are well known allosteric modulators of GABA<sub>A</sub> receptors. These agents have different mode of action, acting as benzodiazepine agonists (positive modulators), inverse agonists (negative modulators) or antagonists (null modulators) (for review, see Hevers and

Lüddens, 1998). The effects of two benzodiazepine agonists acting on different benzodiazepine binding sites, zolpidem and flunitrazepam, were investigated on mIPSCs in OA interneurons. Zolpidem is an imidazopyridine, which has a higher affinity for receptors containing the  $\alpha_1$  subunit (Lüddens, 1991). Application of 10  $\mu$ M zolpidem for 10 min increased significantly the mean amplitude ( $155 \pm 9\%$  of control), rise time ( $121 \pm 5\%$  of control) and decay  $\tau$  ( $209 \pm 4\%$  of control) of averaged mIPSCs in 5 cells tested (Fig. 4A,B,D). The enhancement produced by zolpidem recovered partially after a 60 min washout (Fig. 4D). In individual cells, the cumulative distributions of mIPSC amplitude, rise time and decay  $\tau$  were shifted toward higher values in zolpidem (Fig. 4C; range of events in different cells: 126-277 events in control, 67-134 events in zolpidem) in almost all cells (5 of 5, 4 of 5 and 3 of 3, respectively). Part of the effects on mIPSC rise time and decay  $\tau$  were due to the vehicle solution (0.625% methanol) since a significant increase of averaged mIPSC rise time and decay  $\tau$  were observed in methanol alone (Fig. 4D). However, zolpidem had significantly greater effects than the vehicle alone on averaged mIPSC rise time ( $121 \pm 5\%$  in zolpidem vs  $111 \pm 7\%$  in methanol) and decay  $\tau$  ( $209 \pm 4\%$  in zolpidem vs  $141 \pm 12\%$  in methanol). In two additional cells, the vehicle methanol was replaced by 0.125% DMSO, which by itself did not affect mIPSCs. In these conditions, zolpidem increased the amplitude ( $167 \pm 5\%$ ), rise time ( $127 \pm 14\%$ ) and decay  $\tau$  ( $205 \pm 10\%$ ) of mIPSCs to levels similar to what was found with methanol. These findings confirm that the potentiation of mIPSCs by zolpidem does not rely on an interaction with the alcohol site, but result from its modulatory action at the benzodiazepine binding site.

The second benzodiazepine agonist tested was flunitrazepam, a modulator with less  $\alpha$  subunit selectivity, and that acts on receptors containing  $\alpha_{1,2,3,5}$  subunits (Hevers and Lüddens, 1998; Lüddens and Wisden, 1991). After application of 10  $\mu$ M flunitrazepam for 10 min, the mean amplitude and decay  $\tau$  of averaged mIPSCs were significantly increased to  $139 \pm 10\%$  and  $182 \pm 16\%$  of control respectively, in 6 cells tested. The enhancement persisted despite 30 min of washout (Fig. 5 A,B,D). In individual cells, the cumulative distributions of the amplitude and decay  $\tau$  of mIPSCs were shifted towards higher values in flunitrazepam (Fig. 5C; Kolmogorov-Smirnov;

range of events in different cells: 138-291 events in control, 84-207 events in flunitrazepam). The mean rise time of averaged mIPSC was not significantly affected by flunitrazepam ( $107 \pm 7\%$  of control) but the mean frequency was significantly increased ( $115 \pm 14\%$  of control).

The vehicle solution alone (0.625% methanol) also increased significantly the mean decay  $\tau$  of averaged mIPSCs. Only part of the effects during application of flunitrazepam were due to the vehicle solution, since flunitrazepam had a significantly greater effect than methanol on the decay  $\tau$  ( $182 \pm 16\%$  vs  $141 \pm 12\%$ , respectively,  $p < 0.05$ ). Since the replacement of methanol by DMSO produced little differences on the modulation of mIPSCs by zolpidem, these results indicate that flunitrazepam caused a positive modulation of mIPSC amplitude and decay  $\tau$ .

It is noteworthy that the mean frequency of mIPSCs were significantly increased to  $113 \pm 25\%$  ( $n=5$ ) and  $115 \pm 14\%$  ( $n=6$ ) of control during zolpidem and flunitrazepam application (Fig. 4D, 5D). However, this effect was not consistently seen in all cells. Zolpidem significantly affected the distribution of inter-event intervals (IEIs) in only one of five cells tested and flunitrazepam in three of six cells tested.

#### *Positive modulation by the neurosteroid allopregnanolone*

Neurosteroids are thought to be synthesized in the vertebrate brain by oligodendrocytes and astrocytes (Akwa et al., 1991). Among neurosteroids, allopregnanolone, a progesterone metabolite, produces anticonvulsant, hypnotic and anxiolytic-like effects that have been proposed to occur via the modulation of GABA<sub>A</sub> receptors (Brot et al., 1997). Thus, we investigated if synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in OA interneurons were sensitive to allopregnanolone. Following the application of  $10 \mu\text{M}$  allopregnanolone for 15 min, the mean decay  $\tau$  of averaged mIPSCs was significantly increased to  $133 \pm 19\%$  of control ( $n = 6$ ; Fig. 6B,D). The effects of allopregnanolone were only partially reversible following a 30 min washout. The mean amplitude ( $109 \pm 11\%$  of control), rise time ( $105 \pm 5\%$  of control) and frequency ( $101 \pm 23\%$  of control) of averaged mIPSCs were not significantly affected during allopregnanolone treatment (Fig. 6D). In individual cells, the cumulative distribution of the decay  $\tau$  of mIPSCs was

significantly shifted towards higher values in 5 of 6 cells exposed to allopregnanolone (Fig. 6C; Kolmogorov-Smirnov; range of events in different cells: 48-201 events in control, 42-159 events in allopregnanolone). Similar application of the vehicle solution alone (0.125% DMSO) did not significantly affect mIPSCs. These results suggest that synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in OA interneurons are positively modulated by the neurosteroid allopregnanolone.

## DISCUSSION

In this study, we examined the sensitivity to allosteric modulators of GABA<sub>A</sub> receptors at inhibitory synapses of hippocampal interneurons of str. oriens-alveus. We found that GABA<sub>A</sub>-mediated mIPSCs were modulated negatively by zinc and furosemide, as well as positively by zolpidem, flunitrazepam and the neurosteroid allopregnanolone. The sensitivity of GABA<sub>A</sub> mIPSCs to these agents suggests that multiple types of GABA<sub>A</sub> receptor subunits co-assemble to form heterogeneous populations of GABA<sub>A</sub> receptors ( $\alpha_{1-5}\beta_{1-3}\gamma_{1-3}$ ) at inhibitory synapses of hippocampal vertical and horizontal interneurons.

### *Modulation by zinc: presence of $\alpha\beta\gamma$ subunits*

The inhibition of mIPSCs by zinc in OA interneurons is consistent with the previously reported negative modulation of GABA<sub>A</sub> receptors by zinc (Legendre and Westbrook, 1991) and indicate that synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in OA interneurons are zinc-sensitive. The potency of zinc was however relatively weaker in CA1 OA interneurons than that reported for dentate gyrus basket cells (Berger et al., 1998). This difference may be attributed to the fact that the effect of zinc in basket cells was tested on GABA-evoked currents in nucleated patches containing mainly somatic membrane, whereas we assessed the effect of zinc on mIPSCs generated by synaptic receptors in both soma and dendrites. It is conceivable that a differential trafficking of GABA<sub>A</sub> receptor subunits occurs in the soma and dendrites of neurons, resulting in distinct receptor subtypes with variable sensitivity to zinc. This differential targeting of GABA<sub>A</sub> receptors with specific subunit composition is corroborated by recent studies



reporting different properties of synaptic and extrasynaptic GABA<sub>A</sub> receptors (Banks and Pearce, 2000; Brickley et al., 1999).

The ability of zinc to inhibit GABA-mediated responses varies also considerably in CA1 pyramidal cells (Pawelzik et al., 1999; Tietz et al., 1999), likely because of the diversity of GABA<sub>A</sub> receptor subunit configurations at different GABA synapses. Such a subunit-dependent efficiency of zinc has been suggested based on the greater zinc sensitivity of GABA<sub>A</sub> receptors lacking the  $\gamma$  subunit (Draghun et al., 1990). Similarly, GABA<sub>A</sub> receptors are more sensitive to zinc in hippocampal cells from young (Kapur and Macdonald, 1999; Taketo and Yoshioka, 2000) or epileptic (Buhl et al., 1996; Shumate et al., 1998) animals which show a different distribution of GABA<sub>A</sub> receptor subunits compared to adult and control animals, respectively (Brooks-Kayal et al., 1998; Fritschy et al., 1994; Schwarzer et al., 1997). Thus, the subunit configuration of GABA<sub>A</sub> receptors is important for the allosteric modulatory action of zinc. In OA interneurons, the reduction in the amplitude of averaged mIPSCs was relatively small (17%) considering the high concentration of zinc used (200  $\mu$ M). This low sensitivity to zinc suggest that synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in OA interneurons are formed of  $\alpha\beta$  subunits (Table II).

#### *Modulation by furosemide: presence of $\alpha_4$ subunit*

The inhibition of mIPSCs by furosemide obtained in this study is consistent with previously reported antagonist properties of furosemide on GABA<sub>A</sub> receptors (Korpi et al., 1995) and indicates that synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in OA interneurons are furosemide sensitive. This negative modulation by furosemide is similar to the inhibition of IPSCs in CA1-CA3 pyramidal cells (Banks et al. 1998; Taketo and Yoshioka, 2000). However, in CA1 pyramidal cells fast mIPSCs are sensitive to furosemide whereas slow IPSCs are insensitive. In OA interneurons, we did not find evidence of differences in kinetics of furosemide-sensitive and -insensitive mIPSCs (Fig. 3). Thus, furosemide-insensitive slow mIPSCs may selectively target CA1 pyramidal cells, but not OA interneurons.

The allosteric modulatory action of furosemide is dependent on the subunit composition of GABA<sub>A</sub> receptors. Receptors containing the  $\alpha_6$  subunit or composed of  $\alpha_4\beta_{2/3}\gamma$  subunits are sensitive to furosemide (Knoflach et al., 1996; Wafford et al., 1996). Interestingly, GABA<sub>A</sub> receptors of dentate granule cells lose their sensitivity to furosemide during development (Kapur and Macdonald, 1999) suggesting a developmental switch in receptor configurations. Since the  $\alpha_6$  subunit is highly expressed in cerebellar granule cells and not in hippocampus (Fritschy and Möhler, 1995), the furosemide sensitivity of synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in OA interneurons suggests that a subpopulation of these receptors are comprised of  $\alpha_4\beta_{2/3}\gamma$  subunits (Table II).

*Modulation by benzodiazepines: presence of  $\alpha_{1/2/3/5}\beta\gamma_2$  subunits*

An increase in duration of the decay phase of GABA<sub>A</sub>-mediated IPSCs are well-documented effects of benzodiazepine agonists that have been observed in CA1/CA3 pyramidal cells (Poncer et al., 1996; Taketo and Yoshioka, 2000; Zeng and Tietz, 1999). We found that in addition to the decay time constant, the amplitude of mIPSCs was increased by zolpidem and flunitrazepam in OA interneurons (Fig. 4 and 5), indicating that synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in these cells were benzodiazepine-sensitive. Since these benzodiazepines increase the open frequency of GABA<sub>A</sub> channels and not their conductance (Hevers and Lüddens, 1998), these results suggest that the release of GABA does not saturate postsynaptic GABA<sub>A</sub> receptors at inhibitory synapses on OA interneurons. Similar effects of benzodiazepines on mIPSCs were also found in pyramidal cells of area CA1 (Zeng and Tietz, 1999) and of layer V of the visual cortex (Perrais and Ropert, 1999) as well as in hippocampal GABAergic interneurons (Hajos et al., 2000). However in CA3 pyramidal cells, the amplitude of mIPSCs was not affected by benzodiazepines, indicating that GABA<sub>A</sub> receptors are saturated by GABA at these synapses (Poncer et al., 1996). Thus, full or partial occupancy of postsynaptic GABA<sub>A</sub> receptors by synaptically-released GABA appears cell type specific.

The small but significant increase in frequency of miniature events detected in a few cells could be due to benzodiazepine effects on mIPSC amplitude. Increasing the

amplitude of small mIPSCs undetected in control conditions may have resulted in their detection in zolpidem and flunitrazepam, resulting in an apparent increase in mIPSC frequency. Alternatively, benzodiazepine effects on mIPSC frequency could be due to unidentified presynaptic actions.

The mechanisms involved in the modulation of the mIPSC rise time by zolpidem but not by flunitrazepam also remain to be determined. The increase in rise time may arise from a preferential action of zolpidem on  $\alpha_1$  subunit-containing receptors, whereas the lack of effect of flunitrazepam may result from its broad actions on  $\alpha_{1/2/3/5}$  subunit-containing receptors (Lüddens and Wisden, 1991). Considering further that the  $\gamma_2$  subunit is important for GABA<sub>A</sub> receptor sensitivity to benzodiazepines (Pritchett et al., 1989), the modulation of mIPSCs by zolpidem and flunitrazepam suggests that postsynaptic GABA<sub>A</sub> receptors at inhibitory synapses of OA interneurons may be composed of  $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$  or  $\alpha_5$  subunits in combination with  $\beta\gamma_2$  subunits ( $\alpha_{1/2/3/5}\beta\gamma_2$ ; Table II).

#### *Modulation by allopregnanolone: presence of $\alpha\beta\gamma$ subunits*

The prolonged decay time constant of mIPSCs in allopregnanolone indicate that synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in OA interneurons are allopregnanolone sensitive. These effects are consistent with the potentiation of inhibitory actions of GABA by allopregnanolone in cultured hippocampal neurons (Majewska et al., 1986) and the reduction of the decay phase of GABA-evoked currents in CA1 pyramidal cells after withdrawal of allopregnanolone (Smith et al., 1998), which may be due to an alteration in the kinetics of GABA currents by neurosteroids (Zhu and Vicini, 1997). Neurosteroids affect GABA<sub>A</sub> receptors containing most subunits, except those comprised of the  $\delta$  subunit (Zhu et al., 1996). In contrast, others have reported faster decaying mIPSCs in hippocampal cells and an attenuated sensitivity to neurosteroids in delta subunit knock out mice (Mihalek et al., 1999). Fritschy and Möhler (1995) reported that the  $\delta$  subunit is expressed in hippocampal interneurons. However, since  $\delta$  subunit-containing GABA<sub>A</sub> receptors are thought to be extrasynaptic in cerebellar granule cells (Nusser et al., 1998), this may also be the case in hippocampal

interneurons. Thus, the positive modulation of mIPSCs by allopregnanolone in OA interneurons suggest that synaptic GABA<sub>A</sub> receptors lack the  $\delta$  subunit and may be composed of combinations of  $\alpha\beta\gamma$  subunits exclusively (Table II).

#### *Functional significance*

The sensitivity of GABA<sub>A</sub> receptor-mediated mIPSCs to the allosteric modulators tested in this study suggest that GABA<sub>A</sub> receptor subunits co-assemble and form populations of receptors with different possible subunit configurations ( $\alpha_{1-5}\beta_{1-3}\gamma_{1-3}$ ) at inhibitory synapses of hippocampal horizontal and vertical interneurons (see Table II). This functional heterogeneity corroborates previous studies which showed that most types of GABA<sub>A</sub> receptor subunits were expressed in the hippocampus (Fritschy and Möhler, 1995; Sperk et al., 1997). This heterogeneity could be due to variations in the subunit composition of receptors at different inhibitory synapses originating from various afferents, as suggested in hippocampal pyramidal cells (Pawelzik et al., 1999; Thomson et al., 2000). Although interneurons receive some inhibitory afferents that are interneuron-selective (Freund and Buzsaki, 1996; Gulyas et al., 1996), the pharmacological profile of GABA<sub>A</sub> receptors in interneurons is in large part similar to that of GABA<sub>A</sub> receptors in pyramidal cells: sensitive to zinc (Pawelzik et al., 1999; Taketo and Yoshioka, 2000; Tietz et al., 1999), furosemide (Banks et al., 1998; Taketo and Yoshioka, 2000), benzodiazepines (Poncer et al., 1996; Taketo and Yoshioka, 2000; Tietz et al., 1999; Zeng and Tietz, 1999) and allopregnanolone (Smith et al., 1998). This suggests that synaptic GABA<sub>A</sub> receptors in interneurons and pyramidal cells have similar subunit configurations. Thus, because of this similar receptor composition in pyramidal cells and inhibitory interneurons, agents aimed at modulating GABA<sub>A</sub> inhibition in pyramidal cells will also affect GABA<sub>A</sub> inhibitory synapses onto interneurons, and thus produce opposite indirect effects on inhibition of pyramidal cells in intact hippocampal networks.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

This work was supported by the Canadian Institutes for Health Research (J.-C.L.), the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ: J.-C.L.), a Research Center grant from the Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche (FCAR) to the Groupe de Recherche sur le Système Nerveux Central (GRSNC) and an Équipe de Recherche grant from the FCAR (J.-C.L.). S.N. was supported by postdoctoral fellowships from the Heart and Stroke Foundation of Canada and the FRSQ.

**REFERENCES**

- Akwa Y, Young J, Kabbadj K, Sancho MJ, Zucman D, Vourc'h C, Jung-Testas I, Hu ZY, LeGoascogne C, Jo DH, Carpechot C, Simon P, Baulieu EE, Robel P. 1991. Neurosteroids: Biosynthesis, metabolism and function of pregnenolone and dehydroepiandrosterone in the brain. *J Steroid Biochem Mol Biol* 40 (1-3): 71-81.
- Atzori M. 1996. Pyramidal cells and stratum lacunosum-moleculare interneurons in the CA1 hippocampal region share a GABAergic spontaneous input. *Hippocampus* 6: 72-78.
- Banks MI, Li TB, Pearce RA. 1998. The synaptic basis of GABA<sub>A, slow</sub>. *J Neurosci* 18: 1305-1317.
- Banks MI, Pearce RA. 2000. Kinetic differences between synaptic and extrasynaptic GABA<sub>A</sub> receptors in CA1 pyramidal cells. *J Neurosci* 20: 937-948.
- Berger T, Schwartz C, Kraushaar U, Monyer H. 1998. Dentate gyrus basket cell GABA<sub>A</sub> receptors are blocked by Zn<sup>2+</sup> via changes in their desensitization kinetics: an in situ patch-clamp and single-cell PCR study. *J Neurosci* 18: 2437-2448.
- Bonnert TP, McKernan RM, Farrar S, Le Bourdellès B, Heavens RP, Smith DW, Hewson L, Sirinathsinghji DJS, Brown N, Wafford KA, Whiting PJ. 1999.  $\theta$ , a novel  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor subunit. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 9891-9896.
- Brickley SG, Cull-Candy SG, Farrant M. 1999. Single-channel properties of synaptic and extrasynaptic GABA<sub>A</sub> receptors suggest differential targetting of receptor subtypes. *J Neurosci* 19: 2960-2973.
- Brooks-Kayal AR, Jin H, Price M, Dichter MA. 1998. Developmental expression of GABA<sub>A</sub> receptor subunit mRNAs in individual hippocampal neurons in vitro and in vivo. *J Neurochem* 70: 1017-1028.
- Brot MD, Akwa Y, Purdy RH, Koob GF, Britton KT. 1997. The anxiolytic-like effects of the neurosteroid allopregnanolone: interactions with GABA<sub>A</sub> receptors. *Eur J Pharmacol* 325: 1-7.
- Buhl EH, Otis TS, Mody I. 1996. Zinc-induced collapse of augmented inhibition by GABA in a temporal lobe epilepsy model. *Science* 271: 369-373.

- Draguhn A, Verdoorn TA, Ewert M, Seeburg PH, Sakmann B. 1990. Functional and molecular distinction between recombinant rat GABA<sub>A</sub> receptor subtypes by Zn<sup>2+</sup>. *Neuron* 5: 781-788.
- Freund TF, Buzsaki G. 1996. Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* 6: 347-470.
- Fritschy JM, Paysan J, Enna A, Mohler H. 1994. Switch in the expression of rat GABA<sub>A</sub>-receptor subtypes during postnatal development: An immunohistochemical study. *J Neurosci* 14: 5302-5324.
- Fritschy JM, Mohler H. 1995. GABA<sub>A</sub>-receptor heterogeneity in the adult rat brain: Differential regional and cellular distribution of seven major subunits. *J Comp Neurol* 359: 154-194.
- Gao B, Fritschy JM. 1994. Selective allocation of GABA<sub>A</sub> receptors containing the  $\alpha 1$  subunit to neurochemically distinct subpopulations of rat hippocampal interneurons. *Eur J Neurosci* 6: 837-853.
- Gulyas AI, Hajos N, Freund TF. 1996. Interneurons containing calretinin are specialized to control other interneurons in the rat hippocampus. *J Neurosci* 16: 3397-3411.
- Hajos N, Mody I. 1997. Synaptic communication among hippocampal interneurons: properties of spontaneous IPSCs in morphologically identified cells. *J Neurosci* 17: 8427-8442.
- Hajos N, Nusser Z, Rancz EA, Freund TF, Mody I. 2000. Cell type- and synapse-specific variability in synaptic GABA<sub>A</sub> receptor occupancy. *Eur J Neurosci* 12: 810-818.
- Hevers W, Lüddens H. 1998. The diversity of GABA<sub>A</sub> receptors. *Mol Neurobiol* 18: 35-86.
- Johnston GAR. 1996. GABA<sub>A</sub> receptor pharmacology. *Pharmacol Ther* 69: 173-198.
- Kapur J, Macdonald RL. 1999. Postnatal development of hippocampal dentate granule cell  $\gamma$ -aminobutyric acid<sub>A</sub> receptor pharmacological properties. *Mol Pharmacol* 55: 444-452.
- Knoflach F, Benke D, Wang Y, Scheurer L, Lüddens H, Hamilton BJ, Carter DB, Mohler H, Benson JA. 1996. Pharmacological modulation of the diazepam-

- insensitive recombinant  $\gamma$ -aminobutyric acid<sub>A</sub> receptors  $\alpha 4\beta 2\gamma 2$  and  $\alpha 6\beta 2\gamma 2$ . *Mol Pharmacol* 50: 1253-1261.
- Korpi ER, Kuner T, Seeberg PH, Lüddens H. 1995. Selective antagonist for the cerebellar granule cell-specific gamma-aminobutyric acid type A receptor. *Mol Pharmacol* 47: 283-289.
- Lacaille JC, Mueller A, Kunkel DD, Schwartzkroin PA. 1987. Local circuit interactions between oriens/alveus interneurons and CA1 pyramidal cells in hippocampal slices: electrophysiology and morphology. *J Neurosci* 7: 1979-1993.
- Legendre P, Westbrook GL. 1991. Noncompetitive inhibition of gamma-aminobutyric acid<sub>A</sub> channels by Zn. *Mol Pharmacol* 39: 267-274.
- Lüddens H, Wisden W. 1991. Function and pharmacology of multiple GABA<sub>A</sub> receptor subunits. *Trends Pharmacol Sci* 12: 49-51.
- Majewska MD, Harrison NL, Schwartz RD, Barker JL, Paul SM. 1986. Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science* 232: 1004-1007.
- McBain, CJ, DiChiara TJ, Kauer JA. 1994. Activation of metabotropic glutamate receptors differentially affects two classes of hippocampal interneurons and potentiates excitatory synaptic transmission. *J Neurosci* 14: 4433-4445.
- McKernan RM, Whiting PJ. 1996. Which GABA<sub>A</sub>-receptor subtypes really occur in the brain? *Trends Neurosci* 19: 139-143.
- Mihalek RM, Banerjee PK, Korpi ER, Quinlan JJ, Firestone LL, Mi ZP, Lagenaur C, Tretter V, Sieghart W, Anagnostaras SG, Sage JR, Fanselow MS, Guidotti A, Spigelman I, Li Z, DeLorey TM, Olsen RW, Homanics GE. 1999. Attenuated sensitivity to neuroactive steroids in  $\gamma$ -aminobutyrate type A receptor delta subunit knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 12905-12910.
- Nayeem N, Green TP, Martin IL, Barnard EA. 1994. Quaternary structure of the native GABA<sub>A</sub> receptor determined by electron microscopic image analysis. *J Neurochem* 62: 815-818.



- Nusser Z, Sieghart W, Benke D, Fritschy JM, Somogyi P. 1996. Differential synaptic localization of two major gamma-aminobutyric acid type A receptor  $\alpha$  subunits on hippocampal pyramidal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 11939-11944.
- Nusser Z, Sieghart W, Somogyi P. 1998. Segregation of different GABA<sub>A</sub> receptors to synaptic and extrasynaptic membranes of cerebellar granule cells. *J Neurosci* 18: 1693-1703.
- Patenaude C, Nurse S, Lacaille JC. 1999. Modulation of GABA<sub>A</sub> miniature postsynaptic currents in hippocampal oriens-alveus interneurons. *Soc Neurosci Abst* 25: 1246.
- Pawelzik H, Bannister AP, Deuchars J, Ilia M, Thomson AM. 1999. Modulation of bistratified cell IPSPs and basket cell IPSPs by pentobarbitone sodium, diazepam and Zn<sup>2+</sup>: dual recordings in slices of adult rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 11: 3552-3564.
- Perrais D, Ropert N. 1999. Effect of zolpidem on miniature IPSCs and occupancy of postsynaptic GABA<sub>A</sub> receptors in central synapses. *J Neurosci* 19: 578-588.
- Poncer JC, Dürr R, Gähwiler BH, Thompson SM. 1996. Modulation of synaptic GABA<sub>A</sub> receptor function by benzodiazepines in area CA3 of rat hippocampal slice cultures. *Neuropharmacology* 35: 1169-1179.
- Pritchett DB, Sontheimer H, Shivers BD, Ymer S, Kettenmann H, Schofield PR, Seeberg PH 1989. Importance of a novel GABA<sub>A</sub> receptor subunit for benzodiazepine pharmacology. *Nature* 338: 582-585.
- Schlandler M, Frotscher M. 1986. Non-pyramidal neurons in the guinea pig hippocampus: a combined Golgi-electron microscope study. *Anat Embryol* 174: 35-47.
- Schwarzer C, Tsunashima K, Wanzenböck C, Fuchs K, Sieghart W, Sperk G. 1997. GABA<sub>A</sub> receptor subunits in the rat hippocampus II: altered distribution in kainic acid-induced temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 80: 1001-1017.
- Shumate MD, Lin DD, Gibbs JW, Holloway KL, Coulter DA. 1998. GABA<sub>A</sub> receptor function in epileptic human dentate granule cells: comparison to epileptic and control rat. *Epilepsy Res* 32: 114-128.
- Sivilotti L, Nistri A. 1991. GABA receptor mechanisms in the central nervous system. *Prog Neurobiol* 36: 35-92.

- Smith SS, Gong QH, Li X, Moran MH, Bitran D, Frye CA, Hsu FC. 1998. Withdrawal from 3alpha-OH-5alpha-pregnan-20-one using a pseudopregnancy model alters the kinetics of hippocampal GABAA-gated current and increases the GABAA receptor alpha4 subunit in association with increased anxiety. *J Neurosci* 18: 5275-5284.
- Sperk G, Schwarzer C, Tsunashima K, Fuchs K, Sieghart W. 1997. GABA<sub>A</sub> receptor subunits in the rat hippocampus I: Immunocytochemical distribution of 13 subunits. *Neuroscience* 80: 987-1000.
- Taketo M, Yoshioka T. 2000. Developmental change of GABA<sub>A</sub> receptor-mediated current in rat hippocampus. *Neuroscience* 96: 507-514.
- Thomson AM, Bannister AP, Hugues DI, Pawelzik H. 2000. Differential sensitivity to zolpidem of IPSPs activated by morphologically identified CA1 interneurons in slices of rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 12: 425-436.
- Tietz EI, Kapur J, Macdonald RL. 1999. Functional GABA<sub>A</sub> receptor heterogeneity of acutely dissociated hippocampal CA1 pyramidal cells. *J Neurophysiol* 81: 1575-1586.
- Wafford KA, Thompson SA, Thomas D, Sikila J, Wilcox AS, Whiting PJ. 1996. Functional characterization of human gamma-aminobutyric acid A receptors containing the alpha-4 subunit. *Mol Pharmacol* 50: 670-678.
- Wisden W, Laurie DJ, Monyer H, Seeburg PH. 1992. The distribution of 13 GABA<sub>A</sub> receptor subunit mRNAs in the rat brain. I. Telencephalon, diencephalon, mesencephalon. *J Neurosci* 12: 1040-1062.
- Zeng XJ, Tietz EI. 1999. Benzodiazepine tolerance at GABAergic synapses on hippocampal CA1 pyramidal cells. *Synapse* 31: 263-277.
- Zhu WJ, Wang JF, Krueger KE, Vicini S. 1996.  $\delta$  subunit inhibits neurosteroid modulation of GABA<sub>A</sub> receptors. *J Neurosci* 16: 6648-6656.
- Zhu WJ, Vicini S. 1997. Neurosteroid prolongs GABA<sub>A</sub> channel deactivation by altering kinetics of desensitized states. *J Neurosci* 17: 4022-4031.

**Table I: Averaged mIPSCs recorded in OA interneurons.**

	Amplitude (pA)	Rise time (ms)	Decay time constant (ms)	Frequency (Hz)
Mean	37.4	1.52	14.6	4.4
Standard error	1.4	0.04	0.7	0.3
Range (min - max)	19.5 – 56.1	1.11 – 2.01	10.9 – 32.6	1.0 – 9.9

mIPSCs recorded in CNQX, AP5 and TTX.

Data are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. from 36 OA interneurons.

**Table II: Modulation of GABA<sub>A</sub> mIPSCs in OA interneurons.**

	Amplitude	Rise time	Decay time constant	Frequency	Possible GABA <sub>A</sub> receptor subunits
Zinc	↓	—	—	—	$\alpha\beta\gamma$
Furosemide	↓	—	—	—	$\alpha_4\beta_{2/3}\gamma$
Zolpidem	↑	↑	↑	—	$\alpha_1\beta\gamma_2$
Flunitrazepam	↑	—	↑	—	$\alpha_{1/2/3/5}\beta\gamma_2$
Allopregnanolone	—	—	↑	—	$\alpha\beta\gamma$ (lacking $\delta$ )

— no change, ↓ significant decrease, ↑ significant increase.

**Fig. 1. GABA<sub>A</sub>-mediated mIPSCs in morphologically identified interneurons.**

(A) Miniature IPSCs recorded at -60 mV in the presence of CNQX, AP5 and TTX were fast inward currents. They were reversibly abolished by bicuculline, indicating that they were GABA<sub>A</sub>-mediated. (B and C) Examples of camera lucida drawings of well-filled horizontal (B) and vertical (C) interneurons in OA labelled with biocytin. Arrows point to axons. Str. oriens (ori.), pyramidale (pyr), radiatum (rad.), lacunosum-moleculare (l.-m.).

**Fig. 2. Negative modulation of mIPSCs by zinc.**

A) Samples of mIPSCs (*top three traces*) from a cell recorded in control (left), after application of 200  $\mu$ M zinc for 15 min (middle) and after a 30 min washout (right). The averaged mIPSCs for 90 sec periods in each condition are illustrated below. In the presence of zinc the mIPSC amplitude was reduced. B) Graph of cumulative distribution of mIPSC amplitudes from the same cell demonstrating a significant shift towards smaller amplitudes in zinc (*273 events in control, 244 events in zinc, 287 events in wash*). C) Summary histogram of properties of averaged mIPSCs for cells in zinc and after washout. The mean amplitude was significantly decreased in zinc (\*\*).

**Fig.3. Negative modulation by furosemide.**

A) Samples of mIPSCs (*top three traces*) in control (left), after 15 min application of 600  $\mu$ M furosemide (middle) and after a 30 min washout (right). Corresponding averaged mIPSCs for each condition (*bottom trace*) show a reduced amplitude in furosemide. B) Graph of cumulative distribution of mIPSC amplitude from the same cell, revealing a significant shift towards smaller amplitudes in furosemide (*251 events in control, 241 events in furosemide, 187 events in wash*). C) Summary histogram of properties of averaged mIPSCs for all cells in furosemide and after washout, as well as for cells exposed to the vehicle solution alone (0.625% DMSO). The mean amplitude was decreased in furosemide (\*\* significantly different from control and DMSO). The mean decay  $\tau$  was significantly increased in both furosemide (in DMSO; \*) and vehicle (DMSO alone;  $\Delta$ ), indicating a significant effect due to DMSO on this parameter.

**Fig.4. Positive modulation by zolpidem.**

A) Samples of mIPSCs (*top three traces*) in control (left), after 10 min application of 10  $\mu$ M zolpidem (middle) and after a 60 min washout (right). Corresponding averaged mIPSCs for each condition (*bottom trace*) show the enhanced current amplitude in zolpidem. B) Averaged mIPSCs from panel A scaled to the peak amplitude, show the increased duration of mIPSC in zolpidem, and the partial recovery after washout. C) Graph of cumulative distribution of amplitude, rise time, decay  $\tau$  and inter-event interval of mIPSCs from the cell in A, illustrating the significant shift towards larger amplitudes, as well as slower rise time and decay  $\tau$  in zolpidem (*186 events in control, 94 events in zolpidem, 134 events in wash*). There was no significant change in the distribution of the inter-event intervals in zolpidem (*323 events in control, 378 events in zolpidem, 330 events in wash*). D) Summary histogram of properties of averaged mIPSCs for all cells tested in zolpidem and after washout, as well as for cells exposed to the vehicle solution alone (0.625% methanol). The mean amplitude was increased in zolpidem (\*\* significantly different from control and methanol). The mean rise time and decay  $\tau$  were significantly increased in both zolpidem (in methanol) and vehicle alone (methanol;  $\Delta$ ). However the changes were significantly greater in zolpidem than in vehicle. The mean frequency of events was also significantly increased in zolpidem (\* significantly different from control but not methanol).

**Fig. 5. Positive modulation by flunitrazepam.**

A) Samples of mIPSCs (*top three traces*) in control (left), after 10 min application of 10  $\mu$ M flunitrazepam (middle) and after a 30 min washout (right). Corresponding averaged mIPSCs for each condition (*bottom trace*) show the enhanced current amplitude in flunitrazepam. B) Averaged mIPSCs from panel A scaled to peak amplitude, illustrate the increased duration and slower decay time of mIPSC in flunitrazepam. C) Graph of cumulative distribution of amplitude, decay  $\tau$  and inter-event interval of mIPSCs from the cell in A, illustrating the significant shift towards larger amplitude and slower decay  $\tau$  in flunitrazepam (Kolmogorov-Smirnov; *239 events in control, 186 events in flunitrazepam, 159 events in wash*). In this cell, there was no significant change in the

distribution of the inter-event intervals in flunitrazepam (*458 events in control, 519 events in flunitrazepam, 413 events in wash*). D) Summary histogram of properties of averaged mIPSCs for all cells tested in flunitrazepam and after washout, as well as for cells exposed to the vehicle solution alone (0.625% methanol). The mean amplitude was increased in flunitrazepam (\*\* significantly different from control and methanol). The mean decay  $\tau$  was significantly increased in both flunitrazepam (in 0.625% methanol) and vehicle alone (0.625% methanol;  $\Delta$  significantly different from control). However, the changes were significantly greater in flunitrazepam than in vehicle. The mean frequency of events was also significantly increased in flunitrazepam (\* significantly different from control, but not methanol).

**Fig. 6. Positive modulation by allopregnanolone.**

A) Samples of mIPSCs (*top three traces*) from a cell recorded in control (left), after application of 10  $\mu$ M allopregnanolone for 15 min (middle), and after a 30 min washout (right). Corresponding averaged mIPSCs for each condition are illustrated below (*bottom*). B) Averaged mIPSCs from panel A scaled to peak amplitude, illustrate the slower decay time of mIPSCs in allopregnanolone. C) Graph of cumulative distribution of decay  $\tau$  of mIPSCs from the cell in A reveal a significant shift towards slower decay  $\tau$  in allopregnanolone. The effect was not reversed after 30 min of washout (*112 events in control, 113 events in allopregnanolone, 81 events in wash*). D) Summary histogram of properties of averaged mIPSCs for all cells tested in allopregnanolone and after washout. The mean decay  $\tau$  was significantly increased in allopregnanolone (\*\*).

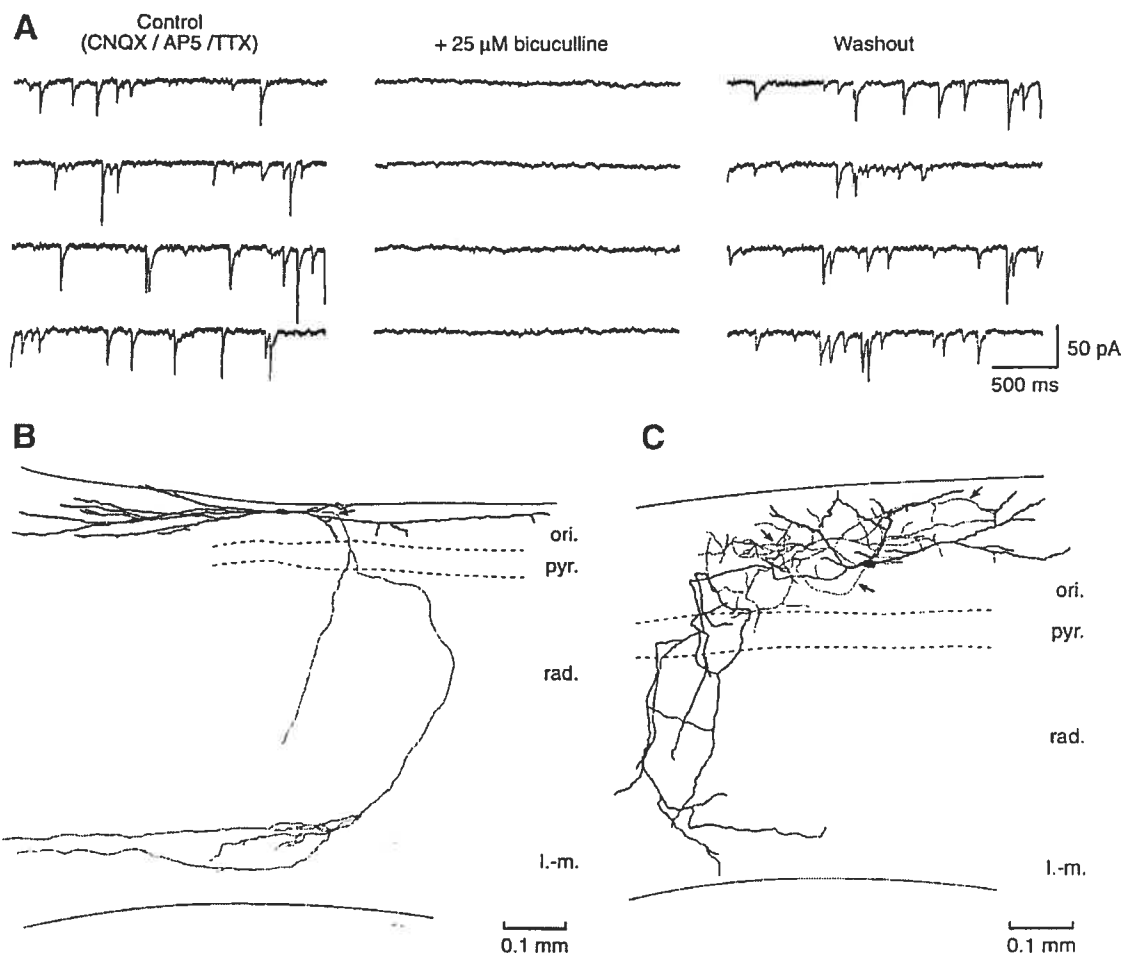


Figure 1

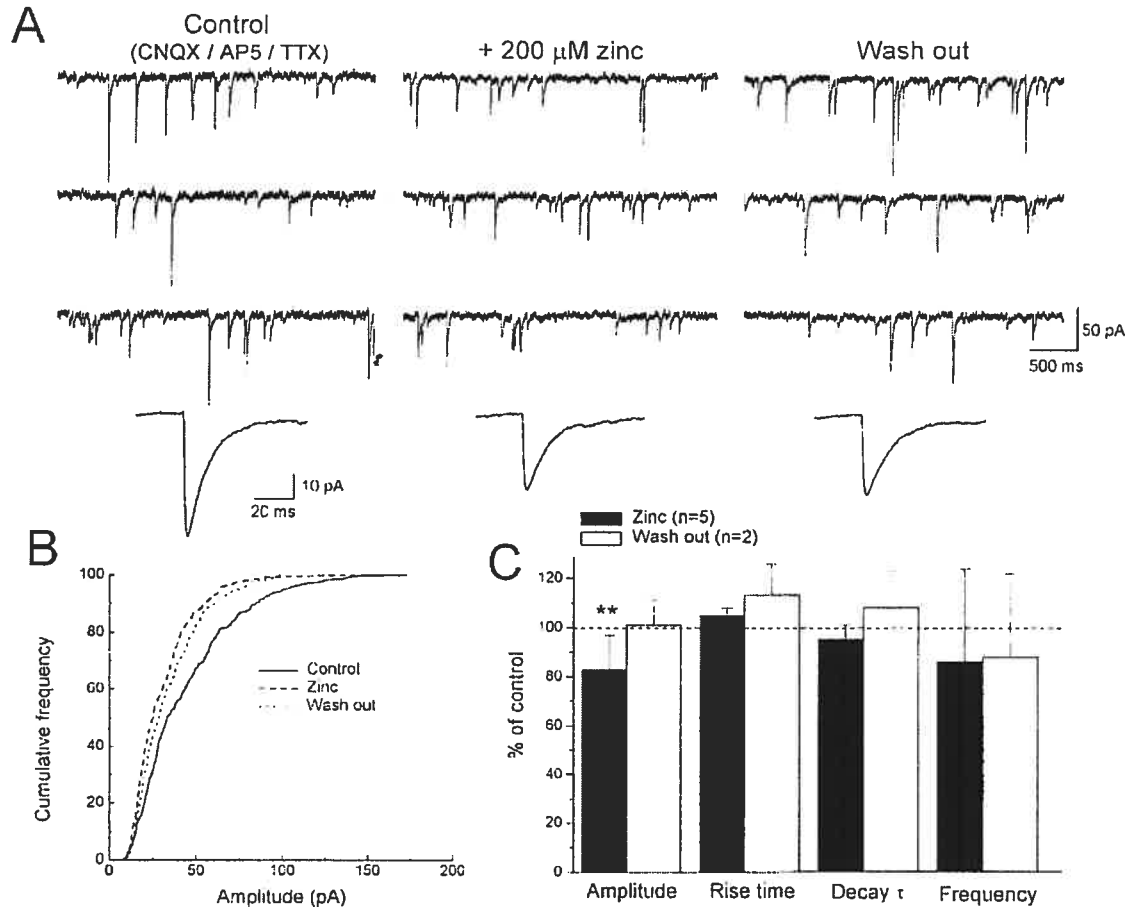


Figure 2



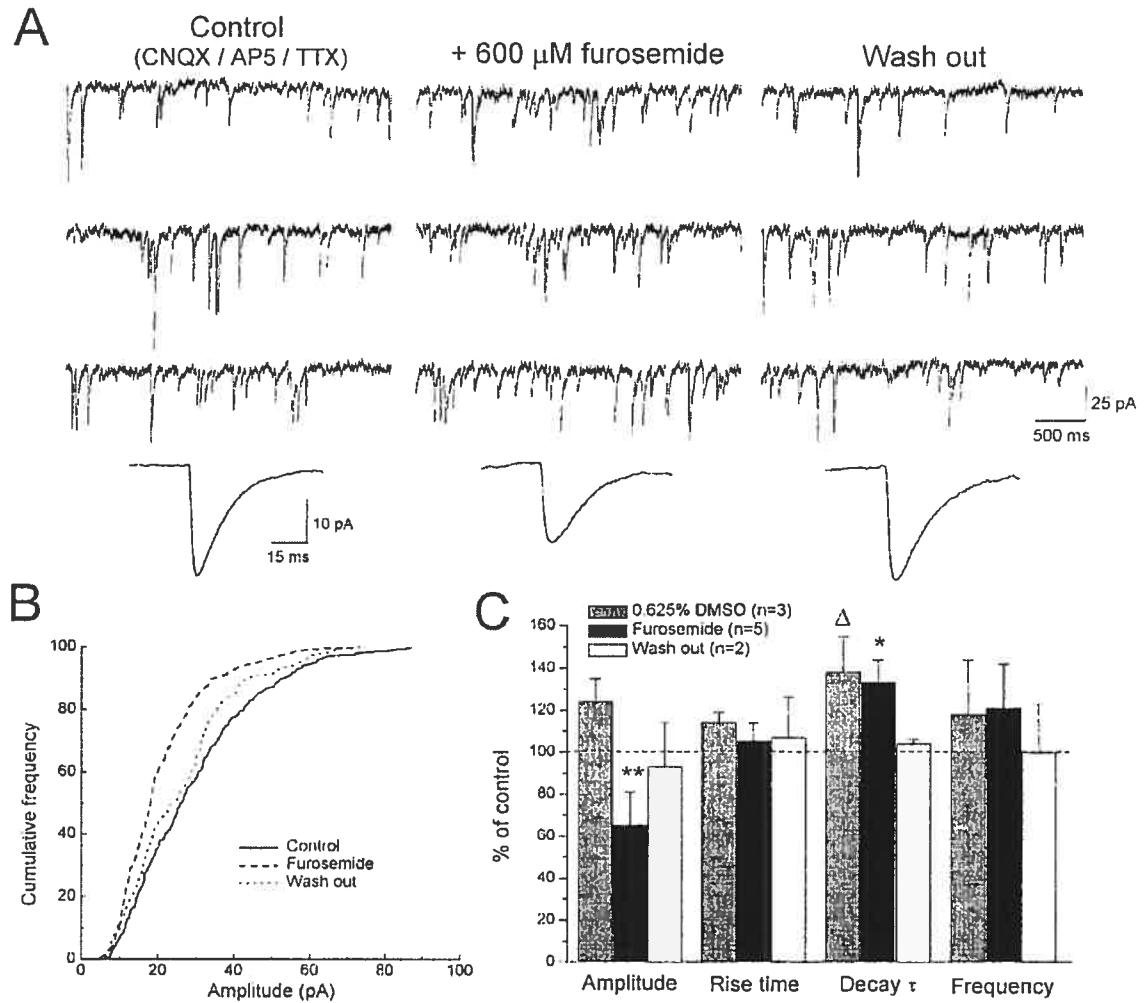


Figure 3

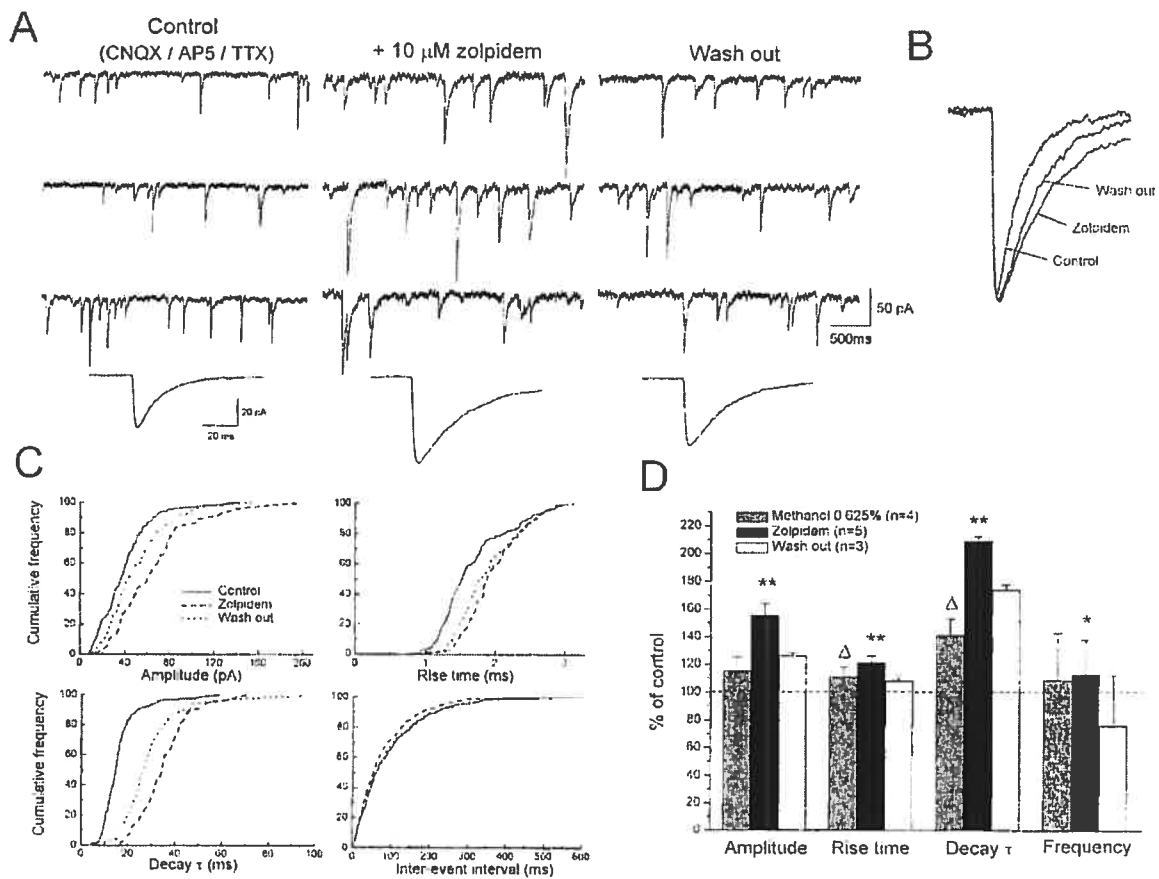


Figure 4

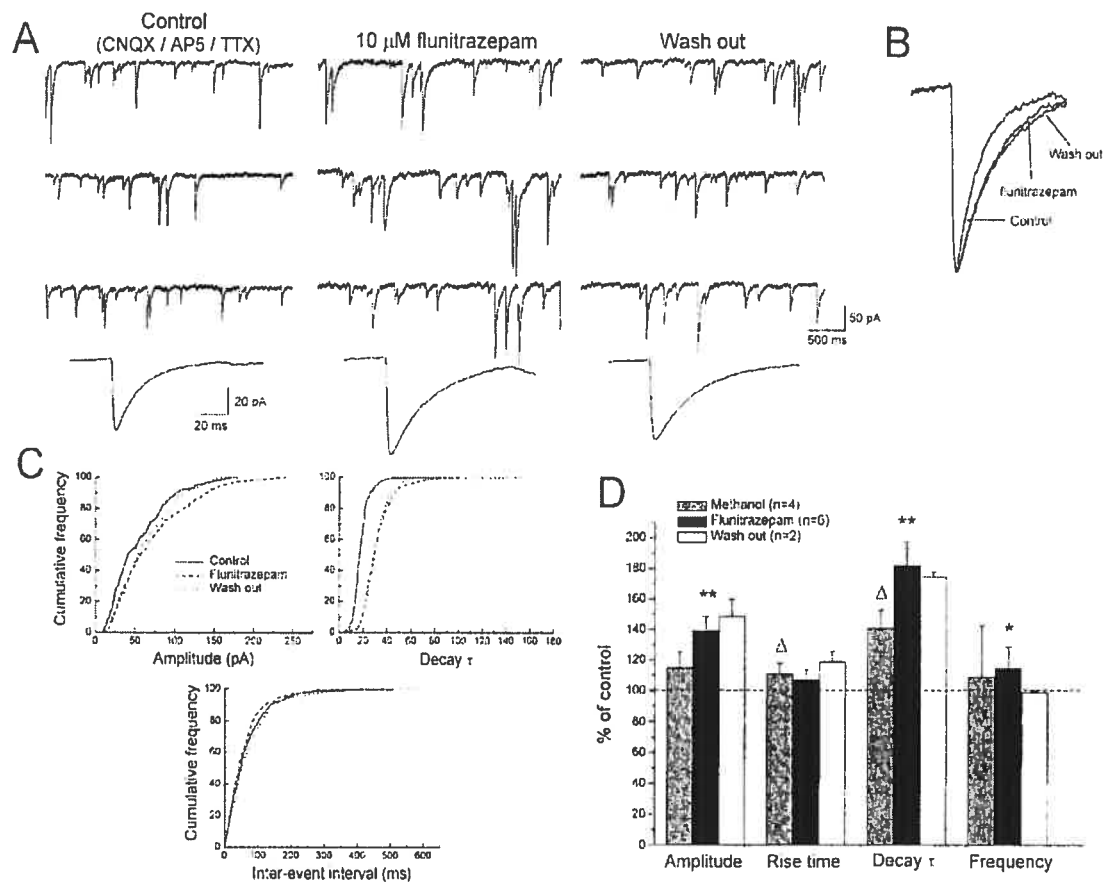


Figure 5

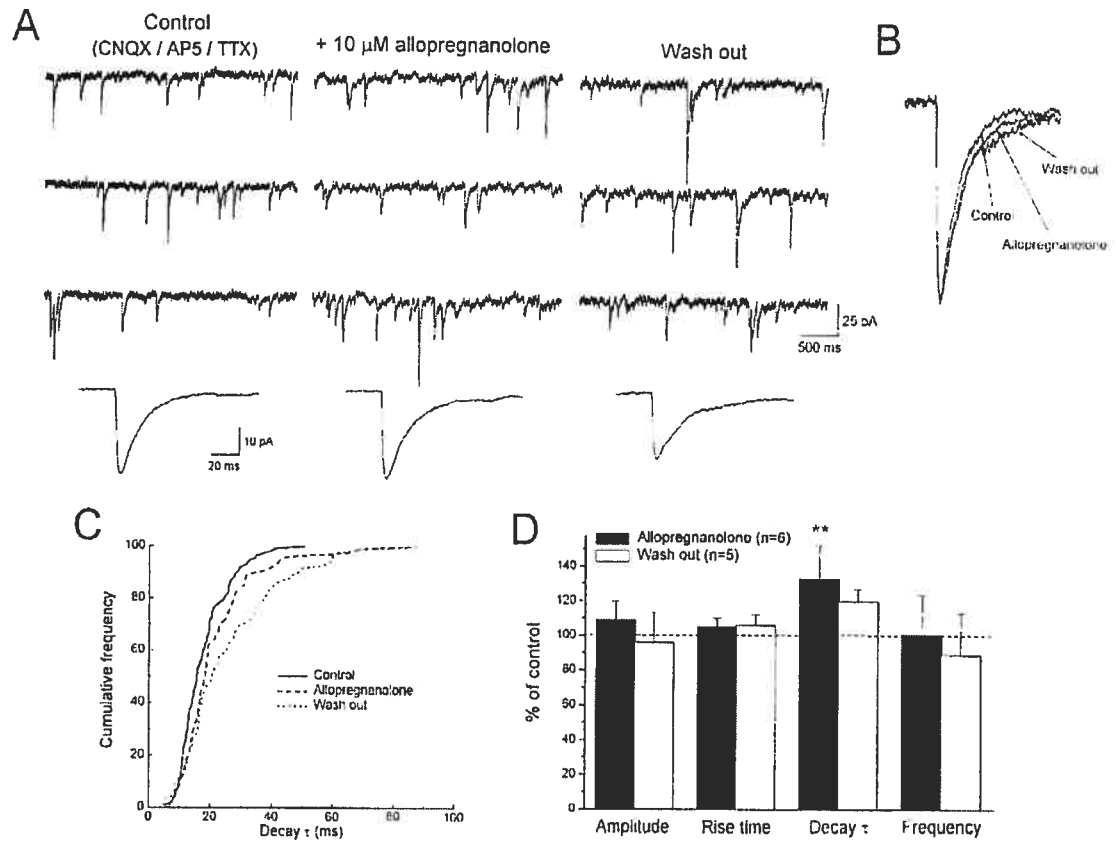


Figure 6

## **CHAPITRE 5**

### **DISCUSSION GÉNÉRALE**

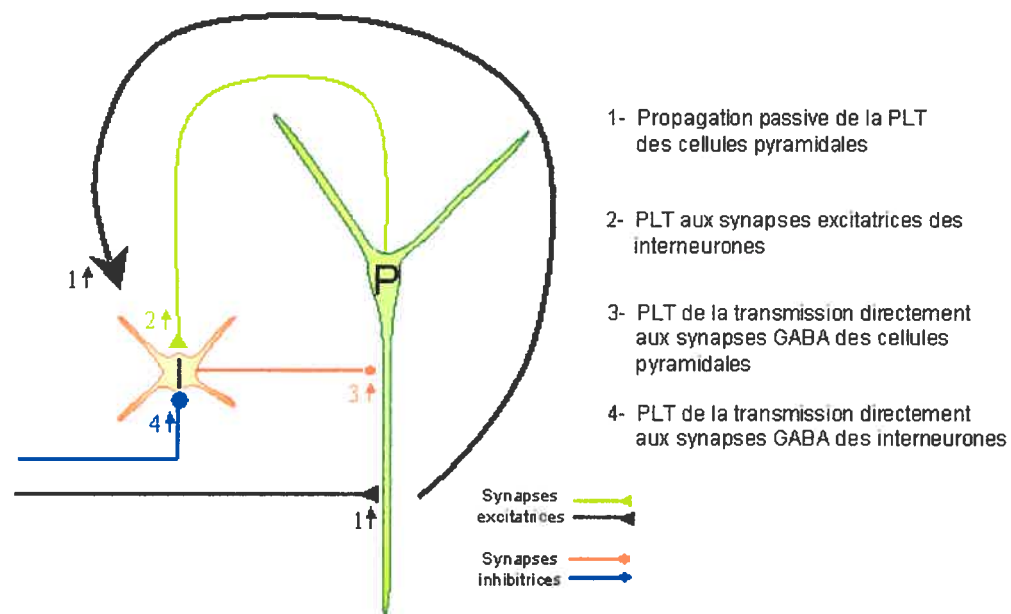
### **5.1 Récapitulation des résultats principaux et plan de la discussion**

Nos travaux ont démontré que les synapses GABAergiques des cellules pyramidales expriment une PLT suite à une stimulation rythmique en bouffée à la fréquence du rythme thêta. La PLT dépend des protéines G postsynaptiques de même que d'une élévation postsynaptique du  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire et nécessite une activation conjointe des récepteurs  $\text{GABA}_B$  et des récepteurs métabotropes du glutamate postsynaptiques (Patenaude et al., 2003). Cependant, la transmission à ces mêmes synapses subit une dépression transitoire après une stimulation intense à haute fréquence. Il a également été observé que les synapses GABAergiques des interneurons de la couche radiatum expriment aussi la PLT suite à une stimulation rythmique en bouffée à la fréquence thêta (Patenaude et al. 2005). Toutefois, contrairement aux synapses GABAergiques des cellules pyramidales, les synapses inhibitrices formées sur les interneurons ne montrent aucune dépression suite à une stimulation à haute fréquence ou une dépolarisation postsynaptique. Finalement, l'application de modulateurs allostériques des récepteurs  $\text{GABA}_A$  a révélé que les récepteurs synaptiques sont hétérogènes sur les interneurons de la couche oriens/alveus (Patenaude et al., 2001). Dans ce chapitre de discussion, j'aborderai dans un premier temps les différents sites synaptiques où la PLT a été décrite au sein des circuits inhibiteurs de l'hippocampe et de l'apport de nos travaux à ce sujet. Je discuterai également des mécanismes de la PLT et de la transmission aux synapses GABAergiques, et je soulignerai les principales différences entre les synapses des cellules pyramidales et des interneurons. S'ensuivra une section portant sur la modulation pharmacologique des récepteurs  $\text{GABA}_A$  sur les interneurons. J'évaluerai de plus comment la plasticité aux synapses GABAergiques peut affecter la fonction des réseaux neuronaux et contribuer aux changements comportementaux. Finalement, je terminerai cette discussion en proposant plusieurs séries d'expériences qui pourraient être effectuées éventuellement afin d'approfondir nos connaissances sur le sujet.

### **5.2 Sites de la PLT au sein des réseaux inhibiteurs de l'hippocampe**

Un train de stimulation à haute fréquence (SHF) et une stimulation en bouffée  $\theta$  (SBT) des collatérales de Schaffer sont les deux protocoles de stimulation utilisés

fréquemment pour induire la PLT des synapses excitatrices sur les cellules pyramidales du CA1. Ces protocoles affectent en parallèle la transmission inhibitrice, mais la direction des modifications dépend de la nature de la stimulation puisque la SHF provoque seulement une dépression transitoire des PPSIs polysynaptiques tandis que la SBT entraîne une augmentation durable de l'inhibition et la PLT des PPSIs (Chapman *et al.*, 1998; Perez *et al.*, 1999). Des études antérieures ont rapporté que la PLT de la transmission inhibitrice résultait soit d'une excitabilité accrue des interneurons suite à la propagation passive de la PLT des cellules pyramidales (Maccaferri & McBain, 1995) ou d'une PLT de la transmission aux synapses excitatrices des interneurons (Taube & Schwartzkroin, 1987; Ouardouz & Lacaille, 1995; Perez *et al.*, 2001). Nos données ajoutent une nouvelle dimension à la plasticité des réseaux inhibiteurs en démontrant que les synapses GABAergiques des cellules pyramidales et des interneurons de la couche radiatum (RAD) sont également renforcées pour une longue période suite à une stimulation à la fréquence du rythme  $\theta$  (Patenaude *et al.*, 2003, 2005) (Figure 1).



**Figure 1: Schéma simplifié illustrant les différents sites synaptiques pouvant exprimer la PLT au sein des circuits inhibiteurs**

Nos travaux sont compatibles avec les données récentes qui indiquent que l'activité neuronale engendre des changements à long terme de la transmission aux synapses GABAergiques (Gaiarsa *et al.*, 2002). Plus spécifiquement, il a été rapporté chez le rat juvénile qu'une PLT présynaptique est induite aux synapses GABAergiques des cellules pyramidales du CA1 suite à une stimulation à haute fréquence (100 Hz) (Shew *et al.*, 2000). De même, Woodin *et al.* (2003) ont observé qu'une stimulation jumelée à une dépolarisation postsynaptique produit une autre forme de PLT qui dépend de la réduction de l'activité des co-transporteurs  $K^+-Cl^-$  (KCC). Par contre chez les animaux adultes, une stimulation à haute fréquence provoque une DLT mettant en cause la déphosphorylation des récepteurs GABA<sub>A</sub> postsynaptiques par la protéine phosphatase calcineurine (Lu *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2003) ou l'inhibition de la relâche de GABA par les récepteurs cannabinoïdes de type 1 (CB1) présynaptiques activés suite à la libération rétrograde d'endocannabinoïdes (Chevalyere & Castillo, 2003).

Toutes les études qui traitent de la plasticité à long terme des synapses GABAergiques ont été effectuées sur les cellules principales (cellules pyramidales et granulaires). Donc, nos travaux sur la PLT aux synapses GABA des interneurons de la couche radiatum constituent la première démonstration que la transmission inhibitrice peut également subir des modifications persistantes sur ces cellules. Le fait que la PLT puisse être induite autant aux synapses GABAergiques des cellules pyramidales que des interneurons peut à priori paraître paradoxal, puisqu'une inhibition accrue des interneurons devrait conduire à la désinhibition des cellules pyramidales et ainsi contrer la PLT aux synapses GABAergiques des cellules pyramidales. Cependant, dans des conditions physiologiques où les circuits de l'hippocampe sont intacts, la plasticité des interneurons peut avoir d'autres conséquences qu'une simple opposition à la PLT des cellules pyramidales. Premièrement, même si l'on considère que les afférences inhibitrices qui contactent les interneurons RAD ciblent également les cellules pyramidales du CA1 (et donc, que la PLT survient simultanément sur les deux populations de cellules), il est possible que la désinhibition et la PLT aux synapses GABAergiques des cellules pyramidales se produisent sur des domaines cellulaires différents. Il a d'ailleurs été démontré que l'inhibition était diminuée sur les dendrites



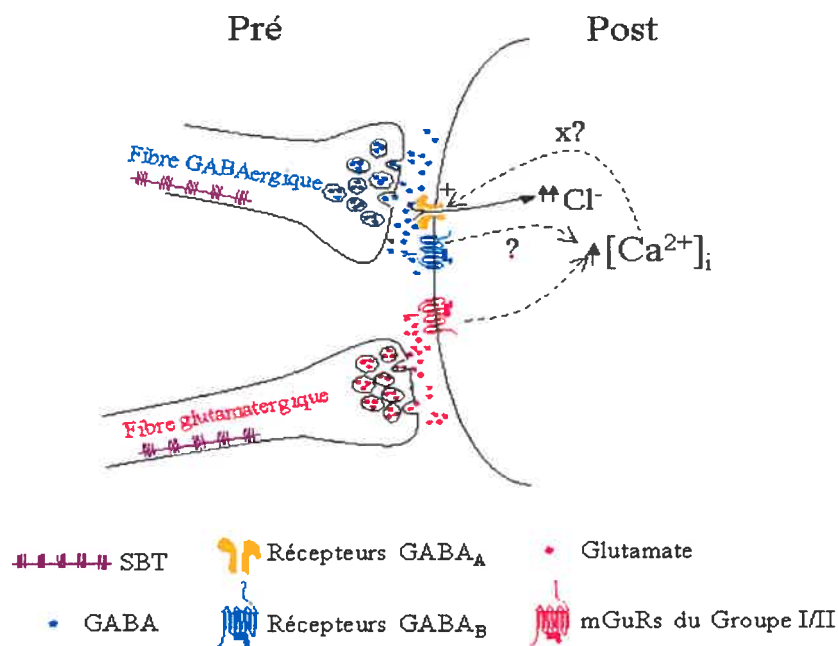
apicales des cellules pyramidales du CA1 durant la PLT alors que l'inhibition était facilitée au soma (Stelzer *et al.*, 1994). De même, il semble que l'inhibition somatique des cellules granulaires du gyrus dentelé soit diminuée lors d'une tâche d'apprentissage spatiale alors que l'inhibition dendritique est facilitée (Moser, 1996). Deuxièmement, il demeure inconnu pour l'instant si les interneurons RAD et les cellules pyramidales reçoivent les mêmes afférences inhibitrices et, en conséquence, si la PLT sur les interneurons survient dans le même contexte et simultanément que la PLT sur les cellules pyramidales. L'influence de la plasticité aux synapses GABAergiques des cellules pyramidales et des interneurons RAD sur la fonction de l'hippocampe demeure à démontrer, mais cette plasticité procure néanmoins une flexibilité supplémentaire aux réseaux neuronaux qui pourrait contribuer au traitement de l'information dans l'hippocampe.

### **5.3 Mécanismes de la PLT aux synapses GABA de l'hippocampe**

Nos travaux démontrent que les systèmes glutamatergiques et GABAergiques (via l'activation des récepteurs GABA<sub>B</sub> et mGluRs postsynaptiques), de même qu'une élévation postsynaptique de Ca<sup>2+</sup>, sont importants pour le renforcement durable de la transmission inhibitrice suite à une activité rythmique à la fréquence  $\theta$  (Figure 2). Par contre, aucune PLT n'a été observée lors d'enregistrements de synapses GABAergiques unitaires entre un interneurone et une cellule pyramidale, suggérant que l'activité simultanée des systèmes glutamatergiques et GABAergiques soit absolument nécessaire à la PLT. On ne peut cependant exclure la possibilité que la dialyse d'une composante essentielle du milieu intracellulaire puisse contribuer à l'absence de PLT lors de ces enregistrements pairés. De plus, l'enregistrement d'un plus grand nombre de paires interneurone-cellule pyramidale serait favorable afin de confirmer ce résultat.

L'un des points qui reste à déterminer concerne l'origine de l'élévation calcique nécessaire à la PLT. L'entrée de Ca<sup>2+</sup> par les récepteurs ionotropes du glutamate peut être exclue parce que les enregistrements ont été effectués en présence d'antagonistes des récepteurs NMDA et AMPA. Il serait aussi surprenant que les canaux Ca<sup>2+</sup> dépendant du voltage soient impliqués puisque nos expériences ont été effectuées dans des conditions de voltage imposé de façon à empêcher l'activation de ces canaux. Nous

avons suggéré que l'activation des récepteurs GABA<sub>B</sub> et mGluRs constituait probablement les principales voies menant à une élévation de Ca<sup>2+</sup>. En accord avec cette possibilité, il a été démontré que l'activation des récepteurs GABA<sub>B</sub> produit une élévation calcique dans les astrocytes de l'hippocampe qui déclenche subséquemment la relâche astrocytaire de glutamate et conduit à l'excitation des interneurons et à la facilitation de la transmission synaptique inhibitrice (Kang *et al.*, 1998). Cependant, puisque cette facilitation est abolie par l'antagoniste des récepteurs AMPA, ce mécanisme d'action ne peut être retenu pour la PLT aux synapses GABA. De plus, il n'a pas été démontré si les récepteurs GABA<sub>B</sub> neuronaux déclenchent une telle élévation calcique. Les mGluRs du groupe I sont associés à l'inositol triphosphate (IP3) et à la relâche de Ca<sup>2+</sup> par les réserves intracellulaires (Murphy & Miller, 1988). L'activation des mGluRs extrasynaptiques (Baude *et al.*, 1993; Lujan *et al.*, 1997) à proximité des synapses GABAergiques pourrait donc constituer un lien de signalisation du Ca<sup>2+</sup> menant à la PLT des CPSIs (Figure 2).



**Figure 2: Mécanismes possibles de la PLT aux synapses GABA des cellules pyramidales du CA1**

La SBT active les fibres inhibitrices et excitatrices, produit la relâche du GABA et du glutamate qui lient, respectivement, les récepteurs GABA<sub>B</sub> et mGluRs, ce qui déclenche une ou des voies de signalisation intracellulaire conduisant à une activité accrue des récepteurs GABA<sub>A</sub>.

Cependant, des études antérieures ont indiqué qu'une forte concentration intracellulaire de  $\text{Ca}^{2+}$  (Mozrzymas & Cherubini, 1998), ou une élévation de  $\text{Ca}^{2+}$  via les récepteurs NMDA (Stelzer *et al.*, 1987; Chen & Wong, 1994; Stelzer & Shi, 1994; Lu *et al.*, 2000), les réserves intracellulaires (De Koninck & Mody, 1996) ou les canaux  $\text{Ca}^{2+}$  dépendant du voltage (Pitler & Alger, 1992; Chevaleyre & Castillo, 2003) mènent principalement à une réduction de la transmission GABAergique. Une des raisons qui pourrait expliquer ces résultats contradictoires provient du fait que ces manipulations engendraient une élévation intracellulaire massive et rapide du  $\text{Ca}^{2+}$ . Or, les expériences de Perez *et al.* (1999) ont démontré qu'une stimulation modérée telle la SBT génère une élévation de  $\text{Ca}^{2+}$  plus lente, mais plus importante qu'une stimulation massive à haute fréquence (SHF). Cette hausse progressive de la concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  pourrait favoriser la potentialisation de la transmission inhibitrice. Une élévation graduelle de  $\text{Ca}^{2+}$  durant la SBT pourrait également produire la PLT des IPSCs directement aux synapses GABAergiques des interneurones. De plus, puisque la source de  $\text{Ca}^{2+}$  qui mène à la PLT des CPSIs (possiblement via mGluRs) diffère de celles qui conduisent à la réduction de la transmission GABAergiques, il est également possible que ces résultats opposés résultent de l'activation de différents micro-domaines de  $\text{Ca}^{2+}$  associés à des complexes protéiques et des voies de signalisation distinctes (Delmas & Brown, 2002).

Comment l'activation des récepteurs  $\text{GABA}_B$  et mGluRs, provoquant une élévation de  $\text{Ca}^{2+}$ , mène à l'expression de la PLT aux synapses GABAergiques? Deux mécanismes peuvent être considérés. Tout d'abord, on sait que les récepteurs  $\text{GABA}_A$  possèdent plusieurs sites de phosphorylation par les protéines kinases et qu'ils sont modulés par celles-ci (Smart, 1997; Brandon *et al.*, 2002a; Kittler & Moss, 2003). Or, les récepteurs  $\text{GABA}_B$  et les mGluRs sont associés à la voie de l'AMPC/PKA (Hill, 1985; Malcangio & Bowery, 1993; Cunningham & Enna, 1996; Conn & Pin, 1997), et une élévation postsynaptique du  $\text{Ca}^{2+}$  conduit à l'activation de protéines kinases telle CaMKII et PKC (Malenka & Nicoll, 1993). Donc, l'activation de ces voies de signalisation durant la PLT pourrait changer l'état de phosphorylation des récepteurs  $\text{GABA}_A$  et en augmenter l'activité (Poisbeau *et al.*, 1999; Kawaguchi & Hirano, 2002). De plus, certaines études indiquent que le nombre de récepteurs  $\text{GABA}_A$  synaptiques à

la surface cellulaire est contrôlé de façon dynamique, notamment par les protéines kinases (Wan *et al.*, 1997; Nusser *et al.*, 1998a, b; Brunig *et al.*, 2001; Brandon *et al.*, 2002b), et constitue un mécanisme important de plasticité (Kittler & Moss, 2001; Kneussel, 2002). Donc, il est possible que l'insertion de récepteurs GABA<sub>A</sub> à la membrane synaptique contribue à la PLT de la transmission inhibitrice. Une augmentation de la transmission inhibitrice par un tel mécanisme a déjà été observé chez les animaux épileptiques (Otis *et al.*, 1994; Nusser *et al.*, 1998a, b).

#### **5.4 Mécanismes de la transmission inhibitrice sur les cellules pyramidales et les interneurones**

L'enregistrement de réponses inhibitrices monosynaptiques induites par une stimulation électrique a permis de révéler que la cinétique des CPSIs (temps de montée et temps de descente) est plus rapide sur les interneurones RAD que sur les cellules pyramidales (Patenaude *et al.* 2005). Nos résultats sont différents de ceux d'autres études effectuées chez des rats juvéniles qui ont rapportées que la cinétique des CPSIs spontanés (Atzori, 1996) ou induit par une stimulation électrique (Morin *et al.*, 1996) étaient similaire entre les cellules pyramidales et les interneurones des couches oriens, pyramidale et lacunosum-moleculare. À l'opposé, il a aussi été rapporté que les CPSIs spontanés des interneurones localisés dans toutes les couches de la région CA1 avaient généralement une cinétique plus lente que ceux des cellules pyramidales (Hajos & Mody, 1997). Toutefois, nos résultats concordent avec d'autres études qui ont démontrées la présence de CPSIs plus rapides sur les cellules à panier que sur les cellules granulaires du gyrus dentelé (Bartos *et al.*, 2001, 2002). Ces résultats divergents témoignent de la variabilité importante des mécanismes GABAergiques qui existe entre les différents groupes d'interneurones. Cette variabilité a été attribuée à l'expression de différents sous-types de récepteurs GABA<sub>A</sub> dans les différentes populations d'interneurones (Hajos & Mody, 1997; Bacci *et al.*, 2003).

Il a été suggéré que la transmission inhibitrice contrôle l'activité des cellules pyramidales et joue un rôle important dans la genèse des oscillations rythmiques des circuits neuronaux (bandes de fréquence thêta, gamma et 200 Hz) (Buzsáki, 1997). En effet, l'activation d'un interneurone est capable d'entraîner, via l'activation des

récepteurs GABA<sub>A</sub>, la synchronisation des cellules pyramidales à la fréquence thêta (Cobb *et al.*, 1995). De plus, la transmission synaptique GABAergique entre les interneurons peut également jouer un rôle important pour l'activité rythmique. Cette possibilité est supportée par des études récentes qui indiquent que la transmission synaptique GABAergique entre les cellules à panier du gyrus dentelé est plus rapide que celle entre les cellules à panier et les cellules granulaires (Bartos *et al.*, 2001). Il a été démontré à l'aide de la modélisation d'un réseau d'interneurones que cette inhibition rapide d'exécution entre les cellules à panier est importante pour la cohérence des oscillations à la bande de fréquence gamma (Bartos *et al.*, 2002).

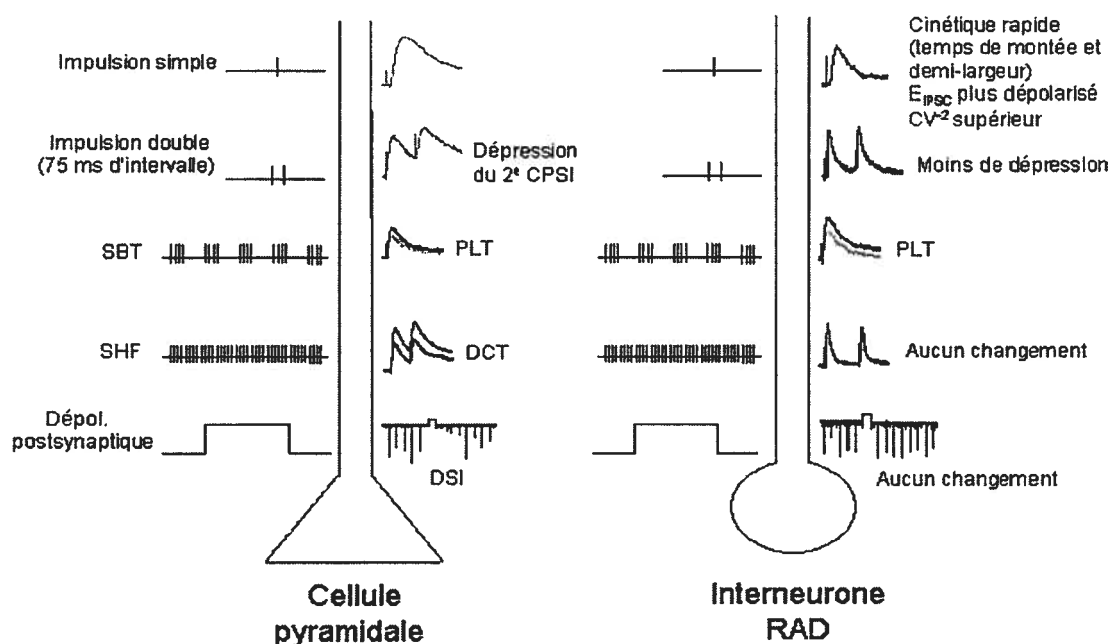
Or, nos travaux établissent que les CPSIs des interneurons de la couche radiatum (près de la couche lacunosum-moleculaire) sont plus rapides que ceux des cellules pyramidales (Patenaude *et al.* 2005). Il est intéressant de constater que les interneurons à la bordure des couches radiatum et lacunosum-moleculaire possèdent une activité oscillatoire intrinsèque à la fréquence thêta lorsqu'ils sont dépolarisés (Chapman & Lacaille, 1999b), qui pourrait contribuer à la génération de l'activité thêta dans les cellules pyramidales du CA1 (Chapman & Lacaille, 1999a). Donc, la transmission inhibitrice rapide pourrait être un critère additionnel, avec la transmission rapide des synapses excitatrices, le taux de décharge rapide et le couplage électrique de réseaux d'interneurones, permettant aux interneurons d'opérer à haute vitesse et de façonner l'activité rythmique des réseaux neuronaux (Whittington & Traub, 2003; Jonas *et al.*, 2004).

### **5.5 Comparaison des propriétés et de la plasticité des synapses GABA des cellules pyramidales et des interneurons**

Nos travaux ont révélé une PLT similaire des CPSIs sur les interneurons RAD et les cellules pyramidales (Patenaude *et al.* 2005). Par contre, plusieurs différences concernant la régulation à court terme de la transmission inhibitrice ont été remarquées sur les interneurons: 1) la dépression du deuxième CPSI est moins prononcée lors d'une stimulation paillée à court intervalle, 2) il n'y a aucune dépression transitoire suite à une SHF, et 3) il n'y a pas de suppression de l'inhibition (DSI) suivant une dépolarisation postsynaptique (Figure 3). Le rapport des réponses synaptiques obtenues par une

stimulation pairée à court intervalle dépend de la probabilité de relâche du neurotransmetteur (Zucker, 1989). Nous avons proposé que la dépression transitoire suite à la SHF résulte de l'épuisement des vésicules synaptiques (Patenaude *et al.* 2005). Donc, le fait que ces deux phénomènes soient de nature présynaptique indique que les mécanismes de relâche du GABA diffèrent aux terminaisons GABAergiques des cellules pyramidales et des interneurons RAD. Cette possibilité est d'ailleurs supportée par des études récentes qui démontrent que la relâche de GABA est réduite davantage par des agonistes des mGluRs du groupe III aux terminaisons GABAergiques contactant les cellules pyramidales qu'à celles atteignant les interneurons de la couche radiatum (Semyanov & Kullmann, 2000), et que l'application de kainate augmente la relâche de GABA aux synapses inhibitrices des interneurons des couches radiatum et oriens mais pas à celles des cellules pyramidales (Cossart *et al.*, 2001).

Wilson et Nicoll (2001) ont démontré que le DSI découlait d'une réduction de la libération de GABA déclenchée par la libération rétrograde d'endocannabinoïdes et l'activation des récepteurs CB1 présynaptiques. Cependant, il a été démontré récemment que les interneurons des couches oriens et radiatum n'expriment pas de DSI même si les CPSIs sur ces cellules sont inhibés par un agoniste des récepteurs CB1 (Hoffman *et al.*, 2003). Ceci suggère que les terminaisons GABAergiques qui contactent les interneurons expriment les récepteurs CB1 et donc, que l'absence de DSI serait due à l'incapacité des interneurons à relâcher les endocannabinoïdes durant la dépolarisation. Ainsi, les interneurons RAD possèdent les mécanismes postsynaptiques nécessaires à la PLT comme les cellules pyramidales, mais contrairement aux cellules pyramidales, ils sont dépourvus de ceux responsables du DSI.

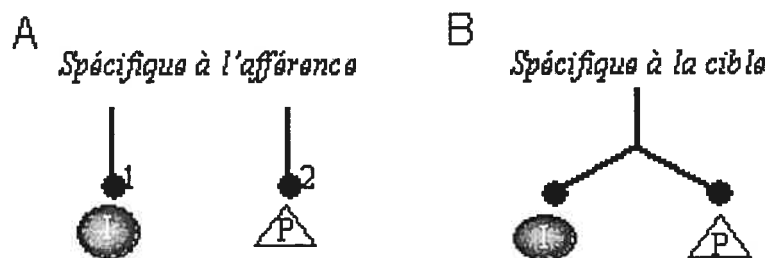


**Figure 3: Schéma récapitulatif illustrant les différences au niveau de la transmission et de la plasticité des synapses GABAergiques sur les cellules pyramidales et les interneurons RAD**

SBT: Stimulation en bouffées thêta; SHF: Stimulation à haute fréquence; DSI: Suppression de l'inhibition suite à une dépol. postsynaptique; DCT: Dépression à court terme; PLT: potentialisation à long terme.

Cette régulation différentielle des synapses GABA des cellules pyramidales et des interneurons RAD peut dépendre de deux facteurs. D'une part, les afférences ciblant les interneurons et les cellules pyramidales pourraient avoir des propriétés différentes à cause d'une origine distincte des fibres inhibitrices (propriétés spécifiques à l'afférence). D'autre part, les mécanismes synaptiques pourraient aussi être influencés par la nature du neurone postsynaptique (propriétés spécifiques à la cible) (Figure 4). Puisque nous avons utilisé une stimulation extracellulaire qui active de nombreuses fibres inhibitrices, il nous est impossible de déterminer lequel de ces deux facteurs est responsable des différences observés sur les cellules pyramidales et les interneurons RAD. Des études récentes utilisant des enregistrements multiples ont révélé que la dynamique de relâche du GABA et l'efficacité synaptique engendrés par deux classes d'interneurones de la couche 4 du néocortex étaient dramatiquement différentes sur les cellules à décharge

régulière, suggérant que ces populations d'interneurones généraient deux réseaux inhibiteurs distincts qui remplissaient des fonctions différentes (Beierlein *et al.*, 2003). Des conclusions semblables ont récemment été tirées dans l'hippocampe puisqu'il a été démontré que l'amplitude et la cinétique des CPSIs, de même que la dynamique de relâche du GABA générés par différents types d'interneurones de la couche oriens variaient considérablement sur les cellules pyramidales du CA1 (Maccaferri *et al.*, 2000). De même, dans la région CA3, les synapses GABA formées par les interneurones de la couche oriens ont un taux d'échec beaucoup plus faible que celles formées par les interneurones de la couche lucidum (Aaron *et al.*, 2003). Donc dans l'ensemble, ces résultats indiquent que les propriétés des synapses GABA sont spécifiques à l'afférence. Cependant, Gupta *et al.* (2000) ont dévoilé que les différentes classes d'interneurones du néocortex formaient une grande variété fonctionnelle de synapses inhibitrices et que cette diversité dépendait de la nature des neurones pré- et postsynaptiques. Des études similaires dans l'hippocampe utilisant des enregistrements multiples de divers types cellulaires devraient permettre de déterminer si la diversité fonctionnelle est due à l'afférence, à la cible, ou la combinaison de ces facteurs.



**Figure 4:** Scénarios possibles pouvant expliquer la spécificité cellulaire des synapses GABAergiques sur les cellules pyramidales et les interneurones.



## 5.6 Modulation pharmacologique des récepteurs GABA<sub>A</sub> des interneurons

Des études antérieures ont démontré que jusqu'à dix sous-unités des récepteurs GABA<sub>A</sub> sont exprimées par les cellules pyramidales de l'hippocampe (Nusser *et al.*, 1996). Ces sous-unités peuvent s'assembler pour former différents sous-types de récepteurs sensibles à une multitude de modulateurs allostériques (Banks *et al.*, 1998; Pawelzik *et al.*, 1999; Tietz *et al.*, 1999; Thomson *et al.*, 2000). Nos travaux portant sur la modulation des réponses inhibitrices miniatures ont révélé que les récepteurs GABA<sub>A</sub> synaptiques des interneurons de la couche oriens/alveus (OA) possèdent un profil pharmacologique semblable à celui des récepteurs des cellules pyramidales (Patenaude *et al.*, 2001), suggérant une hétérogénéité structurelle importante également pour les récepteurs des interneurons. Cependant, les CPSIs des interneurons de la couche radiatum ont une sensibilité inférieure à la picrotoxine comparativement à ceux des cellules pyramidales (Semyanov & Kullmann, 2002). Certaines classes d'interneurons pourraient donc exprimer des sous-types de récepteurs GABA<sub>A</sub> différents de ceux présents sur les cellules pyramidales.

Le profil pharmacologique des récepteurs GABA<sub>A</sub> sur les interneurons OA a été examiné par l'enregistrement de courants postsynaptiques inhibiteurs miniatures (CPSIm). Ceux-ci proviennent de l'ensemble des connexions inhibitrices reçues par chaque interneurone et nous donne donc une indication de l'effet global d'un modulateur. Cependant, ce type d'enregistrement ne nous permet pas de vérifier si la modulation des récepteurs GABA<sub>A</sub> diffère lorsque différentes afférences inhibitrices sont activées. Il a été démontré que la modulation pharmacologique des PPSIs était différente lorsque ceux-ci étaient générés par les cellules bistratifiées ou les cellules à panier (Pawelzik *et al.*, 1999; Thomson *et al.*, 2000). Les interneurons reçoivent également des afférences inhibitrices provenant de plusieurs sources distinctes, dont certaines sont communes aux cellules pyramidales et aux interneurons alors que d'autres sont spécifiques aux interneurons (Acsady *et al.*, 1996b; Freund & Buzsaki, 1996; Gulyas *et al.*, 1996). Donc, une stratégie permettant de comparer la modulation des réponses inhibitrices générées par un type d'afférence inhibitrice connue pourrait permettre de révéler des différences pharmacologiques des récepteurs GABA<sub>A</sub> synaptiques entre les différents types de cellules de l'hippocampe.

La transmission synaptique GABAergique peut être altérée au cours de certaines pathologies. En effet, plusieurs changements importants surviennent au sein des réseaux neuronaux de l'hippocampe au cours de l'épilepsie du lobe temporal. Par exemple, l'expression de l'ARN messager (ARNm) des sous-unités  $\alpha_2$  et  $\alpha_5$  des récepteurs GABA<sub>A</sub> est diminuée dans la région CA1 chez le modèle animal d'épilepsie provoquée par l'injection de pilocarpine ou d'acide kainique (Houser & Esclapez, 1996; Rice *et al.*, 1996). Ces changements pourraient être associés au changement de cinétique des CPSIs (Morin *et al.*, 1998) et à une réduction de la sensibilité des récepteurs GABA<sub>A</sub> à la benzodiazépine clonazepam (Gibbs *et al.*, 1997) dans les cellules pyramidales. Également, plusieurs changements au niveau de la composition en sous-unités et de la pharmacologie des récepteurs GABA<sub>A</sub> surviennent dans les cellules granulaires du gyrus dentelé (Brooks-Kayal *et al.*, 1998; Jones-Davis & Macdonald, 2003). Ces données suggèrent donc que les récepteurs GABA<sub>A</sub> subissent des modifications moléculaires et fonctionnelles importantes dans ces modèles d'épilepsie. Les interneurons aussi subissent des changements puisque le nombre et la longueur des contacts synaptiques GABA périssomatiques sont augmentés sur les interneurons LM dans le modèle kainate d'épilepsie (Morin *et al.*, 1999). Mais le fait que la cinétique des CPSIs demeure inchangée sur les interneurons OA et LM suggère que la fonction des récepteurs GABA<sub>A</sub> n'est pas altérée globalement dans ce modèle (Morin *et al.*, 1998). Toutefois, il n'a pas été déterminé si la pharmacologie (et donc la composition) des récepteurs GABA<sub>A</sub> est modifiée sur les interneurons. Une connaissance plus approfondie des conséquences de l'épilepsie du lobe temporal sur la pharmacologie des récepteurs GABA<sub>A</sub> des interneurons et des cellules pyramidales pourrait être prometteur pour le traitement de cette maladie. En effet, le développement d'une thérapie pharmacologique qui agirait spécifiquement sur les sous-types de récepteurs modifiés des cellules pyramidales ou des interneurons pourrait permettre de rétablir l'inhibition.

### **5.7 Impact fonctionnel de la plasticité aux synapses GABA**

Tel que déjà mentionné, la PLT/DLT des synapses excitatrices est considérée comme étant le principal modèle neurobiologique de la mémoire (Bliss & Collingridge, 1993). Cependant, certaines indications laissent entrevoir la possibilité que les réseaux

locaux d'interneurones et la transmission synaptique GABAergique pourraient également contribuer au traitement de l'information et aux processus d'apprentissage et de mémorisation. Cette possibilité est d'ailleurs soutenue par des études récentes ayant exploré le rôle physiologique de la sous-unité  $\alpha 5$  des récepteurs GABA<sub>A</sub>, une sous-unité exprimée de façon prédominante dans l'hippocampe. Ces travaux rapportent que des souris déficientes pour la sous-unité  $\alpha 5$  démontrent une meilleure performance dans des tâches de conditionnement à la peur (trace fear conditioning) et d'apprentissage spatial sans que soit modifié la PLT des synapses excitatrices (Collinson *et al.*, 2002; Crestani *et al.*, 2002). Ces résultats suggèrent que les récepteurs GABA<sub>A</sub> contenant la sous-unité  $\alpha 5$  joueraient un rôle prépondérant au cours de processus cognitifs dépendants de l'activité hippocampique.

Considérant l'importance de la transmission GABAergique pour l'apprentissage et la mémoire, une question cruciale demeure, à savoir quels sont les conséquences physiologiques de la plasticité à long terme aux synapses GABAergiques? Tout d'abord, il est fort probable que la plasticité aux synapses GABAergiques joue un rôle différent au cours du développement puisque la transmission GABAergique produit un effet excitateur chez les nouveaux-nés et inhibiteur chez l'adulte. Chez les jeunes animaux, les changements à long terme de la transmission GABAergique se produisent précisément dans la période correspondant à la maturation fonctionnelle des synapses dans plusieurs structures du cerveau incluant le cortex visuel (Komatsu, 1994), l'hippocampe (McLean *et al.*, 1996; Caillard *et al.*, 1999b) et le système auditif (Kotak & Sanes, 2000). Ainsi, dans l'olive latérale supérieure, la période à laquelle la DLT de la transmission glycinergique est exprimée coïncide avec le moment où les synapses inhibitrices sont éliminées (Sanes & Siverls, 1991). De même dans l'hippocampe néonatal, il a été observé que la PLT dépendante de l'activation des récepteurs NMDA aux synapses GABAergiques est restreinte à la première semaine post-natale (McLean *et al.*, 1996; Gubellini *et al.*, 2001) et concorde à la période de maturation des synapses GABA (Ben-Ari *et al.*, 1997). De plus, le protocole de stimulation qui mène à la PLT des synapses GABAergiques dans l'hippocampe des animaux naissants déclenche également l'activité GABAergique spontanée dans les cellules pyramidales (Gubellini *et*

*al.*, 2001). Ces données suggèrent globalement que la plasticité à long terme des synapses inhibitrices serait impliquée dans la maturation et le raffinement fonctionnel des connexions synaptiques et des circuits neuronaux chez les jeunes animaux (Gaiarsa *et al.*, 2002).

La plasticité à long terme des synapses GABAergiques pourrait avoir une fonction complètement différente chez les animaux adultes. Tout d'abord, il a été rapporté dans l'hippocampe que la DLT de la transmission synaptique GABAergique déclenchée par une stimulation à haute fréquence serait en partie responsable de la plus grande efficacité des potentiels postsynaptiques excitateurs (PPSEs) à générer des potentiels d'action dans les cellules pyramidales du CA1 au cours de la PLT aux synapses des collatérales de Schaffer (Lu *et al.*, 2000; Chevaleyre & Castillo, 2003). Ainsi, la plasticité à long terme des synapses inhibitrices pourrait affecter le niveau d'activité des neurones cibles et modifier l'excitabilité des réseaux neuronaux (Lu *et al.*, 2000; Chevaleyre & Castillo, 2003).

D'autre part, il y a maintenant une quantité croissante d'indications qui suggèrent que les interneurones jouent un rôle très important dans la genèse, la régulation et le maintien de l'activité rythmique de réseaux de cellules pyramidales dans les bandes de fréquence thêta (5-12 Hz), gamma (30-80 Hz) et de 200 Hz (Cobb *et al.*, 1995; Buzsaki, 1997; Chapman & Lacaille, 1999a). La modélisation de réseaux neuronaux a été utilisée afin de déterminer comment la plasticité au sein des réseaux d'interneurones affecte cette activité rythmique (Bibbig *et al.*, 2001, 2002). Dans ce contexte, il a été démontré que la plasticité aux synapses inhibitrices de cellules excitatrices permettait de synchroniser l'activité oscillatoire de deux populations de neurones éloignés dont la décharge était auparavant décalée (Bibbig *et al.*, 2002). En accord avec ces données, nous avons d'ailleurs proposé que la PLT aux synapses GABA des cellules pyramidales du CA1 pouvait renforcer la cohérence de l'activité thêta dans l'hippocampe (Patenaude *et al.*, 2003).

Considérant que l'activité rythmique fournit les conditions nécessaires pour déclencher des changements synaptiques à la base de certaines tâches cognitives (Buzsaki, 2002; Whittington & Traub, 2003) et que la plasticité aux synapses inhibitrices influence cette activité rythmique, il est donc possible que la modification

des synapses inhibitrices conduise également à des changements comportementaux. Aucune preuve directe d'un tel phénomène n'a jusqu'à présent encore été apportée chez les mammifères, mais une étude effectuée sur le système olfactif de la sauterelle a dévoilé qu'une inhibition synaptique accrue au cours de stimulations olfactives répétées était associée à un changement du patron d'activité du réseau neuronal et que cette modification pouvait permettre une meilleure discrimination de différentes odeurs (Stopfer & Laurent, 1999). De plus, il a été démontré chez le poisson rouge que l'induction spécifique de la PLT aux synapses glycinergiques des cellules Mauthner par un son livré à une fréquence appropriée réduisait la probabilité du réflexe de fuite chez l'animal ayant reçu le conditionnement auditif (Oda *et al.*, 1998). Il a également été noté dans cette étude que la fréquence du signal sonore qui induisait le plus efficacement la PLT était la même que celle qui produisait l'effet le plus marqué sur le comportement du poisson, renforçant ainsi le lien entre la PLT des synapses inhibitrices et le comportement. Puisque l'hippocampe est une structure importante pour l'apprentissage et la formation de la mémoire, la PLT aux synapses GABAergiques pourrait donc avoir un rôle dans les processus mnémoniques. Cependant, il existe une grande hétérogénéité d'interneurones dans l'hippocampe, de sorte que les changements durables de la transmission synaptique GABAergique pourrait produire des effets variés sur la fonction des réseaux neuronaux. Il importe donc d'explorer davantage les propriétés fonctionnelles et la plasticité des réseaux GABAergiques afin de mieux comprendre leur impact fonctionnel au sein de l'hippocampe.

### 5.8 Perspectives d'avenir

À la lumière des résultats décrits dans cette thèse, plusieurs voies de recherche intéressantes devraient être explorées afin d'approfondir nos connaissances des mécanismes de régulation de la transmission GABAergique. Dans un premier temps, il serait intéressant de caractériser les voies de signalisation intracellulaire impliquées dans la PLT des synapses GABA. Notamment, étant donné que la phosphorylation/déphosphorylation des récepteurs GABA<sub>A</sub> est un mécanisme de la potentialisation et la dépression à long terme (Lu *et al.*, 2000; Kawaguchi & Hirano, 2002), il serait intéressant de vérifier en patch clamp comment la PLT des CPSIs induite

par la SBT est affectée par des agents pharmacologiques qui bloquent l'activité des protéines kinases (PKA, PKC et CaMKII). Aussi, il serait possible d'examiner, en appliquant un activateur de chacune de ces voies de signalisation, si l'activité des protéines kinases est suffisante pour produire une potentialisation durable des CPSIs.

Nous avons observé lors de l'enregistrement simultanée d'un interneurone et d'une cellule pyramidale connectée que la SBT d'un interneurone présynaptique produit une augmentation à court terme de la transmission aux synapses GABA des cellules pyramidales, mais est insuffisante pour induire la PLT (Patenaude *et al.*, 2003). L'absence de PLT dans ces conditions suggérait qu'une coopérativité (fibres GABAergiques et/ou glutamatergiques) serait nécessaire à cause de l'incapacité d'un seul interneurone à activer les récepteurs GABA<sub>B</sub> postsynaptiques, qui sont généralement localisés en périphérie de la synapse (Scanziani, 2000; Kulik *et al.*, 2003). Il serait intéressant de déterminer quel apport l'activation des mGluRs fournit à la PLT. Ces expériences pourraient être effectuées en utilisant une stimulation extracellulaire minimale (Perez *et al.*, 2001), qui consiste à activer une seule fibre inhibitrice, puis en vérifiant comment les CPSIs sont affectés sur les cellules pyramidales suite à la SBT seule, puis lorsqu'un agoniste des mGluRs du groupe I est appliqué localement durant la SBT. Pour vérifier le rôle des récepteurs GABA<sub>B</sub> dans la coopérativité, des expériences dans des conditions de stimulation minimale devraient être effectuées en présence d'un inhibiteur de la recapture du GABA afin de favoriser la diffusion du GABA hors des synapses et l'activation des récepteurs GABA<sub>B</sub> postsynaptiques (Scanziani, 2000). Ces expériences permettraient de mieux cerner le rôle des mGluRs et des récepteurs GABA<sub>B</sub> dans la PLT des synapses GABA.

Nos résultats démontrent qu'en plus d'induire la PLT aux synapses GABAergiques des cellules pyramidales, la SBT provoque également la PLT à celles des interneurons du stratum radiatum. Cependant, tel que mentionné précédemment, il demeure inconnu si les interneurons RAD et les cellules pyramidales reçoivent les mêmes afférences inhibitrices. La possibilité que la stimulation d'un type d'afférence inhibitrice induise la PLT simultanément dans les deux populations neuronales pourrait être explorée en faisant des enregistrements triples d'un interneurone présynaptique, lequel serait activé par la SBT, de même que d'un interneurone et d'une cellule pyramidale postsynaptique.

Ces expériences seraient aussi effectuées en présence d'un inhibiteur de la recapture du GABA afin d'activer les récepteurs GABA<sub>B</sub> postsynaptiques. Si la stimulation génère des CPSIs autant dans la cellule pyramidale que dans l'interneurone, ce type d'expérience permettra de confirmer que les cellules pyramidales du CA1 et les interneurons RAD reçoivent des afférences inhibitrices communes. Dépendant de l'induction de la PLT dans une population de cellule uniquement ou dans les deux populations simultanément, ces manipulations devraient de plus permettre d'établir si cette forme de plasticité à long terme est spécifique à un type de neurone en particulier ou si elle se produit sans aucune sélectivité.

Un autre point pertinent à explorer consisterait à examiner si les synapses GABA des autres populations d'interneurones de la région CA1 présentent le même patron de plasticité que celui des interneurons RAD. Cet aspect apparaît particulièrement important puisqu'il a été démontré que la PLT des synapses excitatrices est induite spécifiquement aux synapses des interneurons de la couche oriens-alveus, mais pas à celles des interneurons radiatum/lacunosum-moleculare (Perez *et al.*, 2001), établissant ainsi que divers types d'interneurones jouant des rôles fonctionnels distincts (Miles *et al.*, 1996) possèdent des caractéristiques de plasticité synaptiques spécifiques. Donc, en évaluant comment les synapses GABA d'autres types d'interneurones sont régulés par l'activité neuronale (SBT, SHF, dépolarisation postsynaptique), il sera possible de déterminer si les propriétés et la plasticité des synapses GABA sont hétérogènes et sélectives à certains types d'interneurones inhibiteurs hippocampique. Dans un même ordre d'idées, il serait intéressant d'examiner si le profil pharmacologique des récepteurs GABA<sub>A</sub> présents sur d'autres classes d'interneurones se compare à celui que nous avons rapporté pour les interneurons de la couche OA. Cette étude pourrait de plus comprendre une analyse moléculaire des ARNm des différentes sous-unités des récepteurs GABA<sub>A</sub> à l'aide de la technique de PCR (polymerase chain reaction) cellule unique. Ainsi, cette étude contribuerait à déterminer si la composition des récepteurs GABA<sub>A</sub> varie selon le type d'interneurone ciblé.

Finalement, un déficit de la transmission GABAergique est perçu comme étant l'une des principales dysfonctions responsables de l'épilepsie du lobe temporal (Bernard *et al.*, 2000). Il a été proposé qu'un déséquilibre entre l'inhibition et l'excitation pourrait

contribuer aux conditions d'hyperexcitabilité observées au cours de l'épilepsie (Thompson, 1994). D'ailleurs, des expériences récentes ont révélé qu'une forme de plasticité à court terme, la dépression transitoire de l'inhibition suite à une dépolarisation postsynaptique (DSI), était augmentée pour une période prolongée sur les cellules pyramidales de jeunes rats épileptiques (Chen *et al.*, 2003). De plus, il a été observé que l'expression des sous-unités GABA<sub>B1</sub> et GABA<sub>B2</sub> et la fonction des récepteurs GABA<sub>B</sub> sont altérées chez des animaux atteints d'épilepsie du lobe temporal (Brown *et al.*, 2003; Straessle *et al.*, 2003). Puisque la PLT de l'inhibition est dépendante de l'activation des récepteurs GABA<sub>B</sub> postsynaptiques (Patenaude *et al.*, 2003), il est possible que cette plasticité soit affectée chez les rats épileptiques. Cette possibilité pourrait être testée en vérifiant comment la SBT affecte la transmission synaptique GABAergique dans le modèle d'épilepsie de l'acide kainique. De plus, les autres formes de plasticité testées dans cette thèse (DSI et dépression de l'inhibition suite à une SHF) pourraient également être évaluées aux synapses GABA des cellules pyramidales et des interneurons. Cette série d'expérience pourrait permettre d'établir si les mécanismes de régulation de la transmission inhibitrice et les propriétés plastiques des synapses GABA sont affectées durant cette pathologie.



## **BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE**

- Aaron, GB, Wilcox, KS & Dichter, MA. (2003) Different patterns of synaptic transmission revealed between hippocampal CA3 stratum oriens and stratum lucidum interneurons and their pyramidal cell targets. *Neuroscience* 117: 169-181.
- Abraham, WC, Gustafsson, B & Wigstrom, H. (1987) Long-term potentiation involves enhanced synaptic excitation relative to synaptic inhibition in guinea-pig hippocampus. *J Physiol* 394: 367-380.
- Acsady, L, Gorcs, TJ & Freund, TF. (1996a) Different populations of vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive interneurons are specialized to control pyramidal cells or interneurons in the hippocampus. *Neuroscience* 73: 317-334.
- Acsady, L, Arabadzisz, D & Freund, TF. (1996b) Correlated morphological and neurochemical features identify different subsets of vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive interneurons in rat hippocampus. *Neuroscience* 73: 299-315.
- Alger, BE & Nicoll, RA. (1979) GABA-mediated biphasic inhibitory responses in hippocampus. *Nature* 281: 315-317.
- Alger, BE & Nicoll, RA. (1982) Feed-forward dendritic inhibition in rat hippocampal pyramidal cells studied in vitro. *J Physiol* 328: 105-123.
- Alger, BE, Pitler, TA, Wagner, JJ, Martin, LA, Morishita, W, Kirov, SA & Lenz, RA. (1996) Retrograde signalling in depolarization-induced suppression of inhibition in rat hippocampal CA1 cells. *J Physiol* 496: 197-209.
- Alonso, A & Kohler, C. (1982) Evidence for separate projections of hippocampal pyramidal and non-pyramidal neurons to different parts of the septum in the rat brain. *Neurosci Lett* 31: 209-214.
- Amaral, DG & Witter, MP. (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31: 571-591.
- Andersen, P, Dingledine, R, Gjerstad, L, Langmoen, IA & Laursen, AM. (1980) Two different responses of hippocampal pyramidal cells to application of gamma-amino butyric acid. *J Physiol* 305: 279-296.
- Anderson, P, Bliss, TV & Skrede, KK. (1971) Lamellar organization of hippocampal pathways. *Exp Brain Res* 13: 222-238.
- Anwyl, R. (1999) Metabotropic glutamate receptors: electrophysiological properties and role in plasticity. *Brain Res Brain Res Rev* 29: 83-120.

- Ascher, P & Nowak, L. (1988) The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurones in culture. *J Physiol* 399: 247-266.
- Ashwood, TJ, Lancaster, B & Wheal, HV. (1984) In vivo and in vitro studies on putative interneurons in the rat hippocampus: possible mediators of feed-forward inhibition. *Brain Res* 293: 279-291.
- Atzori, M. (1996) Pyramidal cells and stratum lacunosum-moleculare interneurons in the CA1 hippocampal region share a GABAergic spontaneous input. *Hippocampus* 6: 72-78.
- Bacci, A, Huguenard, JR & Prince, DA. (2002) Differential modulation of synaptic transmission by neuropeptide Y in rat neocortical neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 17125-17130.
- Bacci, A, Rudolph, U, Huguenard, JR & Prince, DA. (2003) Major differences in inhibitory synaptic transmission onto two neocortical interneuron subclasses. *J Neurosci* 23: 9664-9674.
- Bai, D, Zhu, G, Pennefather, P, Jackson, MF, MacDonald, JF & Orser, BA. (2001) Distinct functional and pharmacological properties of tonic and quantal inhibitory postsynaptic currents mediated by gamma-aminobutyric acid(A) receptors in hippocampal neurons. *Mol Pharmacol* 59: 814-824.
- Baimbridge, KG & Miller, JJ. (1982) Immunohistochemical localization of calcium-binding protein in the cerebellum, hippocampal formation and olfactory bulb of the rat. *Brain Res* 245: 223-229.
- Banks, MI, Li, TB & Pearce, RA. (1998) The synaptic basis of GABA<sub>A, slow</sub>. *J Neurosci* 18: 1305-1317.
- Baraban, SC, Hollopeter, G, Erickson, JC, Schwartzkroin, PA & Palmiter, RD. (1997) Knock-out mice reveal a critical antiepileptic role for neuropeptide Y. *J Neurosci* 17: 8927-8936.
- Bartos, M, Vida, I, Frotscher, M, Geiger, JR & Jonas, P. (2001) Rapid signaling at inhibitory synapses in a dentate gyrus interneuron network. *J Neurosci* 21: 2687-2698.

- Bartos, M, Vida, I, Frotscher, M, Meyer, A, Monyer, H, Geiger, JR & Jonas, P. (2002) Fast synaptic inhibition promotes synchronized gamma oscillations in hippocampal interneuron networks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 13222-13227.
- Baude, A, Nusser, Z, Roberts, JD, Mulvihill, E, McIlhinney, RA & Somogyi, P. (1993) The metabotropic glutamate receptor (mGluR1 alpha) is concentrated at perisynaptic membrane of neuronal subpopulations as detected by immunogold reaction. *Neuron* 11: 771-787.
- Beierlein, M, Gibson, JR & Connors, BW. (2003) Two dynamically distinct inhibitory networks in layer 4 of the neocortex. *J Neurophysiol* 90: 2987-3000.
- Ben-Ari, Y, Cherubini, E, Corradetti, R & Gaiarsa, JL. (1989) Giant synaptic potentials in immature rat CA3 hippocampal neurones. *J Physiol* 416: 303-325.
- Ben-Ari, Y, Khazipov, R, Leinekugel, X, Caillard, O & Gaiarsa, JL. (1997) GABA<sub>A</sub>, NMDA and AMPA receptors: a developmentally regulated 'menage a trois'. *Trends Neurosci* 20: 523-529.
- Benke, D, Honer, M, Michel, C, Bettler, B & Mohler, H. (1999) gamma-aminobutyric acid type B receptor splice variant proteins GBR1a and GBR1b are both associated with GBR2 in situ and display differential regional and subcellular distribution. *J Biol Chem* 274: 27323-27330.
- Bernard, C, Cossart, R, Hirsch, JC, Esclapez, M & Ben-Ari, Y. (2000) What is GABAergic inhibition? How is it modified in epilepsy? *Epilepsia* 41 Suppl 6: S90-95.
- Bertrand, S, Ng, GY, Purisai, MG, Wolfe, SE, Severidt, MW, Nouel, D, Robitaille, R, Low, MJ, O'Neill, GP, Metters, K, Lacaille, JC, Chronwall, BM & Morris, SJ. (2001) The anticonvulsant, antihyperalgesic agent gabapentin is an agonist at brain gamma-aminobutyric acid type B receptors negatively coupled to voltage-dependent calcium channels. *J Pharmacol Exp Ther* 298: 15-24.
- Bertrand, S, Nouel, D, Morin, F, Nagy, F & Lacaille, JC. (2003) Gabapentin actions on Kir3 currents and N-type Ca<sup>2+</sup> channels via GABAB receptors in hippocampal pyramidal cells. *Synapse* 50: 95-109.
- Bettler, B, Kaupmann, K, Mosbacher, J & Gassmann, M. (2004) Molecular structure and physiological functions of GABA(B) receptors. *Physiol Rev* 84: 835-867.

- Bi, G & Poo, M. (2001) Synaptic modification by correlated activity: Hebb's postulate revisited. *Annu Rev Neurosci* 24: 139-166.
- Bibbig, A, Faulkner, HJ, Whittington, MA & Traub, RD. (2001) Self-organized synaptic plasticity contributes to the shaping of  $\gamma$  and  $\beta$  oscillations in vitro. *J Neurosci* 21: 9053-9067.
- Bibbig, A, Traub, RD & Whittington, MA. (2002) Long-range synchronization of  $\gamma$  and  $\beta$  oscillations and the plasticity of excitatory and inhibitory synapses: a network model. *J Neurophysiol* 88: 1634-1654.
- Billinton, A, Ige, AO, Bolam, JP, White, JH, Marshall, FH & Emson, PC. (2001) Advances in the molecular understanding of GABA-B receptors. *Trends Neurosci* 24: 277-282.
- Blasco-Ibanez, JM & Freund, TF. (1995) Synaptic input of horizontal interneurons in stratum oriens of the hippocampal CA1 subfield: structural basis of feed-back activation. *Eur J Neurosci* 7: 2170-2180.
- Blatow, M, Caputi, A, Burnashev, N, Monyer, H & Rozov, A. (2003) Ca<sup>2+</sup> buffer saturation underlies paired pulse facilitation in calbindin-D28k-containing terminals. *Neuron* 38: 79-88.
- Bliss, TV & Lomo, T. (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232: 331-356.
- Bliss, TV & Gardner-Medwin, AR. (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232: 357-374.
- Bliss, TV & Collingridge, GL. (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361: 31-39.
- Blitzer, RD, Connor, JH, Brown, GP, Wong, T, Shenolikar, S, Iyengar, R & Landau, EM. (1998) Gating of CaMKII by cAMP-regulated protein phosphatase activity during LTP. *Science* 280: 1940-1942.
- Boehm, S & Betz, H. (1997) Somatostatin inhibits excitatory transmission at rat hippocampal synapses via presynaptic receptors. *J Neurosci* 17: 4066-4075.

- Bormann, J. (2000) The 'ABC' of GABA receptors. *Trends Pharmacol Sci* 21: 16-19.
- Bortolotto, ZA, Fitzjohn, SM & Collingridge, GL. (1999) Roles of metabotropic glutamate receptors in LTP and LTD in the hippocampus. *Curr Opin Neurobiol* 9: 299-304.
- Brandon, NJ, Delmas, P, Kittler, JT, McDonald, BJ, Sieghart, W, Brown, DA, Smart, TG & Moss, SJ. (2000) GABAA receptor phosphorylation and functional modulation in cortical neurons by a protein kinase C-dependent pathway. *J Biol Chem* 275: 38856-38862.
- Brandon, NJ, Delmas, P, Hill, J, Smart, TG & Moss, SJ. (2001) Constitutive tyrosine phosphorylation of the GABA(A) receptor gamma 2 subunit in rat brain. *Neuropharmacology* 41: 745-752.
- Brandon, NJ, Jovanovic, JN, Smart, TG & Moss, SJ. (2002a) Receptor for activated C kinase-1 facilitates protein kinase C-dependent phosphorylation and functional modulation of GABA(A) receptors with the activation of G-protein-coupled receptors. *J Neurosci* 22: 6353-6361.
- Brandon, NJ, Jovanovic, J & Moss, S. (2002b) Multiple roles of protein kinases in the modulation of gamma-aminobutyric acid(A) receptor function and cell surface expression. *Pharmacol Ther* 94: 113-122.
- Brooks-Kayal, AR, Shumate, MD, Jin, H, Rikhter, TY & Coulter, DA. (1998) Selective changes in single cell GABA<sub>A</sub> receptor subunit expression and function in temporal lobe epilepsy. *Nat Med* 4: 1166-1172.
- Brown, JT, Gill, CH, Farmer, CE, Lanneau, C, Randall, AD, Pangalos, MN, Collingridge, GL & Davies, CH. (2003) Mechanisms contributing to the exacerbated epileptiform activity in hippocampal slices of GABA<sub>B1</sub> receptor subunit knockout mice. *Epilepsy Res* 57: 121-136.
- Brunig, I, Penschuck, S, Berninger, B, Benson, J & Fritschy, JM. (2001) BDNF reduces miniature inhibitory postsynaptic currents by rapid downregulation of GABA(A) receptor surface expression. *Eur J Neurosci* 13: 1320-1328.

- Brussaard, AB, Kits, KS, Baker, RE, Willems, WP, Leyting-Vermeulen, JW, Voorn, P, Smit, AB, Bicknell, RJ & Herbison, AE. (1997) Plasticity in fast synaptic inhibition of adult oxytocin neurons caused by switch in GABA(A) receptor subunit expression. *Neuron* 19: 1103-1114.
- Buhl, EH, Halasy, K & Somogyi, P. (1994) Diverse sources of hippocampal unitary inhibitory postsynaptic potentials and the number of synaptic release sites. *Nature* 368: 823-828.
- Burgard, EC, Tietz, EI, Neelands, TR & Macdonald, RL. (1996) Properties of recombinant gamma-aminobutyric acid A receptor isoforms containing the alpha 5 subunit subtype. *Mol Pharmacol* 50: 119-127.
- Buzsaki, G & Eidelberg, E. (1982) Direct afferent excitation and long-term potentiation of hippocampal interneurons. *J Neurophysiol* 48: 597-607.
- Buzsaki, G. (1984) Feed-forward inhibition in the hippocampal formation. *Prog Neurobiol* 22: 131-153.
- Buzsaki, G. (1997) Functions for interneuronal nets in the hippocampus. *Can J Physiol Pharmacol* 75: 508-515.
- Buzsaki, G. (2002) Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* 33: 325-340.
- Caillard, O, Ben-Ari, Y & Gaiarsa, JL. (1999a) Mechanisms of induction and expression of long-term depression at GABAergic synapses in the neonatal rat hippocampus. *J Neurosci* 19: 7568-7577.
- Caillard, O, Ben-Ari, Y & Gaiarsa, JL. (1999b) Long-term potentiation of GABAergic synaptic transmission in neonatal rat hippocampus. *J Physiol* 518 ( Pt 1): 109-119.
- Caillard, O, Moreno, H, Schwaller, B, Llano, I, Celio, MR & Marty, A. (2000) Role of the calcium-binding protein parvalbumin in short-term synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 13372-13377.
- Calver, AR, Medhurst, AD, Robbins, MJ, Charles, KJ, Evans, ML, Harrison, DC, Stammers, M, Hughes, SA, Hervieu, G, Couve, A, Moss, SJ, Middlemiss, DN & Pangalos, MN. (2000) The expression of GABA(B1) and GABA(B2) receptor subunits in the CNS differs from that in peripheral tissues. *Neuroscience* 100: 155-170.

- Calver, AR, Robbins, MJ, Cosio, C, Rice, SQ, Babbs, AJ, Hirst, WD, Boyfield, I, Wood, MD, Russell, RB, Price, GW, Couve, A, Moss, SJ & Pangalos, MN. (2001) The C-terminal domains of the GABA(b) receptor subunits mediate intracellular trafficking but are not required for receptor signaling. *J Neurosci* 21: 1203-1210.
- Cammarota, M, Izquierdo, I, Wolfman, C, Levi de Stein, M, Bernabeu, R, Jerusalinsky, D & Medina, JH. (1995) Inhibitory avoidance training induces rapid and selective changes in 3[H]AMPA receptor binding in the rat hippocampal formation. *Neurobiol Learn Mem* 64: 257-264.
- Carroll, RC, Lissin, DV, von Zastrow, M, Nicoll, RA & Malenka, RC. (1999) Rapid redistribution of glutamate receptors contributes to long-term depression in hippocampal cultures. *Nat Neurosci* 2: 454-460.
- Chang, FL & Greenough, WT. (1984) Transient and enduring morphological correlates of synaptic activity and efficacy change in the rat hippocampal slice. *Brain Res* 309: 35-46.
- Chapman, CA, Perez, Y & Lacaille, JC. (1998) Effects of GABA(A) inhibition on the expression of long-term potentiation in CA1 pyramidal cells are dependent on tetanization parameters. *Hippocampus* 8: 289-298.
- Chapman, CA & Lacaille, JC. (1999a) Cholinergic induction of theta-frequency oscillations in hippocampal inhibitory interneurons and pacing of pyramidal cell firing. *J Neurosci* 19: 8637-8645.
- Chapman, CA & Lacaille, JC. (1999b) Intrinsic theta-frequency membrane potential oscillations in hippocampal CA1 interneurons of stratum lacunosum-moleculare. *J Neurophysiol* 81: 1296-1307.
- Chard, PS, Bleakman, D, Christakos, S, Fullmer, CS & Miller, RJ. (1993) Calcium buffering properties of calbindin D28k and parvalbumin in rat sensory neurones. *J Physiol* 472: 341-357.
- Charles, KJ, Evans, ML, Robbins, MJ, Calver, AR, Leslie, RA & Pangalos, MN. (2001) Comparative immunohistochemical localisation of GABA(B1a), GABA(B1b) and GABA(B2) subunits in rat brain, spinal cord and dorsal root ganglion. *Neuroscience* 106: 447-467.



- Chen, K, Ratzliff, A, Hilgenberg, L, Gulyas, A, Freund, TF, Smith, M, Dinh, TP, Piomelli, D, Mackie, K & Soltesz, I. (2003) Long-term plasticity of endocannabinoid signaling induced by developmental febrile seizures. *Neuron* 39: 599-611.
- Chen, L, Wang, H, Vicini, S & Olsen, RW. (2000) The gamma-aminobutyric acid type A (GABA<sub>A</sub>) receptor-associated protein (GABARAP) promotes GABA<sub>A</sub> receptor clustering and modulates the channel kinetics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 11557-11562.
- Chen, QX & Wong, RK. (1994) Intracellular control of GABA<sub>A</sub>-receptor responses in hippocampal neurons: role of phosphorylation. *Jpn J Physiol* 44 Suppl 2: S101-104.
- Chevalyere, V & Castillo, PE. (2003) Heterosynaptic LTD of hippocampal GABAergic synapses: a novel role of endocannabinoids in regulating excitability. *Neuron* 38: 461-472.
- Choi, DW, Farb, DH & Fischbach, GD. (1977) Chlordiazepoxide selectively augments GABA action in spinal cord cell cultures. *Nature* 269: 342-344.
- Christie, BR, Franks, KM, Seamans, JK, Saga, K & Sejnowski, TJ. (2000) Synaptic plasticity in morphologically identified CA1 stratum radiatum interneurons and giant projection cells. *Hippocampus* 10: 673-683.
- Cobb, SR, Buhl, EH, Halasy, K, Paulsen, O & Somogyi, P. (1995) Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons. *Nature* 378: 75-78.
- Cohen, NJ & Squire, LR. (1980) Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science* 210: 207-210.
- Collingridge, GL, Kehl, SJ & McLennan, H. (1983) Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *J Physiol* 334: 33-46.
- Collingridge, GL, Herron, CE & Lester, RA. (1988) Synaptic activation of N-methyl-D-aspartate receptors in the Schaffer collateral-commissural pathway of rat hippocampus. *J Physiol* 399: 283-300.

- Collinson, N, Kuenzi, FM, Jarolimek, W, Maubach, KA, Cothliff, R, Sur, C, Smith, A, Otu, FM, Howell, O, Atack, JR, McKernan, RM, Seabrook, GR, Dawson, GR, Whiting, PJ & Rosahl, TW. (2002) Enhanced learning and memory and altered GABAergic synaptic transmission in mice lacking the alpha 5 subunit of the GABAA receptor. *J Neurosci* 22: 5572-5580.
- Colonnier, M. (1968) Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat visual cortex. An electron microscope study. *Brain Res* 9: 268-287.
- Conn, PJ & Pin, JP. (1997) Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 37: 205-237.
- Connolly, CN, Kittler, JT, Thomas, P, Uren, JM, Brandon, NJ, Smart, TG & Moss, SJ. (1999) Cell surface stability of gamma-aminobutyric acid type A receptors. Dependence on protein kinase C activity and subunit composition. *J Biol Chem* 274: 36565-36572.
- Cossart, R, Tyzio, R, Dinocourt, C, Esclapez, M, Hirsch, JC, Ben-Ari, Y & Bernard, C. (2001) Presynaptic kainate receptors that enhance the release of GABA on CA1 hippocampal interneurons. *Neuron* 29: 497-508.
- Couve, A, Filippov, AK, Connolly, CN, Bettler, B, Brown, DA & Moss, SJ. (1998) Intracellular retention of recombinant GABAB receptors. *J Biol Chem* 273: 26361-26367.
- Couve, A, Moss, SJ & Pangalos, MN. (2000) GABAB receptors: a new paradigm in G protein signaling. *Mol Cell Neurosci* 16: 296-312.
- Couve, A, Thomas, P, Calver, AR, Hirst, WD, Pangalos, MN, Walsh, FS, Smart, TG & Moss, SJ. (2002) Cyclic AMP-dependent protein kinase phosphorylation facilitates GABA(B) receptor-effector coupling. *Nat Neurosci* 5: 415-424.
- Cowan, AI, Stricker, C, Reece, LJ & Redman, SJ. (1998) Long-term plasticity at excitatory synapses on aspiny interneurons in area CA1 lacks synaptic specificity. *J Neurophysiol* 79: 13-20.
- Crestani, F, Keist, R, Fritschy, JM, Benke, D, Vogt, K, Prut, L, Bluthmann, H, Mohler, H & Rudolph, U. (2002) Trace fear conditioning involves hippocampal alpha5 GABA(A) receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 8980-8985.

- Cunningham, MD & Enna, SJ. (1996) Evidence for pharmacologically distinct GABAB receptors associated with cAMP production in rat brain. *Brain Res* 720: 220-224.
- Curtis, DR, Duggan, AW, Felix, D & Johnston, GA. (1970) Bicuculline and central GABA receptors. *Nature* 228: 676-677.
- Curtis, DR & Johnston, GA. (1974) Amino acid transmitters in the mammalian central nervous system. *Ergeb Physiol* 69: 97-188.
- Davies, SN, Lester, RA, Reymann, KG & Collingridge, GL. (1989) Temporally distinct pre- and post-synaptic mechanisms maintain long-term potentiation. *Nature* 338: 500-503.
- De Koninck, Y & Mody, I. (1996) The effects of raising intracellular calcium on synaptic GABAA receptor-channels. *Neuropharmacology* 35: 1365-1374.
- Delmas, P & Brown, DA. (2002) Junctional signaling microdomains: bridging the gap between the neuronal cell surface and Ca<sup>2+</sup> stores. *Neuron* 36: 787-790.
- Derkach, V, Barria, A & Soderling, TR. (1999) Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 3269-3274.
- Draguhn, A, Verdorn, TA, Ewert, M, Seeburg, PH & Sakmann, B. (1990) Functional and molecular distinction between recombinant rat GABAA receptor subtypes by Zn<sup>2+</sup>. *Neuron* 5: 781-788.
- Dutar, P & Nicoll, RA. (1988) Pre- and postsynaptic GABAB receptors in the hippocampus have different pharmacological properties. *Neuron* 1: 585-591.
- Essrich, C, Lorez, M, Benson, JA, Fritschy, JM & Luscher, B. (1998) Postsynaptic clustering of major GABAA receptor subtypes requires the gamma 2 subunit and gephyrin. *Nat Neurosci* 1: 563-571.
- Farrar, SJ, Whiting, PJ, Bonnert, TP & McKernan, RM. (1999) Stoichiometry of a ligand-gated ion channel determined by fluorescence energy transfer. *J Biol Chem* 274: 10100-10104.
- Filippova, N, Sedelnikova, A, Zong, Y, Fortinberry, H & Weiss, DS. (2000) Regulation of recombinant gamma-aminobutyric acid (GABA)(A) and GABA(C) receptors by protein kinase C. *Mol Pharmacol* 57: 847-856.

- Fisher, JL & Macdonald, RL. (1997) Single channel properties of recombinant GABAA receptors containing gamma 2 or delta subtypes expressed with alpha 1 and beta 3 subtypes in mouse L929 cells. *J Physiol* 505 ( Pt 2): 283-297.
- Freund, TF & Buzsaki, G. (1996) Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* 6: 347-470.
- Fricker, D, Verheugen, JA & Miles, R. (1999) Cell-attached measurements of the firing threshold of rat hippocampal neurones. *J Physiol* 517 ( Pt 3): 791-804.
- Fritschy, JM & Mohler, H. (1995) GABAA-receptor heterogeneity in the adult rat brain: differential regional and cellular distribution of seven major subunits. *J Comp Neurol* 359: 154-194.
- Fritschy, JM, Meskenaite, V, Weinmann, O, Honer, M, Benke, D & Mohler, H. (1999) GABAB-receptor splice variants GB1a and GB1b in rat brain: developmental regulation, cellular distribution and extrasynaptic localization. *Eur J Neurosci* 11: 761-768.
- Fritschy, JM & Brunig, I. (2003) Formation and plasticity of GABAergic synapses: physiological mechanisms and pathophysiological implications. *Pharmacol Ther* 98: 299-323.
- Fukunaga, K, Stoppini, L, Miyamoto, E & Muller, D. (1993) Long-term potentiation is associated with an increased activity of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II. *J Biol Chem* 268: 7863-7867.
- Gahwiler, BH & Brown, DA. (1985) GABAB-receptor-activated K<sup>+</sup> current in voltage-clamped CA3 pyramidal cells in hippocampal cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82: 1558-1562.
- Gaiarsa, JL, Caillard, O & Ben-Ari, Y. (2002) Long-term plasticity at GABAergic and glycinergic synapses: mechanisms and functional significance. *Trends Neurosci* 25: 564-570.
- Galvez, T, Parmentier, ML, Joly, C, Malitschek, B, Kaupmann, K, Kuhn, R, Bittiger, H, Froestl, W, Bettler, B & Pin, JP. (1999) Mutagenesis and modeling of the GABAB receptor extracellular domain support a venus flytrap mechanism for ligand binding. *J Biol Chem* 274: 13362-13369.

- Gerber, U & Gahwiler, BH. (1994) GABAB and adenosine receptors mediate enhancement of the K<sup>+</sup> current, IAHP, by reducing adenylyl cyclase activity in rat CA3 hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 72: 2360-2367.
- Gibbs, JW, Shumate, MD & Coulter, DA. (1997) Differential epilepsy-associated alterations in postsynaptic GABA<sub>A</sub> receptor function in dentate granule and CA1 neurons. *J Neurophysiol* 77: 1924-1938.
- Giese, KP, Fedorov, NB, Filipkowski, RK & Silva, AJ. (1998) Autophosphorylation at Thr286 of the alpha calcium-calmodulin kinase II in LTP and learning. *Science* 279: 870-873.
- Gomez-Villafuertes, R, Pintor, J, Gualix, J & Miras-Portugal, MT. (2003) GABAB receptor-mediated presynaptic potentiation of ATP ionotropic receptors in rat midbrain synaptosomes. *Neuropharmacology* 44: 311-323.
- Granger, R, Deadwyler, S, Davis, M, Moskovitz, B, Kessler, M, Rogers, G & Lynch, G. (1996) Facilitation of glutamate receptors reverses an age-associated memory impairment in rats. *Synapse* 22: 332-337.
- Gray, EG. (1959) Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: an electron microscope study. *J Anat* 93: 420-433.
- Grover, LM, Lambert, NA, Schwartzkroin, PA & Teyler, TJ. (1993) Role of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ions in depolarizing GABA<sub>A</sub> receptor-mediated responses in pyramidal cells of rat hippocampus. *J Neurophysiol* 69: 1541-1555.
- Grunze, HC, Rainnie, DG, Hasselmo, ME, Barkai, E, Hearn, EF, McCarley, RW & Greene, RW. (1996) NMDA-dependent modulation of CA1 local circuit inhibition. *J Neurosci* 16: 2034-2043.
- Gubellini, P, Ben-Ari, Y & Gaiarsa, JL. (2001) Activity- and age-dependent GABAergic synaptic plasticity in the developing rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 14: 1937-1946.
- Gulyas, AI, Seress, L, Toth, K, Acsady, L, Antal, M & Freund, TF. (1991) Septal GABAergic neurons innervate inhibitory interneurons in the hippocampus of the macaque monkey. *Neuroscience* 41: 381-390.
- Gulyas, AI, Miles, R, Hajos, N & Freund, TF. (1993) Precision and variability in postsynaptic target selection of inhibitory cells in the hippocampal CA3 region. *Eur J Neurosci* 5: 1729-1751.

- Gulyas, AI, Hajos, N & Freund, TF. (1996) Interneurons containing calretinin are specialized to control other interneurons in the rat hippocampus. *J Neurosci* 16: 3397-3411.
- Gupta, A, Wang, Y, Markram, H. (2000) Organizing principles for a diversity of GABAergic interneurons and synapses in the neocortex. *Science* 287: 373-378.
- Haas, HL & Rose, G. (1982) Long-term potentiation of excitatory synaptic transmission in the rat hippocampus: the role of inhibitory processes. *J Physiol* 329: 541-552.
- Hajos, N & Mody, I. (1997) Synaptic communication among hippocampal interneurons: properties of spontaneous IPSCs in morphologically identified cells. *J Neurosci* 17: 8427-8442.
- Hevers, W & Luddens, H. (1998) The diversity of GABAA receptors. Pharmacological and electrophysiological properties of GABAA channel subtypes. *Mol Neurobiol* 18: 35-86.
- Hill, DR. (1985) GABAB receptor modulation of adenylate cyclase activity in rat brain slices. *Br J Pharmacol* 84: 249-257.
- Hjorth-Simonsen, A. (1973) Some intrinsic connections of the hippocampus in the rat: an experimental analysis. *J Comp Neurol* 147: 145-161.
- Hoffman, AF, Riegel, AC & Lupica, CR. (2003) Functional localization of cannabinoid receptors and endogenous cannabinoid production in distinct neuron populations of the hippocampus. *Eur J Neurosci* 18: 524-534.
- Houser, CR & Esclapez, M. (1996) Vulnerability and plasticity of the GABA system in the pilocarpine model of spontaneous recurrent seizures. *Epilepsy Res* 26: 207-218.
- Hu, GY, Hvalby, O, Walaas, SI, Albert, KA, Skjeflo, P, Andersen, P & Greengard, P. (1987) Protein kinase C injection into hippocampal pyramidal cells elicits features of long term potentiation. *Nature* 328: 426-429.
- Isaac, JT, Nicoll, RA & Malenka, RC. (1995) Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP. *Neuron* 15: 427-434.
- Jensen, AA, Mosbacher, J, Elg, S, Lingenhoehl, K, Lohmann, T, Johansen, TN, Abrahamsen, B, Mattsson, JP, Lehmann, A, Bettler, B & Brauner-Osborne, H. (2002) The anticonvulsant gabapentin (neurontin) does not act through gamma-aminobutyric acid-B receptors. *Mol Pharmacol* 61: 1377-1384.

- Jensen, K, Jensen, MS & Lambert, JD. (1999a) Post-tetanic potentiation of GABAergic IPSCs in cultured rat hippocampal neurones. *J Physiol* 519 Pt 1: 71-84.
- Jensen, K, Lambert, JD & Jensen, MS. (1999b) Activity-dependent depression of GABAergic IPSCs in cultured hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 82: 42-49.
- Jerusalinsky, D, Ferreira, MB, Walz, R, Da Silva, RC, Bianchin, M, Ruschel, AC, Zanatta, MS, Medina, JH & Izquierdo, I. (1992) Amnesia by post-training infusion of glutamate receptor antagonists into the amygdala, hippocampus, and entorhinal cortex. *Behav Neural Biol* 58: 76-80.
- Johnston, GA. (1996) GABAA receptor pharmacology. *Pharmacol Ther* 69: 173-198.
- Jonas, P, Bischofberger, J, Fricker, D & Miles, R. (2004) Interneuron Diversity series: Fast in, fast out--temporal and spatial signal processing in hippocampal interneurons. *Trends Neurosci* 27: 30-40.
- Jones, KA, Borowsky, B, Tamm, JA, Craig, DA, Durkin, MM, Dai, M, Yao, WJ, Johnson, M, Gunwaldsen, C, Huang, LY, Tang, C, Shen, Q, Salon, JA, Morse, K, Laz, T, Smith, KE, Nagarathnam, D, Noble, SA, Branchek, TA & Gerald, C. (1998) GABA<sub>B</sub> receptors function as a heteromeric assembly of the subunits GABA<sub>B</sub>R1 and GABA<sub>B</sub>R2. *Nature* 396: 674-679.
- Jones-Davis, DM & Macdonald, RL. (2003) GABA<sub>A</sub> receptor function and pharmacology in epilepsy and status epilepticus. *Curr Opin Pharmacol* 3: 12-18.
- Kandel, ER, Schwartz, JH & Jessell, TM. (1991) *Principles of neural science* (3<sup>rd</sup> edition). Elsevier: New-York.
- Kandler, K, Katz, LC & Kauer, JA. (1998) Focal photolysis of caged glutamate produces long-term depression of hippocampal glutamate receptors. *Nat Neurosci* 1: 119-123.
- Kang, J, Jiang, L, Goldman, SA & Nedergaard, M. (1998) Astrocyte-mediated potentiation of inhibitory synaptic transmission. *Nat Neurosci* 1: 683-692.
- Kaupmann, K, Hugel, K, Heid, J, Flor, PJ, Bischoff, S, Mickel, SJ, McMaster, G, Angst, C, Bittiger, H, Froestl, W & Bettler, B. (1997) Expression cloning of GABA(B) receptors uncovers similarity to metabotropic glutamate receptors. *Nature* 386: 239-246.

- Kaupmann, K, Schuler, V, Mosbacher, J, Bischoff, S, Bittiger, H, Heid, J, Froestl, W, Leonhard, S, Pfaff, T, Karschin, A & Bettler, B. (1998) Human gamma-aminobutyric acid type B receptors are differentially expressed and regulate inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 14991-14996.
- Kawaguchi, Y & Hama, K. (1987a) Fast-spiking non-pyramidal cells in the hippocampal CA3 region, dentate gyrus and subiculum of rats. *Brain Res* 425: 351-355.
- Kawaguchi, Y & Hama, K. (1987b) Two subtypes of non-pyramidal cells in rat hippocampal formation identified by intracellular recording and HRP injection. *Brain Res* 411: 190-195.
- Kawaguchi, SY & Hirano, T. (2002) Signaling cascade regulating long-term potentiation of GABA(A) receptor responsiveness in cerebellar Purkinje neurons. *J Neurosci* 22: 3969-3976.
- Kittler, JT, Rostaing, P, Schiavo, G, Fritschy, JM, Olsen, R, Triller, A & Moss, SJ. (2001) The subcellular distribution of GABARAP and its ability to interact with NSF suggest a role for this protein in the intracellular transport of GABA(A) receptors. *Mol Cell Neurosci* 18: 13-25.
- Kittler, JT & Moss, SJ. (2001) Neurotransmitter receptor trafficking and the regulation of synaptic strength. *Traffic* 2: 437-448.
- Kittler, JT & Moss, SJ. (2003) Modulation of GABAA receptor activity by phosphorylation and receptor trafficking: implications for the efficacy of synaptic inhibition. *Curr Opin Neurobiol* 13: 341-347.
- Klapstein, GJ & Colmers, WF. (1993) On the sites of presynaptic inhibition by neuropeptide Y in rat hippocampus in vitro. *Hippocampus* 3: 103-111.
- Klausberger, T, Sarto, I, Ehya, N, Fuchs, K, Furtmuller, R, Mayer, B, Huck, S & Sieghart, W. (2001) Alternate use of distinct intersubunit contacts controls GABAA receptor assembly and stoichiometry. *J Neurosci* 21: 9124-9133.
- Kneussel, M, Brandstatter, JH, Laube, B, Stahl, S, Muller, U & Betz, H. (1999) Loss of postsynaptic GABA(A) receptor clustering in gephyrin-deficient mice. *J Neurosci* 19: 9289-9297.
- Kneussel, M. (2002) Dynamic regulation of GABA(A) receptors at synaptic sites. *Brain Res Brain Res Rev* 39: 74-83.



- Knoflach, F, Benke, D, Wang, Y, Scheurer, L, Luddens, H, Hamilton, BJ, Carter, DB, Mohler, H & Benson, JA. (1996) Pharmacological modulation of the diazepam-insensitive recombinant gamma-aminobutyric acidA receptors alpha 4 beta 2 gamma 2 and alpha 6 beta 2 gamma 2. *Mol Pharmacol* 50: 1253-1261.
- Knowles, WD & Schwartzkroin, PA. (1981) Local circuit synaptic interactions in hippocampal brain slices. *J Neurosci* 1: 318-322.
- Knowlton, BJ, Squire, LR & Gluck, MA. (1994) Probabilistic classification learning in amnesia. *Learn Mem* 1: 106-120.
- Kohler, C, Eriksson, LG, Davies, S & Chan-Palay, V. (1987) Co-localization of neuropeptide tyrosine and somatostatin immunoreactivity in neurons of individual subfields of the rat hippocampal region. *Neurosci Lett* 78: 1-6.
- Komatsu, Y. (1994) Age-dependent long-term potentiation of inhibitory synaptic transmission in rat visual cortex. *J Neurosci* 14: 6488-6499.
- Korpi, ER & Luddens, H. (1993) Regional gamma-aminobutyric acid sensitivity of t-butylbicyclophosphoro[35S]thionate binding depends on gamma-aminobutyric acidA receptor alpha subunit. *Mol Pharmacol* 44: 87-92.
- Korpi, ER & Luddens, H. (1997) Furosemide interactions with brain GABAA receptors. *Br J Pharmacol* 120: 741-748.
- Kotak, VC & Sanes, DH. (2000) Long-lasting inhibitory synaptic depression is age- and calcium-dependent. *J Neurosci* 20: 5820-5826.
- Krnjevic, K & Schwartz, S. (1967) The action of gamma-aminobutyric acid on cortical neurones. *Exp Brain Res* 3: 320-336.
- Krogsgaard-Larsen, P, Johnston, GA, Curtis, DR, Game, CJ & McCulloch, RM. (1975) Structure and biological activity of a series of conformationally restricted analogues of GABA. *J Neurochem* 25: 803-809.
- Krogsgaard-Larsen, P, Johnston, GA, Lodge, D & Curtis, DR. (1977) A new class of GABA agonist. *Nature* 268: 53-55.
- Kulik, A, Vida, I, Lujan, R, Haas, CA, Lopez-Bendito, G, Shigemoto, R & Frotscher, M. (2003) Subcellular localization of metabotropic GABA<sub>B</sub> receptor subunits GABA<sub>B1a/b</sub> and GABA<sub>B2</sub> in the rat hippocampus. *J Neurosci* 23: 11026-11035.

- Kumar, S, Sieghart, W & Morrow, AL. (2002) Association of protein kinase C with GABA(A) receptors containing alpha1 and alpha4 subunits in the cerebral cortex: selective effects of chronic ethanol consumption. *J Neurochem* 82: 110-117.
- Kuner, R, Kohr, G, Grunewald, S, Eisenhardt, G, Bach, A & Kornau, HC. (1999) Role of heteromer formation in GABAB receptor function. *Science* 283: 74-77.
- Lacaille, JC, Mueller, AL, Kunkel, DD & Schwartzkroin, PA. (1987) Local circuit interactions between oriens/alveus interneurons and CA1 pyramidal cells in hippocampal slices: electrophysiology and morphology. *J Neurosci* 7: 1979-1993.
- Lacaille, JC & Schwartzkroin, PA. (1988a) Stratum lacunosum-moleculare interneurons of hippocampal CA1 region. I. Intracellular response characteristics, synaptic responses, and morphology. *J Neurosci* 8: 1400-1410.
- Lacaille, JC & Schwartzkroin, PA. (1988b) Stratum lacunosum-moleculare interneurons of hippocampal CA1 region. II. Intracellular and intradendritic recordings of local circuit synaptic interactions. *J Neurosci* 8: 1411-1424.
- Lacaille, JC & Williams, S. (1990) Membrane properties of interneurons in stratum oriens-alveus of the CA1 region of rat hippocampus in vitro. *Neuroscience* 36: 349-359.
- Lacaille, JC. (1991) Postsynaptic potentials mediated by excitatory and inhibitory amino acids in interneurons of stratum pyramidale of the CA1 region of rat hippocampal slices in vitro. *J Neurophysiol* 66: 1441-1454.
- Lanneau, C, Green, A, Hirst, WD, Wise, A, Brown, JT, Donnier, E, Charles, KJ, Wood, M, Davies, CH & Pangalos, MN. (2001) Gabapentin is not a GABAB receptor agonist. *Neuropharmacology* 41: 965-975.
- Lapointe, V, Morin, F, Ratte, S, Croce, A, Conquet, F & Lacaille, JC. (2004) Synapse-specific mGluR1-dependent long-term potentiation in interneurons regulates mouse hippocampal inhibition. *J Physiol* 555: 125-135.
- Larson, J, Wong, D & Lynch, G. (1986) Patterned stimulation at the theta frequency is optimal for the induction of hippocampal long-term potentiation. *Brain Res* 368: 347-350.

- Lee, HK, Kameyama, K, Huganir, RL & Bear, MF. (1998) NMDA induces long-term synaptic depression and dephosphorylation of the GluR1 subunit of AMPA receptors in hippocampus. *Neuron* 21: 1151-1162.
- Lee, KS, Schottler, F, Oliver, M & Lynch, G. (1980) Brief bursts of high-frequency stimulation produce two types of structural change in rat hippocampus. *J Neurophysiol* 44: 247-258.
- Lee, SH, Schwaller, B & Neher, E. (2000) Kinetics of Ca<sup>2+</sup> binding to parvalbumin in bovine chromaffin cells: implications for [Ca<sup>2+</sup>] transients of neuronal dendrites. *J Physiol* 525 Pt 2: 419-432.
- Lenz, RA, Wagner, JJ & Alger, BE. (1998) N- and L-type calcium channel involvement in depolarization-induced suppression of inhibition in rat hippocampal CA1 cells. *J Physiol* 512 ( Pt 1): 61-73.
- Liao, D, Hessler, NA & Malinow, R. (1995) Activation of postsynaptically silent synapses during pairing-induced LTP in CA1 region of hippocampal slice. *Nature* 375: 400-404.
- Lien, CC & Jonas, P. (2003) Kv3 potassium conductance is necessary and kinetically optimized for high-frequency action potential generation in hippocampal interneurons. *J Neurosci* 23: 2058-2068.
- Linden, DJ & Routtenberg, A. (1989) The role of protein kinase C in long-term potentiation: a testable model. *Brain Res Brain Res Rev* 14: 279-296.
- Lisman, J. (1989) A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86: 9574-9578.
- Lledo, PM, Hjelmstad, GO, Mukherji, S, Soderling, TR, Malenka, RC & Nicoll, RA. (1995) Calcium/calmodulin-dependent kinase II and long-term potentiation enhance synaptic transmission by the same mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 11175-11179.
- Lopes da Silva, FH, Witter, MP, Boeijinga, PH & Lohman, AH. (1990) Anatomic organization and physiology of the limbic cortex. *Physiol Rev* 70: 453-511.
- Lorente de No, R. (1934) Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *Psychol Neurol* 46: 113-177.

- Lu, YM, Mansuy, IM, Kandel, ER & Roder, J. (2000) Calcineurin-mediated LTD of GABAergic inhibition underlies the increased excitability of CA1 neurons associated with LTP. *Neuron* 26: 197-205.
- Lubke, J, Frotscher, M & Spruston, N. (1998) Specialized electrophysiological properties of anatomically identified neurons in the hilar region of the rat fascia dentata. *J Neurophysiol* 79: 1518-1534.
- Ludwig, M & Pittman, QJ. (2003) Talking back: dendritic neurotransmitter release. *Trends Neurosci* 26: 255-261.
- Lujan, R, Roberts, JD, Shigemoto, R, Ohishi, H & Somogyi, P. (1997) Differential plasma membrane distribution of metabotropic glutamate receptors mGluR1 alpha, mGluR2 and mGluR5, relative to neurotransmitter release sites. *J Chem Neuroanat* 13: 219-241.
- Luscher, C, Jan, LY, Stoffel, M, Malenka, RC & Nicoll, RA. (1997) G protein-coupled inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels (GIRKs) mediate postsynaptic but not presynaptic transmitter actions in hippocampal neurons. *Neuron* 19: 687-695.
- Lynch, G, Larson, J, Kelso, S, Barrionuevo, G & Schottler, F. (1983) Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature* 305: 719-721.
- Lynch, MA. (2004) Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 84: 87-136.
- Maccaferri, G & McBain, CJ. (1995) Passive propagation of LTD to stratum oriens-alveus inhibitory neurons modulates the temporoammonic input to the hippocampal CA1 region. *Neuron* 15: 137-145.
- Maccaferri, G & McBain, CJ. (1996) Long-term potentiation in distinct subtypes of hippocampal nonpyramidal neurons. *J Neurosci* 16: 5334-5343.
- Maccaferri, G, Roberts, JD, Szucs, P, Cottingham, CA & Somogyi, P. (2000) Cell surface domain specific postsynaptic currents evoked by identified GABAergic neurones in rat hippocampus in vitro. *J Physiol* 524 Pt 1: 91-116.
- Macdonald, RL & Olsen, RW. (1994) GABAA receptor channels. *Annu Rev Neurosci* 17: 569-602.

- Makhinson, M, Chotiner, JK, Watson, JB & O'Dell, TJ. (1999) Adenylyl cyclase activation modulates activity-dependent changes in synaptic strength and Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase II autophosphorylation. *J Neurosci* 19: 2500-2510.
- Malcangio, M & Bowery, NG. (1993) GABAB receptor-mediated inhibition of forskolin-stimulated cyclic AMP accumulation in rat spinal cord. *Neurosci Lett* 158: 189-192.
- Malenka, RC, Kauer, JA, Perkel, DJ, Mauk, MD, Kelly, PT, Nicoll, RA & Waxham, MN. (1989) An essential role for postsynaptic calmodulin and protein kinase activity in long-term potentiation. *Nature* 340: 554-557.
- Malenka, RC & Nicoll, RA. (1993) NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. *Trends Neurosci* 16: 521-527.
- Malitschek, B, Schweizer, C, Keir, M, Heid, J, Froestl, W, Mosbacher, J, Kuhn, R, Henley, J, Joly, C, Pin, JP, Kaupmann, K & Bettler, B. (1999) The N-terminal domain of gamma-aminobutyric Acid(B) receptors is sufficient to specify agonist and antagonist binding. *Mol Pharmacol* 56: 448-454.
- Manabe, T, Renner, P & Nicoll, RA. (1992) Postsynaptic contribution to long-term potentiation revealed by the analysis of miniature synaptic currents. *Nature* 355: 50-55.
- Margeta-Mitrovic, M, Mitrovic, I, Riley, RC, Jan, LY & Basbaum, AI. (1999) Immunohistochemical localization of GABA(B) receptors in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 405: 299-321.
- Martina, M, Schultz, JH, Ehmke, H, Monyer, H & Jonas, P. (1998) Functional and molecular differences between voltage-gated K<sup>+</sup> channels of fast-spiking interneurons and pyramidal neurons of rat hippocampus. *J Neurosci* 18: 8111-8125.
- McBain, CJ, DiChiara, TJ & Kauer, JA. (1994) Activation of metabotropic glutamate receptors differentially affects two classes of hippocampal interneurons and potentiates excitatory synaptic transmission. *J Neurosci* 14: 4433-4445.
- McCarren, M & Alger, BE. (1985) Use-dependent depression of IPSPs in rat hippocampal pyramidal cells in vitro. *J Neurophysiol* 53: 557-571.

- McDonald, BJ, Amato, A, Connolly, CN, Benke, D, Moss, SJ & Smart, TG. (1998) Adjacent phosphorylation sites on GABAA receptor beta subunits determine regulation by cAMP-dependent protein kinase. *Nat Neurosci* 1: 23-28.
- McLean, HA, Caillard, O, Ben-Ari, Y & Gaiarsa, JL. (1996) Bidirectional plasticity expressed by GABAergic synapses in the neonatal rat hippocampus. *J Physiol* 496 (Pt 2): 471-477.
- Meis, S & Pape, HC. (2001) Control of glutamate and GABA release by nociceptin/orphanin FQ in the rat lateral amygdala. *J Physiol* 532: 701-712.
- Mihalek, RM, Banerjee, PK, Korpi, ER, Quinlan, JJ, Firestone, LL, Mi, ZP, Lagenaur, C, Tretter, V, Sieghart, W, Anagnostaras, SG, Sage, JR, Fanselow, MS, Guidotti, A, Spigelman, I, Li, Z, DeLorey, TM, Olsen, RW & Homanics, GE. (1999) Attenuated sensitivity to neuroactive steroids in gamma-aminobutyrate type A receptor delta subunit knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 12905-12910.
- Miles, R & Wong, RK. (1987) Inhibitory control of local excitatory circuits in the guinea-pig hippocampus. *J Physiol* 388: 611-629.
- Miles, R, Toth, K, Gulyas, AI, Hajos, N & Freund, TF. (1996) Differences between somatic and dendritic inhibition in the hippocampus. *Neuron* 16: 815-823.
- Misgeld, U, Sarvey, JM & Klee, MR. (1979) Heterosynaptic postactivation potentiation in hippocampal CA 3 neurons: long-term changes of the postsynaptic potentials. *Exp Brain Res* 37: 217-229.
- Mody, I. (2001) Distinguishing between GABA<sub>A</sub> receptors responsible for tonic and phasic conductances. *Neurochem Res* 26: 907-913.
- Morin, F, Beaulieu, C & Lacaille, JC. (1996) Membrane properties and synaptic currents evoked in CA1 interneuron subtypes in rat hippocampal slices. *J Neurophysiol* 76: 1-16.
- Morin, F, Beaulieu, C & Lacaille, JC. (1998) Cell-specific alterations in synaptic properties of hippocampal CA1 interneurons after kainate treatment. *J Neurophysiol* 80: 2836-2847.
- Morin, F, Beaulieu, C & Lacaille, JC. (1999) Alterations of perisomatic GABA synapses on hippocampal CA1 inhibitory interneurons and pyramidal cells in the kainate model of epilepsy. *Neuroscience* 93: 457-467.

- Morishita, R, Kato, K & Asano, T. (1990) GABAB receptors couple to G proteins Go, Go\* and Gi1 but not to Gi2. *FEBS Lett* 271: 231-235.
- Morris, RG, Anderson, E, Lynch, GS & Baudry, M. (1986) Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 319: 774-776.
- Moser, EI, Moser, MB & Andersen, P. (1994) Potentiation of dentate synapses initiated by exploratory learning in rats: dissociation from brain temperature, motor activity, and arousal. *Learn Mem* 1: 55-73.
- Moser, EI. (1996) Altered inhibition of dentate granule cells during spatial learning in an exploration task. *J Neurosci* 16: 1247-1259.
- Mott, DD & Lewis, DV. (1991) Facilitation of the induction of long-term potentiation by GABA<sub>B</sub> receptors. *Science* 252: 1718-1720.
- Mott, DD, Turner, DA, Okazaki, MM & Lewis, DV. (1997) Interneurons of the dentate-hilus border of the rat dentate gyrus: morphological and electrophysiological heterogeneity. *J Neurosci* 17: 3990-4005.
- Mozzrymas, JW & Cherubini, E. (1998) Changes in intracellular calcium concentration affect desensitization of GABAA receptors in acutely dissociated P2-P6 rat hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 79: 1321-1328.
- Mulkey, RM & Malenka, RC. (1992) Mechanisms underlying induction of homosynaptic long-term depression in area CA1 of the hippocampus. *Neuron* 9: 967-975.
- Mulkey, RM, Herron, CE & Malenka, RC. (1993) An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science* 261: 1051-1055.
- Murphy, SN & Miller, RJ. (1988) A glutamate receptor regulates Ca<sup>2+</sup> mobilization in hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85: 8737-8741.
- Naghdi, N, Majlessi, N & Bozorgmehr, T. (2003) The effects of anisomycin (a protein synthesis inhibitor) on spatial learning and memory in CA1 region of rats hippocampus. *Behav Brain Res* 139: 69-73.
- Nayak, A, Zastrow, DJ, Lickteig, R, Zahniser, NR & Browning, MD. (1998) Maintenance of late-phase LTP is accompanied by PKA-dependent increase in AMPA receptor synthesis. *Nature* 394: 680-683.

- Nayeem, N, Green, TP, Martin, IL & Barnard, EA. (1994) Quaternary structure of the native GABAA receptor determined by electron microscopic image analysis. *J Neurochem* 62: 815-818.
- Nehring, RB, Horikawa, HP, El Far, O, Kneussel, M, Brandstatter, JH, Stamm, S, Wischmeyer, E, Betz, H & Karschin, A. (2000) The metabotropic GABAB receptor directly interacts with the activating transcription factor 4. *J Biol Chem* 275: 35185-35191.
- Newberry, NR & Nicoll, RA. (1984) A bicuculline-resistant inhibitory post-synaptic potential in rat hippocampal pyramidal cells in vitro. *J Physiol* 348: 239-254.
- Newberry, NR & Nicoll, RA. (1985) Comparison of the action of baclofen with gamma-aminobutyric acid on rat hippocampal pyramidal cells in vitro. *J Physiol* 360: 161-185.
- Ng, GY, Bertrand, S, Sullivan, R, Ethier, N, Wang, J, Yergey, J, Belley, M, Trimble, L, Bateman, K, Alder, L, Smith, A, McKernan, R, Metters, K, O'Neill, GP, Lacaille, JC & Hebert, TE. (2001) Gamma-aminobutyric acid type B receptors with specific heterodimer composition and postsynaptic actions in hippocampal neurons are targets of anticonvulsant gabapentin action. *Mol Pharmacol* 59: 144-152.
- Nusser, Z, Sieghart, W, Benke, D, Fritschy, JM & Somogyi, P. (1996) Differential synaptic localization of two major gamma-aminobutyric acid type A receptor alpha subunits on hippocampal pyramidal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 11939-11944.
- Nusser, Z, Sieghart, W & Somogyi, P. (1998a) Segregation of different GABAA receptors to synaptic and extrasynaptic membranes of cerebellar granule cells. *J Neurosci* 18: 1693-1703.
- Nusser, Z, Hajos, N, Somogyi, P & Mody, I. (1998b) Increased number of synaptic GABA(A) receptors underlies potentiation at hippocampal inhibitory synapses. *Nature* 395: 172-177.
- Nusser, Z, Sieghart, W & Mody, I. (1999) Differential regulation of synaptic GABAA receptors by cAMP-dependent protein kinase in mouse cerebellar and olfactory bulb neurones. *J Physiol* 521 Pt 2: 421-435.



- Nusser, Z & Mody, I. (2002) Selective modulation of tonic and phasic inhibitions in dentate gyrus granule cells. *J Neurophysiol* 87: 2624-2628.
- Oda, Y, Kawasaki, K, Morita, M, Korn, H & Matsui, H. (1998) Inhibitory long-term potentiation underlies auditory conditioning of goldfish escape behaviour. *Nature* 394: 182-185.
- Otis, TS, De Koninck, Y & Mody, I. (1994) Lasting potentiation of inhibition is associated with an increased number of gamma-aminobutyric acid type A receptors activated during miniature inhibitory postsynaptic currents. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 7698-7702.
- Ouardouz, M & Lacaille, JC. (1995) Mechanisms of selective long-term potentiation of excitatory synapses in stratum oriens/alveus interneurons of rat hippocampal slices. *J Neurophysiol* 73: 810-819.
- Ouyang, Y, Rosenstein, A, Kreiman, G, Schuman, EM & Kennedy, MB. (1999) Tetanic stimulation leads to increased accumulation of Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II via dendritic protein synthesis in hippocampal neurons. *J Neurosci* 19: 7823-7833.
- Pagano, A, Rovelli, G, Mosbacher, J, Lohmann, T, Duthey, B, Stauffer, D, Ristig, D, Schuler, V, Meigel, I, Lampert, C, Stein, T, Prezeau, L, Blahos, J, Pin, J, Froestl, W, Kuhn, R, Heid, J, Kaupmann, K & Bettler, B. (2001) C-terminal interaction is essential for surface trafficking but not for heteromeric assembly of GABA(b) receptors. *J Neurosci* 21: 1189-1202.
- Parra, P, Gulyas, AI & Miles, R. (1998) How many subtypes of inhibitory cells in the hippocampus? *Neuron* 20: 983-993.
- Patenaude, C, Nurse, S & Lacaille, JC. (2001) Sensitivity of synaptic GABA(A) receptors to allosteric modulators in hippocampal oriens-alveus interneurons. *Synapse* 41: 29-39.
- Patenaude, C, Chapman, CA, Bertrand, S, Congar, P & Lacaille, JC. (2003) GABA<sub>B</sub> receptor- and metabotropic glutamate receptor-dependent cooperative long-term potentiation of rat hippocampal GABA<sub>A</sub> synaptic transmission. *J Physiol* 553: 155-167.

- Patenaude, C, Massicotte G & Lacaille, J-C. (2005) Cell-type specific GABA synaptic transmission and activity-dependent plasticity in rat hippocampal stratum radiatum interneurons. Soumis à Eur J Neurosci.
- Paulsen, O & Moser, EI. (1998) A model of hippocampal memory encoding and retrieval: GABAergic control of synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 21: 273-278.
- Pawelzik, H, Bannister, AP, Deuchars, J, Ilija, M & Thomson, AM. (1999) Modulation of bistratified cell IPSPs and basket cell IPSPs by pentobarbitone sodium, diazepam and Zn<sup>2+</sup>: dual recordings in slices of adult rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 11: 3552-3564.
- Pearce, RA. (1993) Physiological evidence for two distinct GABA<sub>A</sub> responses in rat hippocampus. *Neuron* 10: 189-200.
- Perez, Y, Chapman, CA, Woodhall, G, Robitaille, R & Lacaille, JC. (1999) Differential induction of long-lasting potentiation of inhibitory postsynaptic potentials by theta patterned stimulation versus 100-Hz tetanization in hippocampal pyramidal cells in vitro. *Neuroscience* 90: 747-757.
- Perez, Y, Morin, F & Lacaille, JC. (2001) A hebbian form of long-term potentiation dependent on mGluR1a in hippocampal inhibitory interneurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 9401-9406.
- Pettit, DL, Perlman, S & Malinow, R. (1994) Potentiated transmission and prevention of further LTP by increased CaMKII activity in postsynaptic hippocampal slice neurons. *Science* 266: 1881-1885.
- Pike, FG, Goddard, RS, Suckling, JM, Ganter, P, Kasthuri, N & Paulsen, O. (2000) Distinct frequency preferences of different types of rat hippocampal neurones in response to oscillatory input currents. *J Physiol* 529: 205-213.
- Pitler, TA & Alger, BE. (1992) Postsynaptic spike firing reduces synaptic GABA<sub>A</sub> responses in hippocampal pyramidal cells. *J Neurosci* 12: 4122-4132.
- Pitler, TA & Alger, BE. (1994) Differences between presynaptic and postsynaptic GABA<sub>B</sub> mechanisms in rat hippocampal pyramidal cells. *J Neurophysiol* 72: 2317-2327.

- Poisbeau, P, Cheney, MC, Browning, MD & Mody, I. (1999) Modulation of synaptic GABAA receptor function by PKA and PKC in adult hippocampal neurons. *J Neurosci* 19: 674-683.
- Pozza, MF, Manuel, NA, Steinmann, M, Froestl, W & Davies, CH. (1999) Comparison of antagonist potencies at pre- and post-synaptic GABA(B) receptors at inhibitory synapses in the CA1 region of the rat hippocampus. *Br J Pharmacol* 127: 211-219.
- Pritchett, DB, Luddens, H & Seeburg, PH. (1989) Type I and type II GABAA-benzodiazepine receptors produced in transfected cells. *Science* 245: 1389-1392.
- Rabow, LE, Russek, SJ & Farb, DH. (1995) From ion currents to genomic analysis: recent advances in GABAA receptor research. *Synapse* 21: 189-274.
- Ramon y Cajal, S. (1911) *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Paris: Maloine.
- Ranck, JB, Jr. (1973) Studies on single neurons in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats. I. Behavioral correlates and firing repertoires. *Exp Neurol* 41: 461-531.
- Rempel-Clower, NL, Zola, SM, Squire, LR & Amaral, DG. (1996) Three cases of enduring memory impairment after bilateral damage limited to the hippocampal formation. *J Neurosci* 16: 5233-5255.
- Ribak, CE, Vaughn, JE & Saito, K. (1978) Immunocytochemical localization of glutamic acid decarboxylase in neuronal somata following colchicine inhibition of axonal transport. *Brain Res* 140: 315-332.
- Ribak, CE, Seress, L, Peterson, GM, Seroogy, KB, Fallon, JH & Schmued, LC. (1986) A GABAergic inhibitory component within the hippocampal commissural pathway. *J Neurosci* 6: 3492-3498.
- Rice, A, Rafiq, A, Shapiro, SM, Jakoi, ER, Coulter, DA & DeLorenzo, RJ. (1996) Long-lasting reduction of inhibitory function and  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor subunit mRNA expression in a model of temporal lobe epilepsy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 9665-9669.
- Rivera, C, Voipio, J, Payne, JA, Ruusuvuori, E, Lahtinen, H, Lamsa, K, Pirvola, U, Saarna, M & Kaila, K. (1999) The K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation. *Nature* 397: 251-255.

- Rose, GM & Dunwiddie, TV. (1986) Induction of hippocampal long-term potentiation using physiologically patterned stimulation. *Neurosci Lett* 69: 244-248.
- Sakimura, K, Kutsuwada, T, Ito, I, Manabe, T, Takayama, C, Kushiya, E, Yagi, T, Aizawa, S, Inoue, Y, Sugiyama, H & et al. (1995) Reduced hippocampal LTP and spatial learning in mice lacking NMDA receptor epsilon 1 subunit. *Nature* 373: 151-155.
- Sanes, DH & Siverls, V. (1991) Development and specificity of inhibitory terminal arborizations in the central nervous system. *J Neurobiol* 22: 837-854.
- Scanziani, M. (2000) GABA spillover activates postsynaptic GABA<sub>B</sub> receptors to control rhythmic hippocampal activity. *Neuron* 25: 673-681.
- Scharfman, HE & Sarvey, JM. (1985) gamma-Aminobutyrate sensitivity does not change during long-term potentiation in rat hippocampal slices. *Neuroscience* 15: 695-702.
- Schofield, PR, Darlison, MG, Fujita, N, Burt, DR, Stephenson, FA, Rodriguez, H, Rhee, LM, Ramachandran, J, Reale, V, Glencorse, TA & et al. (1987) Sequence and functional expression of the GABA A receptor shows a ligand-gated receptor superfamily. *Nature* 328: 221-227.
- Scholz, KP & Miller, RJ. (1991) GABAB receptor-mediated inhibition of Ca<sup>2+</sup> currents and synaptic transmission in cultured rat hippocampal neurones. *J Physiol* 444: 669-686.
- Schwartzkroin, PA & Wester, K. (1975) Long-lasting facilitation of a synaptic potential following tetanization in the in vitro hippocampal slice. *Brain Res* 89: 107-119.
- Schwartzkroin, PA & Mathers, LH. (1978) Physiological and morphological identification of a nonpyramidal hippocampal cell type. *Brain Res* 157: 1-10.
- Schwartzkroin, PA & Kunkel, DD. (1985) Morphology of identified interneurons in the CA1 regions of guinea pig hippocampus. *J Comp Neurol* 232: 205-218.
- Scoville, WB. (1954) The limbic lobe in man. *J Neurosurg* 11: 64-66.
- Scoville, WB & Milner, B. (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurochem* 20: 11-21.
- Semyanov, A & Kullmann, DM. (2000) Modulation of GABAergic signaling among interneurons by metabotropic glutamate receptors. *Neuron* 25: 663-672.

- Semyanov, A & Kullmann, DM. (2002) Relative picrotoxin insensitivity distinguishes ionotropic GABA receptor-mediated IPSCs in hippocampal interneurons. *Neuropharmacology* 43: 726-736.
- Seress, L & Ribak, CE. (1983) GABAergic cells in the dentate gyrus appear to be local circuit and projection neurons. *Exp Brain Res* 50: 173-182.
- Shew, T, Yip, S & Sastry, BR. (2000) Mechanisms involved in tetanus-induced potentiation of fast IPSCs in rat hippocampal CA1 neurons. *J Neurophysiol* 83: 3388-3401.
- Shi, SH, Hayashi, Y, Petralia, RS, Zaman, SH, Wenthold, RJ, Svoboda, K & Malinow, R. (1999) Rapid spine delivery and redistribution of AMPA receptors after synaptic NMDA receptor activation. *Science* 284: 1811-1816.
- Silva, AJ, Stevens, CF, Tonegawa, S & Wang, Y. (1992) Deficient hippocampal long-term potentiation in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 257: 201-206.
- Sloviter, RS. (1989) Calcium-binding protein (calbindin-D28k) and parvalbumin immunocytochemistry: localization in the rat hippocampus with specific reference to the selective vulnerability of hippocampal neurons to seizure activity. *J Comp Neurol* 280: 183-196.
- Smart, TG. (1997) Regulation of excitatory and inhibitory neurotransmitter-gated ion channels by protein phosphorylation. *Curr Opin Neurobiol* 7: 358-367.
- Soderling, TR & Derkach, VA. (2000) Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. *Trends Neurosci* 23: 75-80.
- Solis, JM & Nicoll, RA. (1992) Pharmacological characterization of GABAB-mediated responses in the CA1 region of the rat hippocampal slice. *J Neurosci* 12: 3466-3472.
- Somogyi, P, Kisvarday, ZF, Martin, KA & Whitteridge, D. (1983) Synaptic connections of morphologically identified and physiologically characterized large basket cells in the striate cortex of cat. *Neuroscience* 10: 261-294.
- Somogyi, P, Freund, TF, Hodgson, AJ, Somogyi, J, Beroukas, D & Chubb, IW. (1985) Identified axo-axonic cells are immunoreactive for GABA in the hippocampus and visual cortex of the cat. *Brain Res* 332: 143-149.

- Somogyi, P, Fritschy, JM, Benke, D, Roberts, JD & Sieghart, W. (1996) The gamma 2 subunit of the GABAA receptor is concentrated in synaptic junctions containing the alpha 1 and beta 2/3 subunits in hippocampus, cerebellum and globus pallidus. *Neuropharmacology* 35: 1425-1444.
- Sperk, G, Schwarzer, C, Tsunashima, K, Fuchs, K & Sieghart, W. (1997) GABA(A) receptor subunits in the rat hippocampus I: immunocytochemical distribution of 13 subunits. *Neuroscience* 80: 987-1000.
- Squire, LR & Zola-Morgan, S. (1991) The medial temporal lobe memory system. *Science* 253: 1380-1386.
- Squire, LR & Zola, SM. (1996) Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 13515-13522.
- Staley, KJ, Soldo, BL & Proctor, WR. (1995) Ionic mechanisms of neuronal excitation by inhibitory GABAA receptors. *Science* 269: 977-981.
- Stanton, PK & Sarvey, JM. (1984) Blockade of long-term potentiation in rat hippocampal CA1 region by inhibitors of protein synthesis. *J Neurosci* 4: 3080-3088.
- Staubli, U, Rogers, G & Lynch, G. (1994) Facilitation of glutamate receptors enhances memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 777-781.
- Stell, BM & Mody, I. (2002) Receptors with different affinities mediate phasic and tonic GABA(A) conductances in hippocampal neurons. *J Neurosci* 22: RC223.
- Stelzer, A, Slater, NT & ten Bruggencate, G. (1987) Activation of NMDA receptors blocks GABAergic inhibition in an in vitro model of epilepsy. *Nature* 326: 698-701.
- Stelzer, A, Simon, G, Kovacs, G & Rai, R. (1994) Synaptic disinhibition during maintenance of long-term potentiation in the CA1 hippocampal subfield. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 3058-3062.
- Stelzer, A & Shi, H. (1994) Impairment of GABAA receptor function by N-methyl-D-aspartate-mediated calcium influx in isolated CA1 pyramidal cells. *Neuroscience* 62: 813-828.
- Stopfer, M & Laurent, G. (1999) Short-term memory in olfactory network dynamics. *Nature* 402: 664-668.

- Storm-Mathisen, J, Leknes, AK, Bore, AT, Vaaland, JL, Edminson, P, Haug, FM & Ottersen, OP. (1983) First visualization of glutamate and GABA in neurones by immunocytochemistry. *Nature* 301: 517-520.
- Straessle, A, Loup, F, Arabadzisz, D, Ohning, GV & Fritschy, JM. (2003) Rapid and long-term alterations of hippocampal GABAB receptors in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Eur J Neurosci* 18: 2213-2226.
- Struble, RG, Desmond, NL & Levy, WB. (1978) Anatomical evidence for interlamellar inhibition in the fascia dentata. *Brain Res* 152: 580-585.
- Swanson, LW, Wyss, JM & Cowan, WM. (1978) An autoradiographic study of the organization of intrahippocampal association pathways in the rat. *J Comp Neurol* 181: 681-715.
- Tallent, MK & Siggins, GR. (1997) Somatostatin depresses excitatory but not inhibitory neurotransmission in rat CA1 hippocampus. *J Neurophysiol* 78: 3008-3018.
- Tan, SE & Liang, KC. (1996) Spatial learning alters hippocampal calcium/calmodulin-dependent protein kinase II activity in rats. *Brain Res* 711: 234-240.
- Taniyama, K, Niwa, M, Kataoka, Y & Yamashita, K. (1992) Activation of protein kinase C suppresses the gamma-aminobutyric acidB receptor-mediated inhibition of the vesicular release of noradrenaline and acetylcholine. *J Neurochem* 58: 1239-1245.
- Taube, JS & Schwartzkroin, PA. (1987) Intracellular recording from hippocampal CA1 interneurons before and after development of long-term potentiation. *Brain Res* 419: 32-38.
- Thompson, SM. (1994) Modulation of inhibitory synaptic transmission in the hippocampus. *Prog Neurobiol* 42: 575-609.
- Thomson, AM, Bannister, AP, Hughes, DI & Pawelzik, H. (2000) Differential sensitivity to Zolpidem of IPSPs activated by morphologically identified CA1 interneurons in slices of rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 12: 425-436.
- Tietz, EI, Huang, X, Chen, S & Fencak, WF. (1999) Temporal and regional regulation of alpha1, beta2 and beta3, but not alpha2, alpha4, alpha5, alpha6, beta1 or gamma2 GABA(A) receptor subunit messenger RNAs following one-week oral flurazepam administration. *Neuroscience* 91: 327-341.

- Tocco, G, Devgan, KK, Hauge, SA, Weiss, C, Baudry, M & Thompson, RF. (1991) Classical conditioning selectively increases AMPA receptor binding in rabbit hippocampus. *Brain Res* 559: 331-336.
- Toth, K & Freund, TF. (1992) Calbindin D28k-containing nonpyramidal cells in the rat hippocampus: their immunoreactivity for GABA and projection to the medial septum. *Neuroscience* 49: 793-805.
- Tsien, JZ, Huerta, PT & Tonegawa, S. (1996) The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell* 87: 1327-1338.
- Unwin, N. (1993) Neurotransmitter action: opening of ligand-gated ion channels. *Cell* 72 Suppl: 31-41.
- Verdoorn, TA, Draguhn, A, Ymer, S, Seeburg, PH & Sakmann, B. (1990) Functional properties of recombinant rat GABA<sub>A</sub> receptors depend upon subunit composition. *Neuron* 4: 919-928.
- Vernon, E, Meyer, G, Pickard, L, Dev, K, Molnar, E, Collingridge, GL & Henley, JM. (2001) GABA(B) receptors couple directly to the transcription factor ATF4. *Mol Cell Neurosci* 17: 637-645.
- Vicini, S, Ferguson, C, Prybylowski, K, Kralic, J, Morrow, AL & Homanics, GE. (2001) GABA(A) receptor alpha1 subunit deletion prevents developmental changes of inhibitory synaptic currents in cerebellar neurons. *J Neurosci* 21: 3009-3016.
- Vreugdenhil, M, Jefferys, JG, Celio, MR & Schwaller, B. (2003) Parvalbumin-deficiency facilitates repetitive IPSCs and gamma oscillations in the hippocampus. *J Neurophysiol* 89: 1414-1422.
- Wan, Q, Man, HY, Braunton, J, Wang, W, Salter, MW, Becker, L & Wang, YT. (1997) Modulation of GABA<sub>A</sub> receptor function by tyrosine phosphorylation of beta subunits. *J Neurosci* 17: 5062-5069.
- Wang, J, Liu, S, Haditsch, U, Tu, W, Cochrane, K, Ahmadian, G, Tran, L, Paw, J, Wang, Y, Mansuy, I, Salter, MM & Lu, YM. (2003) Interaction of calcineurin and type-A GABA receptor gamma 2 subunits produces long-term depression at CA1 inhibitory synapses. *J Neurosci* 23: 826-836.



- Weiser, M, Vega-Saenz de Miera, E, Kentros, C, Moreno, H, Franzen, L, Hillman, D, Baker, H & Rudy, B. (1994) Differential expression of Shaw-related K<sup>+</sup> channels in the rat central nervous system. *J Neurosci* 14: 949-972.
- Wermuth, CG, Bourguignon, JJ, Schlewer, G, Gies, JP, Schoenfelder, A, Melikian, A, Bouchet, MJ, Chantreux, D, Molimard, JC, Heaulme, M & et al. (1987) Synthesis and structure-activity relationships of a series of aminopyridazine derivatives of gamma-aminobutyric acid acting as selective GABA-A antagonists. *J Med Chem* 30: 239-249.
- Wetherington, JP & Lambert, NA. (2002) GABA(B) receptor activation desensitizes postsynaptic GABA(B) and A(1) adenosine responses in rat hippocampal neurones. *J Physiol* 544: 459-467.
- White, JH, Wise, A, Main, MJ, Green, A, Fraser, NJ, Disney, GH, Barnes, AA, Emson, P, Foord, SM & Marshall, FH. (1998) Heterodimerization is required for the formation of a functional GABA<sub>B</sub> receptor. *Nature* 396: 679-682.
- White, JH, McIllhinney, RA, Wise, A, Ciruela, F, Chan, WY, Emson, PC, Billinton, A & Marshall, FH. (2000) The GABAB receptor interacts directly with the related transcription factors CREB2 and ATFx. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 13967-13972.
- Whittaker, E, Vereker, E & Lynch, MA. (1999) Neuropeptide Y inhibits glutamate release and long-term potentiation in rat dentate gyrus. *Brain Res* 827: 229-233.
- Whittington, MA & Traub, RD. (2003) Interneuron diversity series: inhibitory interneurons and network oscillations in vitro. *Trends Neurosci* 26: 676-682.
- Wigstrom, H & Gustafsson, B. (1983) Facilitated induction of hippocampal long-lasting potentiation during blockade of inhibition. *Nature* 301: 603-604.
- Wigstrom, H & Gustafsson, B. (1985) Facilitation of hippocampal long-lasting potentiation by GABA antagonists. *Acta Physiol Scand* 125: 159-172.
- Williams, S & Lacaille, JC. (1992) GABAB receptor-mediated inhibitory postsynaptic potentials evoked by electrical stimulation and by glutamate stimulation of interneurons in stratum lacunosum-moleculare in hippocampal CA1 pyramidal cells in vitro. *Synapse* 11: 249-258.

- Wilson, RI & Nicoll, RA. (2001) Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature* 410: 588-592.
- Wisden, W, Herb, A, Wieland, H, Keinänen, K, Luddens, H & Seeburg, PH. (1991) Cloning, pharmacological characteristics and expression pattern of the rat GABAA receptor alpha 4 subunit. *FEBS Lett* 289: 227-230.
- Wohlfarth, KM, Bianchi, MT & Macdonald, RL. (2002) Enhanced neurosteroid potentiation of ternary GABA(A) receptors containing the delta subunit. *J Neurosci* 22: 1541-1549.
- Woodin, MA, Ganguly, K & Poo, MM. (2003) Coincident pre- and postsynaptic activity modifies GABAergic synapses by postsynaptic changes in Cl<sup>-</sup> transporter activity. *Neuron* 39: 807-820.
- Wu, LG & Saggau, P. (1995) GABAB receptor-mediated presynaptic inhibition in guinea-pig hippocampus is caused by reduction of presynaptic Ca<sup>2+</sup> influx. *J Physiol* 485 ( Pt 3): 649-657.
- Xie, Z, Yip, S, Morishita, W & Sastry, BR. (1995) Tetanus-induced potentiation of inhibitory postsynaptic potentials in hippocampal CA1 neurons. *Can J Physiol Pharmacol* 73: 1706-1713.
- Yamamoto, C & Chujo, T. (1978) Long-term potentiation in thin hippocampal sections studied by intracellular and extracellular recordings. *Exp Neurol* 58: 242-250.
- Yeung, JY, Canning, KJ, Zhu, G, Pennefather, P, MacDonald, JF & Orser, BA. (2003) Tonically activated GABAA receptors in hippocampal neurons are high-affinity, low-conductance sensors for extracellular GABA. *Mol Pharmacol* 63: 2-8.
- Yoshimura, M, Yoshida, S & Taniyama, K. (1995) Desensitization by cyclic AMP-dependent protein kinase of GABAB receptor expressed in *Xenopus* oocytes. *Life Sci* 57: 2397-2401.
- Zola-Morgan, S, Squire, LR & Amaral, DG. (1986) Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *J Neurosci* 6: 2950-2967.
- Zola-Morgan, S & Squire, LR. (1986) Memory impairment in monkeys following lesions limited to the hippocampus. *Behav Neurosci* 100: 155-160.

Zola-Morgan, S, Squire, LR & Ramus, SJ. (1994) Severity of memory impairment in monkeys as a function of locus and extent of damage within the medial temporal lobe memory system. *Hippocampus* 4: 483-495.

Zucker, RS. (1989) Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 12: 13-31.

## ANNEXE I

### **Contribution à la conception et à la rédaction de chaque article:**

#### **1) GABA<sub>B</sub> receptor- and metabotropic glutamate receptor-dependent cooperative long-term potentiation of rat hippocampal GABA<sub>A</sub> synaptic transmission.**

J'ai effectué la plupart des expériences électrophysiologiques, l'analyse des résultats et la rédaction de cet article. Andrew Chapman a participé aux expériences en effectuant les enregistrements intracellulaires (fig. 1) et une partie des enregistrements en mode patch-clamp courant imposé (fig. 2) tandis que Sandrine Bertrand a effectué les enregistrements doubles (fig. 6).

#### **2) Cell-type specific GABA synaptic transmission and activity-dependent plasticity in rat hippocampal stratum radiatum interneurons.**

J'ai effectué la totalité des expériences électrophysiologiques, l'histologie, l'analyse des résultats et la rédaction de cet article.

#### **3) Sensitivity of synaptic GABA<sub>A</sub> receptors to allosteric modulators in hippocampal oriens-alveus interneurons.**

J'ai effectué la totalité des expériences électrophysiologiques, l'analyse des résultats et la rédaction de cet article. Les reconstructions des interneurons à la camera lucida ont été faites par Isabelle Jutras. Suzanne Nurse m'a entraîné à apprendre la technique d'enregistrement en patch-clamp.

