

研究论文

晚时相长时程增强翻转前后大鼠海马 CA1 区 AMPAR/GluR2 的表达

张莉^{1,2,*}, 李延海³, 孟凯^{1,2}, 谢雯¹

西安交通大学¹医学院生理学与病理生理学系; ²环境与疾病相关基因教育部重点实验室, 西安 710061; ³生命科学院生物医学工程系, 西安 710049

摘要: 晚时相长时程增强(late-phase long-term potentiation, L-LTP)对于海马长期记忆的维持具有非常重要的作用, 然而L-LTP可被诱导之后的神经元活动所翻转。本实验旨在研究海马CA1区L-LTP的翻转是否有突触前机制的参与以及L-LTP翻转前后AMPARs的表达有无变化。实验采用海马脑薄片细胞外场电位记录技术, 使用强直刺激(high-frequency stimulation, HFS)诱导出CA1区L-LTP, 2 h后用两组间隔10 min的高强度的双脉冲低频刺激(high-intensity paired-pulse low frequency stimulation, HI-PP-LFS)诱导L-LTP翻转。在LTP诱导前、诱导2 h后、翻转后均给予一个双脉冲刺激, 观察双脉冲比值(paired-pulse ratio, PPR)的变化; 另一方面, 实验通过免疫荧光组织化学方法观察AMPAR/GluR2在L-LTP翻转前后海马CA1区表达的变化。结果显示, L-LTP诱导后2 h, HI-PP-LFS可诱导L-LTP的部分翻转(翻转率为61.79%±14.51%)。LTP诱导前、诱导2 h后、翻转后PPR均大于1, 表现为双脉冲易化(paired-pulse facilitation, PPF), 且三者大小顺序为: LTP诱导后 < LTP翻转后 < LTP诱导前; 在海马CA1区AMPAR/GluR2亚单位的表达方面, 对照组、LTP组及LTP翻转组之间没有显著差异。上述结果提示, 海马CA1区L-LTP维持与翻转均有突触前机制的参与, 但L-LTP诱导与翻转前后AMPAR/GluR2表达没有发生变化。

关键词: L-LTP; LTP翻转; AMPARs/GluR2; 海马

中图分类号: Q426; R338

The expressions of AMPAR/GluR2 in hippocampal CA1 area of rats before and after late-phase long-term potentiation reversal

ZHANG Li^{1,2,*}, LI Yan-Hai³, MENG Kai^{1,2}, XIE Wen¹

¹Department of Physiology and Pathophysiology, Medical School of Xi'an Jiaotong University; ²Ministry of Education Key Laboratory of Environment and Gene Related Diseases, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China; ³Institute of Biomedical Engineering, School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China

Abstract: Late-phase long-term potentiation (L-LTP) plays a very important role in the maintenance of long-term memory in hippocampus. However, studies have shown that L-LTP can be reversed by subsequent neuronal activity. The aim of the present study is to investigate whether the presynaptic mechanism and the change of AMPARs expressions are involved in the reversal of L-LTP in hippocampal CA1 area. Standard extracellular recording technique was used to record the potential change in the stratum radiatum of CA1 area of adult rat hippocampal slices. Two hours after LTP induction, which was induced by high-frequency stimulation (HFS), two episodes of high-intensity paired-pulse low-frequency stimulation (HI-PP-LFS) were delivered to induce L-LTP reversal. Paired-pulse ratios (PPR) were obtained before LTP induction, 2 h after LTP induction and 30 min after LTP reversal. On the other hand, immunofluorescence histochemistry was used to detect AMPARs expressions before and after L-LTP reversal. The results showed

Received 2009-08-05 Accepted 2009-12-04

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30670680) and the Medical Foundation for younger scholars of Xi'an Jiaotong University (No. YQN0811).

*Corresponding author. Tel: +86-29-82657490-829; E-mail: zhunglee@163.com

that, after 2 h of induction, L-LTP was partially reversed by two episodes of HI-PP-LFS, and the percentage of depotentiation was 61.79%±14.51%. PPR obtained before and after LTP induction, and as well that after LTP reversal, are all more than 1, showing paired-pulse facilitation (PPF). Multiple comparison indicated PPF before LTP induction was the greatest one, and PPF after LTP induction was the smallest. In addition, no significant difference was observed in the intensity of AMPAR/GluR2 immunoreactivity in CA1 area among control group, LTP group and LTP reversal group. These results suggest that the presynaptic mechanism is involved in both the maintenance and reversal of L-LTP and there is no change in AMPAR/GluR2 expression before and after the reversal of L-LTP.

Key words: L-LTP; LTP reversal; AMPARs/GluR2; hippocampus

长时程增强(long-term potentiation, LTP)作为大脑内信息储存和记忆形成的细胞机制，备受关注。有研究表明，LTP可被诱导之后的神经元的活动所翻转^[1, 2]，使LTP的幅度降低或彻底消除。这种LTP的翻转又称为去强化(depotentiation, DP)^[2]。研究表明只有在LTP诱导后一个很窄的时间窗内(一般为10 min)施加低频刺激才有效，并且翻转的程度随翻转刺激和LTP诱导刺激之间时间间隔的增大而降低^[2]。本研究室之前的研究表明，LTP诱导后2 h施加2倍强度的双脉冲低频刺激(high-intensity paired-pulse low frequency stimulation, HI-PP-LFS)可以部分翻转晚时相LTP(later phase LTP, L-LTP)，并且这种翻转依赖于NR2A-NMDARs^[3]。

谷氨酸是海马结构突触环路里最主要的一种神经递质。AMPARs作为离子型谷氨酸受体的一种，主要介导正常的快速兴奋性突触传递，AMPARs是由4种不同的亚单位(GluR1~4)组成的四聚体或五聚体复合物，功能性AMPARs均含有GluR2。研究报道，突触传递功能的长持续增强可能有新的AMPARs插入，而功能性降低可能有AMPARs的内化。

LTP的翻转具有非常重要的意义，在神经发育过程中，LTP的翻转阻止病理性突触的稳定，参与了神经环路的细化过程^[4]。近年来LTP的翻转成为神经科学领域的研究热点，而L-LTP翻转的研究则吸引了更多的研究兴趣，因为它可能是消除有害的记忆或病理性记忆(如痛觉记忆、成瘾记忆)的重要机制之一。然而对于L-LTP翻转的机制和翻转前后AMPARs的表达的变化，目前还尚不明了。本实验通过海马脑片细胞外场电位记录技术和免疫荧光组织化学方法，探讨海马CA1区L-LTP的翻转是否有突触前机制的参与以及L-LTP翻转前后AMPARs的表达有无变化。

1 材料和方法

1.1 实验动物 健康成年雄性Sprague-Dawley (SD)

大鼠，体重150~180 g，由西安交通大学实验动物中心提供。大鼠在12 h/12 h明/暗交替的环境中饲养，自由取食及饮水。

1.2 电生理实验 乙醚麻醉大鼠后迅速断头，取出全脑置于冰水降温的解剖台上，用冰预冷的、混合气(95 % O₂和5 % CO₂)饱和的人工脑脊液(artificial cerebrospinal fluid, ACSF)冲洗脑，使其快速降温。ACSF含有(mmol/L): NaCl 124、KCl 4.4、NaH₂PO₄ 1、MgSO₄ 1.3、CaCl₂ 2.5、NaHCO₃ 26、葡萄糖10，渗透压为305~310 mOsm/L。剥离出含有海马的脑组织，使用振动切片机将海马切成400 μm厚的脑片(横切面)，迅速将脑片移至气-液界面式记录(浴)槽内孵育2 h。记录槽温度控制在(28±1) °C。将记录电极(2 mol/L NaCl, 1~3 MΩ)置于海马CA1区辐射层以记录细胞外场兴奋性突触后电位(field excitatory postsynaptic potential, fEPSP)。特氟隆镍镉双极刺激电极(Microprobes, USA)，置于海马CA1区Schaffer传入纤维。刺激引起的诱发反应由记录电极输入微电极放大器，放大后输入记忆示波器，同时使用数据采集系统(Powerlab200, ADInstruments, Australia)采集并储存于计算机中。

以能诱导出最大反应的40%~50%的强度作为测试刺激强度，刺激波宽为0.2 ms。实验程序：(1)前对照(baseline): 每60 s给予一次测试刺激，记录诱发反应至少30 min，如反应的波幅稳定(变化小于10%)则可以施加刺激。(2)诱导长时程抑制(long-term depression, LTD): 前对照处理30 min后，使用高强度的双脉冲低频刺激(high-intensity paired-pulse low frequency stimulation, HI-PP-LFS)诱导，双脉冲间隔(paired-pulse interval, PPI)为200 ms，双脉冲对的频率为1 Hz，900对双脉冲为1组，共2组，组间隔10 min。刺激强度是测试刺激的2倍。(3)诱导L-LTP: 前对照处理30 min后，使用强直刺激(high-frequency stimulation, HFS)诱导，施加脉冲共480个，为六组θ节律串刺激(theta burst

stimulation, TBS), 组间隔为 10 min。每组 4 串, 串间隔 10 s, 每串 5 小串, 间隔 200 ms (串频率为 5 Hz), 每小串 4 个脉冲, 脉冲间隔 10 ms; 刺激强度及波宽均同测试刺激。强直刺激后, 再使用前对照刺激参数施加刺激, 按照实验需要确定记录时间的长短。(4) 诱导 L-LTP 翻转: LTP 诱导后 2 h, 使用 HI-PP-LFS 诱导翻转(同诱导 LTD 的条件刺激)。LTP 翻转率=(低频刺激施加前的最大强化值-低频刺激施加后 30 min 的强化值)/最大强化值×100%。翻转刺激结束后再给予测试刺激, 并继续记录场电位。(5) 在前对照处理 30 min、LTP 诱导后 2 h 以及第二组翻转刺激施加后 30 min 时分别给予一个双脉冲刺激(双脉冲间隔 50 ms), 测定双脉冲比值(paired-pulse ratio, PPR)的变化。PPR 即双脉冲刺激中第二个刺激诱导的反应与第一个刺激诱导的反应的比值。

1.3 免疫荧光实验 以上电生理实验中, 将 LTP 组(在施加第 6 组 TBS 刺激 30 min 时终止实验)和 LTP 翻转组(第 2 组 HI-PP-LFS 30 min 时终止实验)的脑片迅速移入预冷的 4% 多聚甲醛(PB 配制, pH 7.4, 4 °C)内 12~16 h, 之后浸入 4 °C 的 20% 蔗糖溶液中 2 h。OCT 包埋脑片后, 用恒冷箱切片机连续冠状切片, 切片厚 20 μm。PBS 漂洗 3 次, 每次 10 min, 之后置于抗冻液 -20 °C 保存。对照组脑片仅接受测试刺激, 刺激持续时间与 LTP 翻转组一致。本实验采用间接单标免疫荧光标记方法。所有脑片同一时间染色, 从抗冻液中取出, PBS 洗 3 次, 每次 10 min; 兔抗 GluR2 多克隆抗体(1:500; catalog AB1768, Chemicon), 4 °C, 48 h, 溶于 PBS (含 5% 羊血清、0.3% Triton X-100、0.05% NaN₃, pH 7.4), PBS 洗

3 次, 每次 10 min; Cy3 标记的山羊抗兔 IgG(1:500; catalog #AP187C, Chemicon), 室温避光 2 h; PBS 洗 3 次, 每次 10 min; 将切片置于处理好的载玻片上; 用磷酸盐甘油封片剂封片, 加盖盖玻片, 立即观测结果或置于 -20 °C 冰箱避光保存。

阴性对照用 PBS 替代一抗孵育, 其它步骤相同。每组选取 4 只动物, 对每只动物的海马脑片连续冠状切片, 隔 2 张取 1 张, 共取 3 张切片, 对每张切片海马 CA1 区进行测定, 每个脑片三张切片的平均值代表这张脑片的光密度值。使用 BX51 荧光显微镜(Olympus)观察, 激发波长的范围是 550~600 nm。显微镜下所观察区域的选择是以放置于 CA1 区的刺激电极为中心。对每张切片 40 倍物镜下、以刺激电极为中心 $1 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ 范围的光密度值进行测定。为了定量分析 AMPAR/GluR2 的表达, 应用 Photoshop CS 8.0 (Adobe Systems Incorporated) 以能观察到弱的阳性表达为标准, 将荧光照片转化成灰度图。应用 Image-Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics Inc.) 进行免疫荧光光密度的检测。

1.4 数据统计和分析 所有数据均以均数±标准误(mean±SEM)表示。采用统计软件 SPSS 13.0 分析数据, 多组比较采用 one-way ANOVA。以 $P < 0.05$ 作为有显著性差异的统计学标准。

2 结果

2.1 HI-PP-LFS 可诱导 LTD, 而且可以部分翻转 L-LTP

如图 1 所示, HI-PP-LFS 可诱导大鼠海马 CA1 区的 LTD。在前对照记录 30 min 后, 给予 HI-PP-

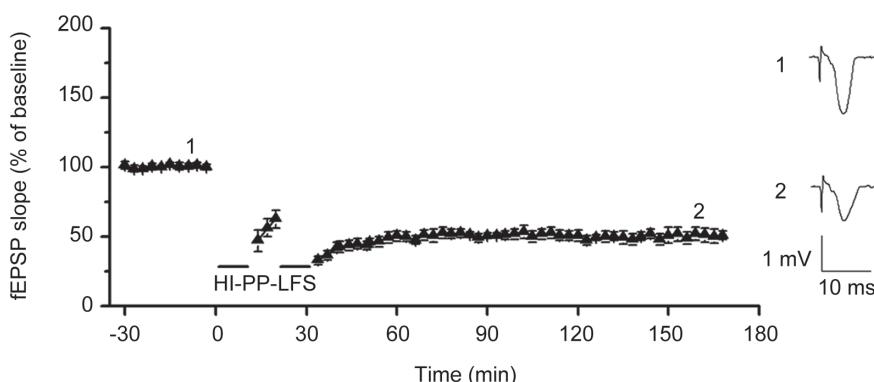


图 1. 高强度双脉冲低频刺激(HI-PP-LFS)可在海马 CA1 区诱导稳定的 LTD

Fig. 1. High-intensity paired-pulse low frequency stimulation (HI-PP-LFS) produced LTD in hippocampal CA1 area. Mean±SEM, $n=7$. The right inset shows the typical curves of fEPSP. 1, baseline; 2, after the induction of LTD.

LFS, 结果显示, 给予第二组 HI-PP-LFS 后 30 min、60 min、90 min 和 120 min 所测得 fEPSP 斜率, 均较前对照有显著的降低($P<0.0001, n=7$), 分别为前对照的(50.35±3.45)%、(50.75±2.10)%、(50.67±3.87)% 和(50.90±5.52)% (图 1)。该结果提示, HI-PP-LFS 可诱导出大鼠海马 CA1 区稳定的 LTD。

为了研究 HI-PP-LFS 能否诱导 L-LTP 的翻转, 在 LTP 诱导后 2 h 施加两组间隔 10 min 的 HI-PP-LFS。结果显示, HI-PP-LFS 可引起明显的 DP。给予第一组 HI-PP-LFS 后场电位短暂减小; 给予第二组 HI-PP-LFS 后, 场电位减小到接近前对照水平, 之后很快出现反应的增加, 但始终没有达到施加 HI-PP-LFS 之前的强化水平(图 2A)。fEPSP 斜率在施加第二组 HI-PP-LFS 后 5 min, 10 min 和 30 min 分别为前对照的(123.08±12.11)%,(185.67±16.04)% 和(197.96±14.70)%。虽然仍处于强化水平(与前

对照比较), 但仍低于翻转刺激前的强化水平($P<0.001, n=13$)。这一结果表明, HI-PP-LFS 可以诱导 DP, 但这种 DP 并不完全, 因而 L-LTP 仅部分翻转(61.79%±14.51%)。在本实验记录的时间内, 这种部分翻转至少维持了 30 min。

在 LTP 诱导前及翻转前、后检测 PPR (图 2B), 发现在 LTP 诱导前、后以及 LTP 翻转后, PPR 均大于 1, 表现出双脉冲易化(paired-pulse facilitation, PPF)。LTP 诱导前、后以及 LTP 翻转后的 PPR 按由小到大的次序排列为: LTP 诱导后 < LTP 翻转后 < LTP 诱导前, 两两之间的差异具有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$) (图 2B)。

2.2 LTP 翻转前后海马 CA1 区 GluR2 受体表达的变化

荧光显微镜下(激发波长 520 nm)观察发现, GluR2 在海马结构的各亚区广泛表达, 以 CA3 区的

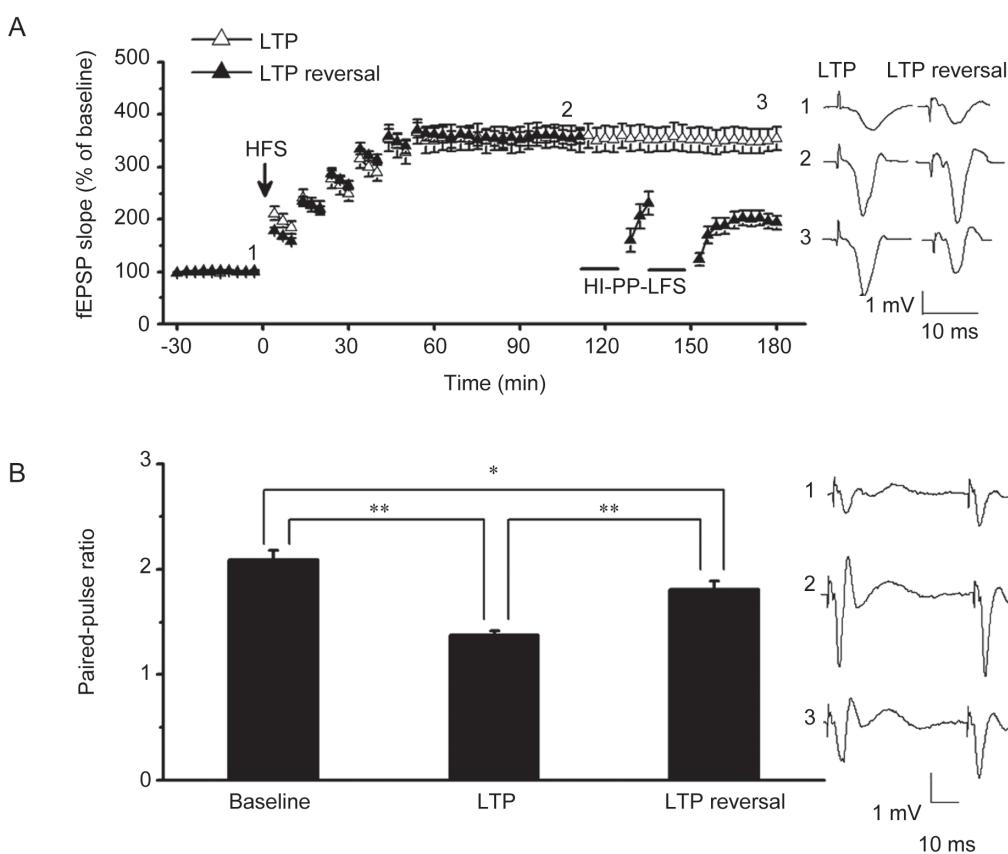


图 2. 高强度的双脉冲低频刺激(HI-PP-LFS)可部分翻转 L-LTP

Fig. 2. High-intensity paired-pulse low frequency stimulation (HI-PP-LFS) partially reversed L-LTP. A: Stable L-LTP was produced by the TBS protocol ($n=10$)。HI-PP-LFS was given at 2 h after the first TBS, and L-LTP was partially reversed ($n=13$)。Mean±SEM。The right inset shows the typical curves of fEPSP at three timepoints indicated as 1, 2, 3。B: The changes in paired-pulse ratio (PPR) before and after LTP induction, and as well after LTP reversal。Mean±SEM, $n=11$ 。** $P<0.001$, * $P<0.05$ 。The right inset shows the typical curves of fEPSP induced by paired pulse stimulation. 1, baseline; 2, after L-LTP induction; 3, after L-LTP reversal。

多形细胞层、锥体细胞层、腔隙层、齿状回的颗粒细胞层及门区内的中间神经元着色较深，呈亮红色。GluR2在CA1区的多形细胞层、锥体细胞层和腔隙层也有阳性表达。CA3区的阳性细胞胞体呈椭圆或圆形、突起长、染色强，阳性表达在突起、胞膜及近胞膜处的胞浆均有不均匀分布，而胞核及核周的胞浆未见着色。齿状回颗粒细胞排列紧密、体积较小，阳性表达主要在胞膜和突起。而在门区

的中间神经元，细胞少、胞体大、突起多，胞膜、胞浆及突起均可见阳性表达。CA1区的神经元胞体呈圆形，阳性结构主要分布在胞膜和突起(图3)。

由于电生理实验的L-LTP诱导和翻转均在CA1区进行，本研究重点观测了对照组、LTP组以及LTP翻转组CA1区的GluR2免疫荧光化学染色，结果发现各组之间的GluR2免疫阳性表达均无显著性差异(图4、表1, $P=0.55$)。

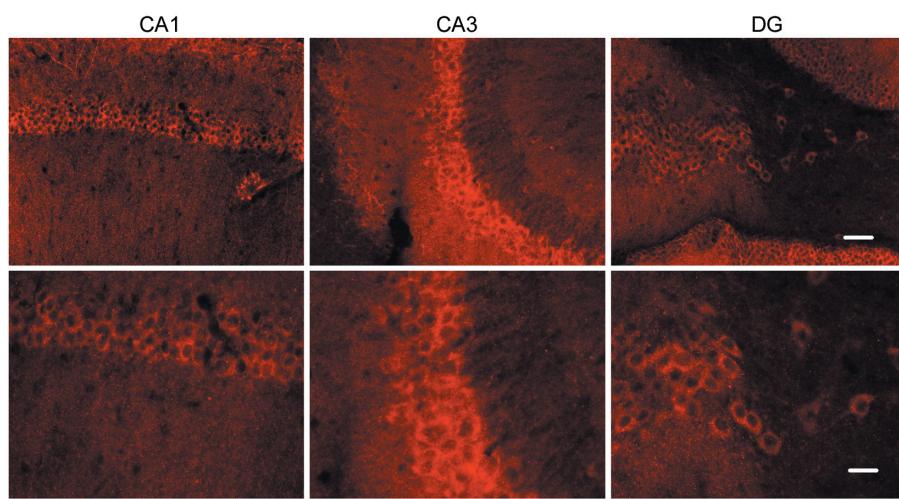


图 3. 对照组大鼠海马结构 CA1、CA3 和 DG 区 AMPAR/GluR2 的表达

Fig. 3. The expression of AMPAR/GluR2 in CA1, CA3 and DG areas of hippocampus in control group detected by immunofluorescence histochemistry. Scale bar for upper photos, 40 μm; Scale bar for lower photos, 50 μm.

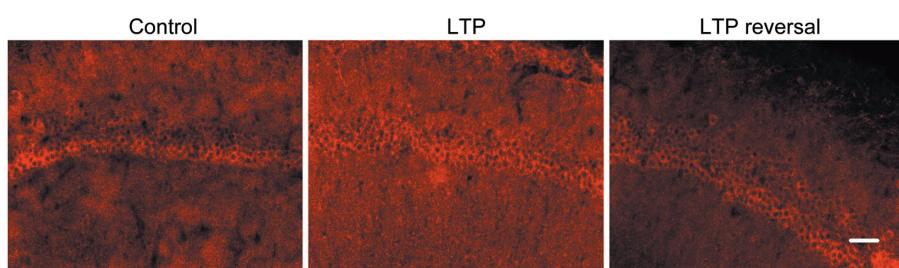


图 4. 对照组、LTP 和 LTP 翻转组大鼠海马结构 CA1 区 AMPAR/GluR2 的表达

Fig. 4. The expressions of AMPAR/GluR2 in hippocampal CA1 area in control, LTP and LTP reversal groups detected by immunofluorescence histochemistry. Scale bar, 40 μm.

表 1. LTP 翻转前后大鼠海马 CA1 区 AMPAR/GluR2 的光密度

Table 1. Fluorescence density of AMPAR/GluR2 subunit in CA1 area of hippocampus before and after LTP reversal

Group	Fluorescence density
Control	0.0709 ± 0.0141
LTP	0.0781 ± 0.0116
LTP reversal	0.0665 ± 0.0177

Mean±SEM, n=4.

3 讨论

3.1 LTP 翻转有突触前机制的参与

海马 LTP 具有关联性、突触特异性、协同性和持续性的特点，这些特点使得它成为备受人们关注的记忆储存的模型^[5]。虽然 LTP 具有持续性的特点，目前的一些研究表明，随后的神经元的活动可以翻转它。1976 年，Hesse 和 Teyler 首次报道了 DP

现象^[6]。研究表明, 施加翻转刺激的时间对 DP 非常重要, 只有当 LTP 诱导后 30 min 内给予翻转刺激才能有效诱导 LTP 翻转^[7, 8], 这个现象提出了时间窗的概念, 即施加在时间窗内的翻转刺激才能有效地引起 DP。本研究小组之前的研究表明, 在 LTP 诱导后 2 h, 给予两组间隔 10 min 的 HI-PP-LFS, 仅诱导出了 L-LTP 的部分翻转, 使 LTP 的幅度减小近一半。Zhou 和 Poo 认为, LTP 的翻转与增强的神经网络活动有关, 尤其是异突触对已强化突触的影响。虽然同突触和异突触的输入在 LTP 翻转的诱导中都有作用, 但异突触效应可能在其中起主要作用^[4]。

以 PPR 为指标的双脉冲现象表征一种短时程的可塑性, 如果 $PPR < 1$, 即称为双脉冲抑制(paired-pulse depression, PPD); 若 $PPR > 1$, 即为 PPF^[9]。研究表明 PPR 的变化伴随着突触递质释放概率的变化^[10]。PPR 降低伴随着递质释放的增加, 而 PPR 增加伴随着递质释放的减少^[11]。LTP 是一种突触传递效能的增加, 其机制既有突触前机制又有突触后机制。目前有较多的资料显示, LTP 形成后 PPR 的变化与释放概率的变化有关。LTP 形成后由于可释放递质与递质释放概率可能均增大, LTP 形成后给予双脉冲刺激, 两个刺激的反应均增大。初始 PPR 较大时, 即初始递质释放概率较小, 双脉冲刺激中第一个反应增大的幅度超过第二个反应, 结果是 PPR 降低。PPR 降低伴随着递质释放概率的增加。

本研究发现在 6 组 TBS 刺激参数诱导的 LTP 中, PPR 在 L-LTP 形成后降低, 而在 LTP 翻转后增加。说明 6 组 TBS 刺激诱导的 L-LTP 有突触前递质释放概率增大的机制参与。同时, 由于本研究室之前的研究表明 6 组 TBS 刺激诱导的 L-LTP 为 NMDARs 依赖性的^[3], 我们推测这可能是由于突触后释放的逆行信使作用于突触前导致突触前递质释放的增加^[11]。有很多的研究显示逆行信使如一氧化氮(NO)在 LTP 的诱导及维持中起着重要的作用^[12]。NMDARs 激活后, Ca^{2+} 进入突触后膜, 激活 NO 合酶, NO 合酶使精氨酸去氨基生成瓜氨酸并释放 NO。NO 从突触后向突触前扩散, 可通过 cGMP 依赖的信号转导机制增加神经递质的释放^[12]。LTP 翻转后, PPR 增加, 说明 LTP 的翻转有突触前递质释放概率减小机制的参与, 而其作用的具体机制目前还不清楚, 有待进一步研究。

3.2 AMPARs 在 LTP 中的作用

在成年动物的海马, 大多数 AMPARs 亚单位主要形成两种不同的组合方式, 即 GluR1/GluR2 和 GluR2/GluR3, 很少一部分是由 GluR1 同聚体或 GluR3 同聚体构成^[13]。因而本研究选用 GluR2 荧光抗体标记法, 以显示 AMPARs 在接受不同电刺激、形成不同形式的突触可塑性前后的变化。结果显示, LTP 饱和与翻转前后 GluR2 亚单位在海马结构各区的表达都没有变化。Shi 等采用双光子和膜片钳试验方法, 在培养的大鼠海马神经元, 给予 pairing protocol 刺激(突触后去极化至 -10 mV, 同时突触前给予 2 Hz、1.5 min 的持续刺激), 最初引起含有 GluR1 的 AMPARs 的净增加, 而在最终, 这些增加的含有 GluR1 的 AMPARs 将被含有 GluR2 的 AMPARs 所替换, 从而引起突触传递长时程的增强^[14]。Riedel 等人在大鼠空间训练及训练后的不同时段向海马灌注 AMPA/KA 受体阻断剂 LY326325, 发现 AMPARs 对信息编码形成长时记忆是必须的^[15]。另有在海马培养神经元上的研究显示, AMPARs 循环的基础速率很快, 即使在已形成大量突触的成熟的神经元, 细胞表面的 AMPARs 在 10 min 内也可以内化 10%~20%, 并且这种内化的速率可以因神经元的活动而加快^[16, 17]。这些研究均表明, 组成 AMPARs 的亚单位 GluR1/GluR2 经常处于动态的变化与循环中, 从而改变着 AMPARs 的功能状态, 影响着突触可塑性的强度和方向。本研究结果并没有显示出 AMPARs 亚单位更替与 LTP 的形成 / 翻转之间的内在联系。分析其主要原因, 是本研究方法未能区分开突触膜上的受体与突触周围、突触后膜和胞浆内受体, 因而不能观测到在没有受体总量改变的前提下, 受体在不同微小区域的分布变化。但本实验从另一个侧面证明, 无论长时间的测试刺激维持着正常突触传递或高频强直刺激引起 LTP, 或在 LTP 基础上施加高强度的低频刺激引起 LTP 的翻转, 对该突触的 AMPARs/GluR2 总量没有影响。该现象提示: LTP 的诱导、维持与翻转没有明显减缓 / 加快该受体亚单位的合成与分解速度。

参 考 文 献

- Abraham WC, Huggett A. Induction and reversal of long-term potentiation by repeated high-frequency stimulation in rat hippocampal slices. Hippocampus 1997; 7(2): 137-145.
- Huang CC, Hsu KS. Progress in understanding the factors regulating reversibility of long-term potentiation. Rev Neurosci 2001; 12(1): 51-68.

- 3 Zhang L, Meng K, Li YH, Han TZ. NR2A-containing NMDA receptors are required for L-LTP induction and depotentiation in CA1 region of hippocampal slices. *Eur J Neurosci* 2009; 29: 2137-2144.
- 4 Zhou Q, Poo MM. Reversal and consolidation of activity-induced synaptic modifications. *Trends Neurosci* 2004; 27(7): 378-383.
- 5 Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1993; 361(6407): 31-39.
- 6 Hesse GW, Teyler TJ. Reversible loss of hippocampal long term potentiation following electroconvulsive seizures. *Nature* 1976; 264(5586): 562-564.
- 7 Chen YL, Huang CC, Hsu KS. Time-dependent reversal of long-term potentiation by low-frequency stimulation at the hippocampal mossy fiber-CA3 synapses. *J Neurosci* 2001; 21(11): 3705-3714.
- 8 Kang-Park MH, Sarda MA, Jones KH, Moore SD, Shenolikar S, Clark S, Wilson WA. Protein phosphatases mediate depotentiation induced by high-intensity theta-burst stimulation. *J Neurophysiol* 2003; 89(2): 684-690.
- 9 Zucker RS, Regehr WG. Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol* 2002; 64: 355-405.
- 10 Chu Z, Hablitz JJ. GABA(B) receptor-mediated heterosynaptic depression of excitatory synaptic transmission in rat frontal neocortex. *Brain Res* 2003; 959(1): 39-49.
- 11 Saviane C, Savchenko LP, Raffaelli G, Voronin LL, Cherubini E. Frequency-dependent shift from paired-pulse facilitation to paired-pulse depression at unitary CA3-CA3 synapses in the rat hippocampus. *J Physiol* 2002; 544(Pt 2): 469-476.
- 12 Maffei A, Prestori F, Shibuki K, Rossi P, Taglietti V, D'Angelo E. NO enhances presynaptic currents during cerebellar mossy fiber-granule cell LTP. *J Neurophysiol* 2003; 90(4): 2478-2483.
- 13 Wenthold RJ, Petralia RS, Blahos JI, Niedzielski AS. Evidence for multiple AMPA receptor complexes in hippocampal CA1/CA2 neurons. *J Neurosci* 1996; 16(6): 1982-1989.
- 14 Shi S, Hayashi Y, Esteban JA, Malinow R. Subunit-specific rules governing AMPA receptor trafficking to synapses in hippocampal pyramidal neurons. *Cell* 2001; 105(3): 331-343.
- 15 Riedel G, Micheau J, Lam AG, Roloff EL, Martin SJ, Bridge H, de Hoz L, Poeschel B, McCulloch J, Morris RG. Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. *Nat Neurosci* 1999; 2(10): 898-905.
- 16 Lin JW, Ju W, Foster K, Lee SH, Ahmadian G, Wyszynski M, Wang YT, Sheng M. Distinct molecular mechanisms and divergent endocytotic pathways of AMPA receptor internalization. *Nat Neurosci* 2000; 3(12): 1282-1290.
- 17 Ehlers MD. Reinsertion or degradation of AMPA receptors determined by activity-dependent endocytic sorting. *Neuron* 2000; 28(2): 511-525.