

## WPŁYW MODYFIKACJI MACIERZY ZEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ NA PLASTYCZNOŚĆ SYNAPTYCZNĄ PROJEKCJI HIPOKAMPALNEJ WŁÓKNA MSZYSTE – CA3

Jedną z najważniejszych i najbardziej fascynujących właściwości mózgu jest zjawisko plastyczności synaptycznej, czyli zdolność modyfikowania siły synaps w odpowiedzi na zmianę aktywności sieci neuronalnej. Postuluje się, że plastyczność ta jest substratem procesów odpowiedzialnych za uczenie się i zapamiętywanie poprzez formowanie engramów pamięciowych w sieciach neuronalnych. Celem zaprezentowanych badań jest poznanie roli, jaką pełnią białka z rodziny metaloproteinaz modyfikujących macierz zewnątrzkomórkową (MMP) w procesach plastyczności synaptycznej. W niniejszej rozprawie zbadano i opisano wpływ proteolizy perysynaptycznej zależnej od MMP na indukcję i konsolidację długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (LTP) w hipokampie. Okazuje się, że w projekcjach CA3-CA1 oraz włókna mszyste – rejon CA3 (MF-CA3) o diametralnie różnej funkcji i morfologii ekspresja LTP zależy do aktywności proteazy MMP-9. Rezultat ten sugeruje, że udział proteazy MMP-9 w mechanizmach plastyczności synaptycznej ma charakter uniwersalny, pomimo różnic w mechanizmach indukcji i ekspresji LTP w poszczególnych projekcjach neuronalnych (Wiera i wsp., 2012). W ramach prowadzonych badań dowiedziono również, że LTP w projekcji MF-CA3 jest upośledzone w podobnym stopniu w sytuacji braku (myszy KO) oraz przy znacznym nadmiarze (transgeniczne szczury nadekspresjonujące MMP-9) aktywnej proteazy (Wiera i wsp., 2013). Równocześnie, w obecności egzogennej proteazy MMP-9 podanej na skrawek obserwowano stopniowe samoistne wzmocnienie synaps MF-CA3, które okładowało z rozmiarem indukowanego później LTP. Sugeruje to, iż do indukcji prawidłowego LTP w hipokampie, niezbędny jest właściwy i precyzyjnie zbilansowany poziom aktywności kluczowej proteazy MMP-9.

Prowadzone badania wykazały również, że spośród metaloproteinaz ekspresjonowanych w mózgu, oprócz MMP-9 również proteaza MMP-3 uczestniczy w molekularnych mechanizmach regulujących plastyczność synaptyczną. W skrawkach mózgowych myszy pozbawionych proteazy MMP-3 (KO) zarejestrowano upośledzenie fazy konsolidacji LTP. Ponadto stosując zymografię kazeinową *in situ* zaobserwowano aktywność głównie proteazy MMP-3 w neuropilu rejonu CA1. Pokazano również, że proteoliza perysynaptyczna zależna od proteazy MMP-3 reguluje długotrwałe wzmocnienie synaptyczne wpływając na funkcję napięciowozależnych kanałów wapniowych typu L lub aktywowanych

przez nie szlaków sygnałowych. Podsumowując, wyniki zawarte w niniejszej rozprawie rzucają nowe światło na zagadnienie roli proteolizy w procesach plastyczności synaptycznej, a tym samym i uczenia się oraz pamięci.

Gregor Wierq

## **IMPACT OF EXTRACELLULAR MATRIX MODIFICATIONS ON SYNAPTIC PLASTICITY IN MOSSY FIBER – CA3 HIPPOCAMPAL PROJECTION**

Metalloproteinases (MMPs) have been shown to play a crucial role in the synaptic plasticity and cognitive processes. The main goal of this thesis is to describe the role of specific MMP proteases in hippocampal synaptic plasticity. It has been demonstrated, that both, specific MMP-9 pharmacological blockade and genetic knock-out of this enzyme were shown to impair LTP consolidation in two hippocampal projections: mossy fiber (MF)-CA3 and CA3-CA1 which profoundly differ in LTP induction and expression sites and mechanisms. Next, it has been addressed how plasticity in MF-CA3 pathway correlates with activity and expression of MMP-9. Using *in situ* zymography it was shown that LTP induction is associated with increased gelatinases activity both in neuropil of CA3 field and cytoplasmic neuronal compartment. Using gel gelatin zymography, and immunofluorescent staining it was found that LTP induction in MF-CA3 pathway leads to *de novo* synthesis and activation of MMP-9. Additionally, it was checked how manipulations in endogenous MMP-9 affect LTP and to this end MMP-9 KO and overexpressing animal models were used. Interestingly, the maintenance of LTP induced in slices from knock-out mice and overexpressing rats was nearly abolished but in KO group, LTP could be rescued by administration of exogenous active MMP-9. This indicates that physiological LTP maintenance in MF-CA3 pathway requires fine-tuned MMP-9 activity.

It is known that long-term synaptic plasticity may involve different MMPs raising the question about their specific roles. One of main goals of this study was to address the functions of MMP-3 protease in synaptic plasticity in different hippocampal projections. Overall, presented here experimental evidences indicate that activity of the MMP-3 protease is necessary for NMDA receptor-independent LTP in area CA1 but not in area CA3 and suggest a divergence in the signaling cascades underlying LTP induction in these hippocampal subregions. Moreover, MMP-3 protein application induced a rapid autopotentiation of synaptic response in CA3-CA1 pathway. Altogether, presented thesis shows that MMP-9 plays a crucial role in consolidation of neuronal plasticity in the hippocampus. Additionally we presented strong evidence that MMP-3 protease is also involved in the hippocampal plasticity in L-type VDCC-dependent manner. In a broader context, presented results make a contribution to a comprehensive understanding of how all of the various extracellular proteases that affects synaptic plasticity or memory work together to regulate brain functions.

*Pegor Wierc*