

## Streszczenie

Neuroplastyczność (*lac. plaistikos* – tworzenie) jest jedną z najbardziej intrygujących właściwości mózgu zapewniającą zdolność do adaptacji, zmieniających się warunków środowiska sensorycznego, kompensacji oraz występowania wyższych procesów kognitywnych jakimi są uczenie się i pamięć.

Hipokamp to heterogenna struktura zlokalizowana w płacie skroniowym, która składa się z kilku regionów m.in. zakrętu zębatego, CA3, CA2, CA1 a każdy z nich pełni odmienne role w procesie formowania pamięci. Obszar CA1 jest głównie odpowiedzialny za kodowanie przestrzenne i składa się z neuronów piramidowych posiadających odpowiednio drzewka dendrytyczne bazalne (*Stratum oriens*, *St. oriens*), drzewka dendrytyczne apikalne (*St. radiatum*) oraz warstwę ciał komórkowych (*St. pyramidale*).

Do niedawna zakładano, że zmiany plastyczne związane z doświadczeniem, które leżą u podstaw procesów uczenia się i pamięci dotyczą tylko synapsy pobudzającej. Jednakże dzięki stosunkowo niedawnym badaniom nad transmisją hamującą stało się jasne, że również synapsy hamujące są plastyczne i zapewniają dodatkowy sposób modulowania sieci neuronalnej.

W hipokampie zmiany w procesie plastyczności transmisji pobudzającej związane są z aktywnością metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (*ang. matrix metalloproteinases*, MMP). MMP są szeroko rozpowszechnione w organizmie i wykazano, że biorą udział w wielu fizjologicznych i patologicznych procesach. W szczególności wpływają na procesy uczenia się i pamięci, ale również odgrywają poważną rolę w zaburzeniach neuropsychiatrycznych oraz neurodegeneracyjnych. Grupę tę stanowi ponad 20 endopeptydaz, które dokonują proteolizy składników macierzy zewnątrzkomórkowej, białek adhezyjnych, receptorów postsynaptycznych czy czynników wzrostowych. Pomimo bardzo intensywnych badań nadal jednak słabo poznana jest rola MMP-3 w długotrwałej plastyczności synaptycznej w przestrzeni synaptycznej oraz pozasynaptycznej. Celem niniejszej pracy była weryfikacja hipotezy zakładającej, że MMP-3 wspiera kształtowanie długotrwałej plastyczności synaptycznej (układu glutaminergicznego i GABAergicznego) oraz pobudliwości sieci neuronalnej w obszarze CA1 hipokampa myszy. W celu studiowania mechanizmów plastyczności synaptycznej wykorzystano komórkowy model długotrwałego wzmocnienia synaptycznego transmisji pobudzającej (*ang. long-term potentiation*, LTP) czy hamującej (*ang. inhibitory long-term potentiation*, iLTP) oraz zastosowano techniki elektrofizjologiczne m.in. rejestracja potencjałów polowych czy patch-clamp. Wyniki uzyskane z przeprowadzonych badań w

Patrycja Bndak

ramach rozprawy doktorskiej pod kierunkiem prof. J. Mozrzymasa i we współpracy z dr Tomaszem Wójtowiczem wskazują na kluczową rolę MMP-3 w procesie LTP mediowanego przez receptory NMDA ( $LTP_{NMDA}$ ) oraz hipokampalnej plastyczności typu E-S (*ang. EPSP-to spike plasticity*) w obszarze CA1. Ponadto odkryto, że plastyczność synaps formowanych w obszarze St. radiatum oraz St. oriens na tym samym neuronie piramidowym obszaru CA1 posiada odmienne ścieżki wewnątrz- oraz zewnątrzkomórkowej sygnalizacji molekularnej, które zależą m.in. od lokalizacji na drzewku dendrytycznym. Wykazano, że mechanizm  $LTP_{NMDA}$  synaps bazalnych jest niezależny od aktywności MMP w przeciwieństwie do synaps apikalnych. Dodatkowo stwierdzono, że w obszarze St. radiatum nowym mediatorem procesu  $LTP_{NMDA}$  jest receptor dla protez (PAR-1) czy integryna  $\alpha 5\beta 1$ . Kolejny etap badań dotyczył aspektu dopiero od niedawna odkrywanej plastyczności GABAergicznej. Udowodniono, że MMP-3 jest kluczowym białkiem uczestniczącym w mechanizmie molekularnym plastyczności transmisji hamującej. W ramach współpracy z laboratorium kierowanym przez A. Barberisa z Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, Department of Neuroscience and Brain Technologies badania procesu iLTP zostały poszerzone o model sparowanego patch clampu pomiędzy komórką piramidową oraz interneuronem zawierającym parwalbuminę PV+. Technika ta pozwoliła na ukierunkowanie badań w celu wyjaśnienia mechanizmów plastyczności hamującej zależnej od jednego typu interneuronu. Wykorzystano model chemicznej indukcji iLTP w hodowlach neuronalnych wykonanych ze zwierząt, które posiadają dodatkowy gen umożliwiający zidentyfikowanie interneuronów PV+. Stwierdzono, że zablokowanie aktywności proteolitycznej MMP-3 a nie MMP-9 upośledza plastyczność GABAergiczną indukowaną przez interneurony PV+.

Poznanie roli MMP w mechanizmie molekularnym zmian plastycznych synaps pobudzających oraz hamujących jest kluczowe dla lepszego zrozumienia wyższych funkcji kognitywnych oraz mechanizmu chorób.

21.11.2019r.

Patrycja Brodak

## Abstract

Neuroplasticity (from the Latin *plasticos* - creation) is one of the most intriguing properties of the brain that provides the ability to adapt to changes in the sensory environment by recruiting compensatory responses and higher cognitive processes, such as learning and memory.

The hippocampus is a heterogeneous structure that is located in the temporal lobe. It consists of several subregions, including the dentate gyrus, cornu Ammonis 1 (CA1), CA2, and CA3, each playing different roles in the process of memory formation. The CA1 area is mainly responsible for spatial coding and consists of a few layers of pyramidal neurons: basal dendritic trees (Stratum oriens, St. oriens), apical dendritic trees (St. radiatum), and cell bodies (St. pyramidale).

Until recently, experience-dependent plasticity was believed to underlie learning and memory processes only at excitatory synapses. However, inhibitory synapses also undergo plasticity and are able to modulate neuronal networks.

In the hippocampus, the plasticity of excitatory transmission is associated with the activity of matrix metalloproteinases (MMP). Matrix metalloproteinases are widely expressed in the whole organism and play important role in many physiological and pathological processes. They are involved in learning and memory processes and neuropsychiatric and neurodegenerative disorders. The MMP family comprises more than 20 endopeptidases that are able to cleave components of the extracellular matrix, cell adhesion molecules, postsynaptic receptors, and growth factors. Despite very intensive research, the role of MMP-3 in long-term synaptic plasticity is still poorly understood. The aim of the present study was to test the hypothesis that MMP-3 supports long-term synaptic plasticity (glutamnergic and GABAergic systems) and the excitability of neural networks in the CA1 region of the hippocampus. The role of MMP in long-term potentiation (LTP) and inhibitory long-term potentiation (iLTP) was studied using electrophysiology, including recordings of N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR)-mediated field potentials and

*Patryja Bnelak*

patch-clamp recordings to study inhibitory transmission. This research was conducted as part of a doctoral dissertation under the supervision of Prof. Jerzy Mozrzymas in cooperation with Dr Tomasz Wójtowicz. The results indicated that MMP-3 is a key molecular factor that supports excitatory postsynaptic potential-to-spike plasticity and NMDAR-mediated LTP ( $LTP_{NMDA}$ ). Additionally, plasticity at basal and apical synapses of the same pyramidal neuron exhibited different intra- and extracellular molecular signaling pathways that strongly depended on the spatial location of dendritic trees. In the area of basal dendritic trees,  $LTP_{NMDA}$  has been shown to occur independently of MMP activity, in contrast to apical synapses. Moreover, protease-activated receptor-1 (PAR-1) and integrin  $\alpha5\beta1$  were novel mediators of  $LTP_{NMDA}$  in the stratum radiatum. The next step in this study focused on much less studied GABAergic synaptic plasticity. MMP-3 supported the plasticity of inhibitory synaptic transmission. Next, in collaboration with Prof. Andrea Barberis (Department of Neuroscience and Brain Technologies, Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia), the iLTP process was investigated using a double patch-clamp configuration between pyramidal neurons and interneurons that expressed parvalbumin. This technique allowed the investigation of GABAergic plasticity that depended on one type of interneuron. The inhibition of MMP-3 but not MMP-9 activity impaired iLTP that was induced by PV-positive interneurons.

A thorough insight into the role of MMP in the molecular mechanism of excitatory and inhibitory synaptic plasticity may contribute to a better understanding of cognitive functions and mechanisms of diseases.

21.11.2019.

Patrycja Brzdek