

Rola metaloproteiny 3 w procesach neuroplastyczności na poziomie funkcjonalnym i strukturalnym hipokampa myszy

Streszczenie

Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs, ang. *matrix metalloproteinases*) należą do grupy enzymów, których aktywność zależy od jonu metalu, najczęściej cynku. Opisano ponad dwadzieścia MMPs i zaklasyfikowano je do sześciu grup w zależności od budowy czy swoistości substratowej. Enzymy te działają zarówno wewnątrz- jak i zewnątrzkomórkowo. MMPs występują w wielu tkankach i narządach organizmu pełniąc ważne funkcje w procesach fizjologicznych (m.in. angiogeneza, apoptoza), ale też w patogenezie wielu chorób (m.in. w procesach nowotworzenia, chorobach neurodegeneracyjnych). Prowadzone w ostatnich latach badania pokazały, że niektóre z MMPs występują również w mózgu (np. MMP-2, MMP-3, MMP-9) i pełnią kluczową rolę w zjawiskach neuroplastyczności, a w szczególności plastyczności synaptycznej będącej substratem procesów uczenia się i zapamiętywania. Strukturą zaangażowaną w uczenie się i pamięć deklaratywną jest hipokamp. Pełni on również ważne funkcje w procesach związanych z emocjami. Jednym z mechanizmów uruchamiania zmian plastycznych w neuronach jest proteoliza składników macierzy zewnątrzkomórkowej oraz białek adhezji komórkowej, przez m.in. MMPs. Cięcie białek sygnałowych aktywuje wewnątrzkomórkowe szlaki przekazywania sygnału, dzięki temu możliwe stają się zmiany na poziomie funkcjonalnym, jak również zmiany strukturalne synapsy.

Plastyczność synaptyczną można wywołać w skrawkach mózgowych czy hodowli neuronalnej poprzez elektryczną stymulację lub w sposób chemiczny podając agonistów receptorów, np. glutaminianu. Formami plastyczności, które dotychczas najlepiej zbadano i opisano są długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (LTP, ang. *long-term potentiation*) oraz długotrwałe osłabienie synaptyczne (LTD, ang. *long-term depression*) zachodzące w synapsach pobudzających hipokampa. Z kolei plastyczność synaps hamujących dopiero w ostatnich latach zaczyna być systematycznie badana. W literaturze opisano przykłady indukcji długotrwałego wzmocnienia synaptycznego w synapsach hamujących (iLTP, ang. *inhibitory long-term potentiation*) oraz długotrwałego osłabienia synaptycznego w synapsach hamujących (iTLD, ang. *inhibitory long-term depression*).

W kontekście neuroplastyczności najlepiej poznano rolę MMP-9, jednakże funkcje innych MMPs zbadano w niewielkim stopniu. Badania podjęte przeze mnie w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej są częścią dużego projektu badawczego realizowanego przez zespół Samodzielnej Pracowni Biofizyki Układu Nerwowego pod kierunkiem prof. Jerzego Mozrzymsa. Projekt ma na celu zbadanie roli MMP-3 w procesach neuroplastyczności. Pokazaliśmy, że MMP-3 jest niezbędna do indukcji LTP oraz iLTP. Moje badania skupiły się w pierwszej części na ocenie techniką Western blot poziomu ekspresji MMP-3 w hipokampie myszy w różnym czasie po wywołaniu LTP oraz iLTP. Okazuje się, że już 15 minut po indukcji LTP istotnie rośnie poziom proenzymu. Wzrasta także poziom aktywnej formy MMP-3. Zwiększony w porównaniu z próbą kontrolną poziom MMP-3 utrzymuje się w badanym oknie czasowym 60 minut. Sprawdziłam również, czy podobne zmiany w ekspresji tego białka zachodzą po wywołaniu iLTP. Wykazałam, że również po 15 minutach nastąpił istotny wzrost proMMP-3, co może świadczyć o zaangażowaniu tego enzymu zarówno w plastyczność synaps glutaminianergicznych, jak i GABA-ergicznych.

Ponadto zbadalam wpływ MMP-3 oraz MMP-9 na wywołanie LTD ścieżką zależną od receptorów *N*-metylo-D-asparagianu (NMDA) w projekcji CA3-CA1 hipokampa techniką pomiarów elektrofizjologicznych mierząc amplitudę i nachylenie potencjałów polowych. Okazuje się, że aktywność tych enzymów nie jest konieczna do indukcji i utrzymywania LTD w przeciwieństwie do LTP. Wynik ten jest o tyle ciekawy, że wskazuje na różną rolę MMPs w zależności od kierunku, w którym zachodzą zmiany plastyczne w synapsach hipokampa.

Badając rolę MMPs w zjawiskach plastyczności synaptycznej zauważono, że plastyczności funkcjonalnej zależnej od MMP-9 towarzyszą również zmiany morfologiczne kolców dendrytycznych. Natomiast niewiele wiadomo o roli MMP-3 w plastyczności strukturalnej komórek nerwowych. Opublikowane przez grupę prof. L. Moons badania pokazują znaczące różnice w morfologii neuronów kory wzrokowej myszy z delecją genu *mmp-3* (MMP-3^{-/-}) w porównaniu z myszami typu dzikiego (WT, ang. *wild type*). Niezwykle ciekawe było zatem zbadanie, czy takie różnice występują również w neuronach hipokampa, gdzie wykazano istotną rolę MMP-3 w procesach plastyczności synaptycznej. Kolejnym celem rozprawy doktorskiej była ocena wpływu ekspresji MMP-3 na architekturę komórek piramidowych regionu CA1 hipokampa myszy za pomocą barwienia neuronów metodą Golgiego. Zaskakująco okazuje się, że neurony myszy MMP-3^{-/-} nie różnią się pod względem morfologicznym od komórek piramidowych myszy WT w przeciwieństwie do opisanych

upřednio zmian w korze wzrokowej. Mo¿e to oznaczać, że rola MMP-3 w regulacji morfologii neuronów zależy od obszaru mózgowia.

Reasumując, niniejsza rozprawa doktorska prezentuje pierwsze doniesienia, iż plastyczności zarówno glutaminianergicznej jak i GABA-ergicznej towarzyszy zmiana poziomu ekspresji MMP-3 w hipokampie, jednakże, w przeciwieństwie do kory wzrokowej, delecja tego białka, nie wpływa na morfologię neuronów piramidowych.

Słowa kluczowe

metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej, hipokamp, plastyczność synaptyczna, długotrwałe wzmocnienie synaptyczne, długotrwałe osłabienie synaptyczne, barwienia metodą Golgiego

Finansowanie

Badania w ramach rozprawy doktorskiej były finansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki OPUS/2014/15/B/NZ4/01689.