

Streszczenie

Mechanizmy komórkowe związane z konsolidacją, wygaszaniem i upośledzeniem pamięci są od długiego czasu przedmiotem badań naukowych. Poznanie tych procesów jest kluczowe dla lepszego zrozumienia trwałej natury pamięci strachu oraz dla opracowania nowych terapii zaburzeń lękowych. Większość badań nad mechanizmami wygaszania pamięci strachu dotyczy wczesnej pamięci strachu (od kilku minut do kilku dni po warunkowaniu strachu). Jednocześnie, niewiele uwagi poświęcono do tej pory mechanizmom komórkowym leżącym u podłoża pamięci późnej (co najmniej kilka dni od warunkowania).

W niniejszej rozprawie przedstawiam wyniki badań dotyczących selektywnego upośledzenia wygaszania późnej pamięci strachu zależnej od kontekstu (otoczenia) u myszy, które wykazywały obniżony poziom autofosforylacji izoformy alfa kinazy zależnej od wapnia i kalmodyliny typu drugiego (α CaMKII) (T286A^{+/-}). W celu ustalenia obszarów mózgu zaangażowanych w ten proces, zastosowano analizę ekspresji białka c-Fos, które posłużyło jako wskaźnik neuroplastyczności, w 23 obszarach mózgu myszy. Obszary mózgu, w których zaobserwowano wyraźne różnice w aktywacji podczas wygaszania późnej pamięci strachu u myszy T286A^{+/-} i typu dzikiego (WT), zostały następnie poddane chemogenetycznemu hamowaniu aktywności za pomocą systemu DREADD (ang. *Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs*). Ponadto, przeprowadzono manipulacje aktywności projekcji neuronalnych pomiędzy jądrem łączącym wzgórze (RE) a jądrem przyśrodkowym przegrody (MS).

Uzyskane dane dowodzą, że zaburzona autofosforylacja α CaMKII u myszy T286A^{+/-} przyczynia się do upośledzenia wygaszania późnej, lecz nie wczesnej, pamięci strachu. Wzór ekspresji c-Fos w mózgu tych myszy podczas wygaszania późnej pamięci strachu różni się od wzorca u myszy WT. W szczególności, po treningu wygaszania pamięci późnej, zaobserwowano hiperaktywność RE, jądra przyśrodkowo-grzbietowego (MD) i środkowo-pośrodkowego (CM) wzgórza oraz pierwszorzędowej kory wzrokowej (V1) u myszy T286A^{+/-}.

Ponadto zaobserwowałem, że wygaszanie *późnej* pamięci strachu zależy od aktywności MS i RE. Chemogenetyczne zahamowanie tych struktur upośledza wygaszanie *późnej* pamięci strachu. Co ciekawe, zahamowanie RE w czasie wygaszania *wczesnej* pamięci przyspiesza wygaszanie, co ujawnia złożoną rolę tego obszaru mózgu w procesach nabywania i konsolidacji wygaszania pamięci strachu, zaś zahamowanie MS w tym samym punkcie czasowym nie wpływa na proces wygaszania. Ponadto, selektywne zahamowanie neuronów glutaminianergicznym w RE za pomocą wektorów wirusowych kodujących

DREADD pod promotorem α CaMKII wpływa na wygaszanie strachu w czasie sesji lecz nie ma wpływu na konsolidację pamięci wygaszania niezależnie od tego czy jest to pamięć wczesna czy późna. Dodatkowo, wykazałem, że chemogenetyczne zahamowanie projekcji z RE do MS (RE→MS) upośledza wygaszanie późnej, lecz nie wczesnej pamięci strachu.

Podsumowując, przeprowadzone przeze mnie doświadczenia wykazały udział α CaMKII w regulacji aktywności jąder wzgórza w czasie długotrwałej konsolidacji pamięci strachu. Ponadto wykazałem udział RE i MS, oraz projekcji RE→MS, w regulacji wygaszania późnej pamięci strachu.

Abstract

Cellular mechanisms associated with memory consolidation, extinction, and its impairment have been the subject of scientific research for a long time. This is particularly important due to their clinical significance in patients with emotional disorders such as post-traumatic stress disorder (PTSD), anxiety, and phobias. Understanding the neurological correlates of these processes is crucial for a better understanding of the enduring nature of fear memory and the development of new therapies for anxiety disorders in humans. Most studies on fear memory extinction mechanisms focus on recent memory (from a few hours to several days after fear conditioning). At the same time, few studies have focused on late memory (e.g., several weeks after conditioning), although it is certainly more important in the context of long-term emotional disorders. Hence, the neuronal basis of remote fear memory extinction remains mostly unknown.

In this dissertation, I present the results of studies on selective impairment of late context-dependent fear memory extinction in mice with impaired autophosphorylation of the alpha isoform of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (α CaMKII) (T286A^{+/-}). To determine the brain regions involved in this process, the expression of the c-Fos protein, which serves as an indicator of neuroplasticity, was examined in 23 brain regions of the mice. Brain regions showing distinct differences in activation during remote fear memory extinction in T286A^{+/-} mice compared to wild-type (WT) mice were then subjected to chemogenetic inhibition using the Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADD) system. Additionally, similar manipulations were performed at the level of neuronal projections between the nucleus reuniens (RE) and the medial septum (MS).

The obtained data demonstrate that reduced autophosphorylation of α CaMKII in T286A^{+/-} mice impairs late, but not early, fear memory extinction. The c-Fos expression pattern in the brain of these mice during extinction differs from the pattern in WT mice, suggesting differences in the processes of acquisition and consolidation of remote fear memory extinction. Specifically, after late memory extinction training, hyperactivity was observed in the RE, central-medial (CM) and medio-dorsal (MD) thalamic nuclei and the primary visual cortex (V1) in T286A^{+/-} mice.

Furthermore, I observed that remote fear memory extinction depends on the activity of the MS and RE. Chemogenetic inhibition of these structures impairs remote fear memory extinction. Interestingly, inhibiting the RE during recent memory extinction accelerates extinction, revealing the complex role of this brain region in the processes of acquisition and consolidation of fear memory extinction. In contrast, inhibiting the MS at the same time point

does not affect the extinction process. Additionally, selective inhibition of glutamatergic neurons in the RE using viral vectors encoding DREADD under the α CaMKII promoter affects fear extinction during the session but has no impact on the consolidation of extinction memory, regardless of whether it is recent or remote memory. Moreover, I demonstrated that chemogenetic inhibition of the RE→MS projection impairs late, but not recent fear memory extinction.

In summary, the experiments I conducted revealed the involvement of α CaMKII in the regulation of thalamic activity during long-term consolidation of fear memory. Additionally, I demonstrated the involvement of the RE and MS, as well as the RE→MS projection, in the regulation of remote fear memory extinction.