

## **ABSTRACT**

Neuronal plasticity, a process fundamental to memory formation manifests as changes in synaptic strength during encoding new information. Synapses undergo both structural and functional modifications, with dendritic spines—postsynaptic protrusions harbouring excitatory synapses—serving as primary sites for such remodelling. Long-term potentiation (LTP), a key form of plasticity, requires precise molecular coordination, consisting of well-characterized intracellular signalling cascades and less-understood extracellular events, particularly proteolysis.

This study investigates the role of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) in structural LTP (sLTP) using hippocampal organotypic slices from wild-type and genetically modified mice. MMP-9 activity was modulated through chemical inhibitors and gene knockouts, while its interplay with neurotrophic factor signalling was assessed by measuring activation of tropomyosin receptor kinase B (TrkB, the receptor for Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF) and Insulin-like Growth Factor 1 Receptor (IGF1R). Molecular biology techniques and bioinformatics approaches were employed to identify MMP-9 target proteins.

My results demonstrate that MMP-9 is rapidly released upon stimulation and plays a pivotal role in spine growth and receptor activation. Inhibition or genetic knockout of MMP-9 significantly reduced sLTP-induced spine enlargement and impaired TrkB activation, indicating that MMP-9-mediated extracellular cleavage of proBDNF to mature BDNF is critical for sustained TrkB signalling. Furthermore, MMP-9 activity was shown to be essential for IGF1R activation, mediated through the cleavage of insulin-like growth factor-binding proteins (IGFBPs), with IGFBP2 identified as a likely target. Immunolabelling confirmed the localization of IGFBP2 in dendritic spines, implicating its involvement in this mechanism.

In conclusion, this study identifies MMP-9 as a key regulator of synaptic plasticity, coordinating structural spine remodelling and functional signalling pathways through extracellular proteolysis. By facilitating BDNF/TrkB and IGF1/IGF1R signalling, MMP-9 bridges extracellular and intracellular mechanisms, shedding new light on the extracellular proteolysis modulating synaptic plasticity.

## STRESZCZENIE

Plastyczność neuronalna odgrywa kluczową rolę w procesie tworzenia pamięci, przejawiając się zmianami w sile synaptycznej podczas kodowania nowych informacji. Zarówno strukturalne, jak i funkcjonalne modyfikacje synaps są podstawą tego procesu, a kolce dendrytyczne, które są nośnikami synaps pobudzających, stanowią główne centra reorganizacji. Długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (LTP), będące jedną z klasycznych form plastyczności, wymaga precyzyjnej koordynacji procesów molekularnych, obejmujących dobrze poznane wewnątrzkomórkowe kaskady sygnalizacyjne oraz mniej zbadane procesy zewnątrzkomórkowe, w tym proteolizę.

W niniejszej pracy zbadano rolę metaloproteazy macierzowej 9 (MMP-9) w strukturalnym LTP (sLTP) z wykorzystaniem organotypowych hodowli hipokampalnych pochodzących od myszy typu dzikiego oraz genetycznie zmodyfikowanych. Aktywność MMP-9 była modulowana za pomocą inhibitorów chemicznych oraz nokautów genowych, a jej wpływ na sygnalizację czynników neurotroficznych został zbadany poprzez pomiar aktywacji receptorów: kinazy tropomiozynowej B (TrkB, receptora dla BDNF, czynnika neurotroficznego pochodzenia mózgowego) oraz receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF1R). W celu identyfikacji substratów MMP-9 zastosowano zaawansowane techniki biologii molekularnej oraz narzędzia bioinformatyczne.

Uzyskane wyniki wykazały, że MMP-9 w odpowiedzi na stymulację jest natychmiastowo uwalniana do przestrzeni zewnątrzkomórkowej, odgrywając kluczową rolę we wzroście kolców dendrytycznych oraz aktywacji receptorów. Zarówno blokowanie, jak i brak MMP-9 na poziomie białkowym znacząco osłabiały wzrost kolców dendrytycznych w odpowiedzi na stymulację sLTP oraz zmniejszyły aktywację TrkB. Wyniki sugerują, że zewnątrzkomórkowe cięcie proBDNF do dojrzałego BDNF przez MMP-9 jest niezbędne dla uzyskania trwałej aktywacji TrkB. Dodatkowo, aktywność MMP-9 okazała się kluczowa dla aktywacji IGF1R. W tym efekcie pośredniczą białka wiążące IGF (IGFBPs), najprawdopodobniej IGFBP2, który służy jako substrat dla MMP-9 umożliwiając uwolnienie IGF1. Immunolokalizacja potwierdziła obecność IGFBP2 w kolcach dendrytycznych, co sugeruje jego potencjalną rolę w tym mechanizmie.

Podsumowując, ta praca identyfikuje MMP-9 jako kluczowego regulatora plastyczności synaptycznej. MMP-9 koordynuje strukturalne zmiany kolców dendrytycznych, które zachodzą

poprzez zwiększanie dostępności czynników neurotroficznych. Zwiększając sygnalizację poprzez BDNF/TrkB i IGF1/IGF1R, MMP-9 łączy mechanizmy zewnątrz- i wewnątrzkomórkowe, rzucając nowe światło na funkcję zewnątrzkomórkowej proteolizy w plastyczności synaptycznej.