

Biologia molekularna uczenia się i pamięci

Prof. dr hab. Leszek Kaczmarek, Pracownia Neurobiologii Molekularnej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, Warszawa

Zrozumienie istoty procesów tworzenia i magazynowania pamięci stanowi od lat jedno z głównych wyzwań badań nad mózgiem. Jest to zagadnienie fascynujące. Pamięć przecież definiuje naszą osobowość, a zatem w gruncie rzeczy decyduje o naszym człowieczeństwie. Jednocześnie uważa się, że poznanie tego zjawiska to wkroczenie na drogę wyjaśnienia również i innych wyższych czynności intelektualnych, a wśród nich zrozumienia świadomości. Pamięć bowiem, w przeciwieństwie do innych wymienionych zjawisk, można stosunkowo łatwo badać doświadczalnie. Istnieją liczne testy pozwalające zmierzyć pamięć u zwierząt, a także i u człowieka. Ostatnie lata to wielki rozwój badań mózgu, w tym i badań nad procesami uczenia się i pamięci (w języku angielskim traktuje się te zjawisko zwykle łącznie, stosując zbitkę słowną - learning and memory). Przyczyna tego rozwoju kryje się niewątpliwie w ciągłym doskonaleniu metod badawczych.

Do połowy lat osiemdziesiątych, w badaniach nad mózgiem dominowały podejścia elektrofizjologiczne, neuroanatomiczne, behawioralne (badania nad zachowaniem) i neurochemiczne. Wówczas to w ten arsenał badawczy włączyła się biologia molekularna, rozumiana jako zestaw metod, pozwalających na manipulacje genami oraz jako dziedzina skupiona na przekazywaniu informacji wewnątrz komórki - odbieranie jej ze środowiska zewnętrznego, przenoszenie do jądra komórkowego i uruchamianie reakcji komórki na zewnętrzny sygnał.

Moja przygoda z neurobiologią zaczęła się właśnie w tym czasie, po stażu podoktorskim, kiedy to zajmowałem się rolą wybranych genów w cyklu komórkowym. W owym okresie okazało się, że aktywacji komórek do podziałów towarzyszy pobudzenie ekspresji wybranych genów (czyli pojawianie się w komórce większej ilości ich produktów: mRNA i białka). Następnie pokazano, że produkty tych genów odgrywają krytyczną rolę w omawianym zjawisku. (p. np. Kaczmarek i wsp., 1985a,b; Kaczmarek 1986). Porównanie wzorów ekspresji genów w cyklu komórkowym oraz w procesach różnicowania komórek skłoniło do zaproponowania hipotezy, że zmiany ekspresji genów mogą też odgrywać

krytyczną rolę w długotrwałych zmianach funkcjonowania komórek nerwowych mózgu w zjawiskach uczenia się i pamięci (Kaczmarek i Kaminska, 1989).

W tym miejscu warto zatem, w olbrzymim skrócie, przedstawić współczesne rozumienie organizacji śladów pamięciowych. Mózg stanowi sieć komórek nerwowych (neuronów), kontaktujących się za pomocą swoistych złączy, czyli synaps. Impuls elektryczny przebiegający przez neuron dociera do końca długiej wypustki zwanej aksonem i tam powoduje uwalnianie przekaźnika nerwowego. Ten zaś dociera (poprzez przestrzeń międzykomórkową) do białek ulokowanych na krótkich wypustkach (dendrytach) innych neuronów. Białka te - receptory przekaźnika, przekazują do wnętrza komórki nerwowej informację umożliwiającą jej pobudzenie. Każdy neuron połączony jest w ten sposób z olbrzymią liczbą (sięgającą 10 000!) innych komórek nerwowych. Siła tego połączenia jest swoista dla każdej pary neuronów i jest zapewne wyrazem zarówno ilości uwolnionego przekaźnika, jak też reaktywności białek receptorowych. Siła ta może ulegać zmianom w toku uczenia się, stanowiąc materialny podkład śladu pamięciowego. W pewnym uproszczeniu można powiedzieć, że ślad pamięciowy jest drogą, po której informacja przekazywana jest w sieci komórek nerwowych. W konsekwencji, pytanie o naturę pamięci sprowadza się do zrozumienia mechanizmu molekularnego odpowiedzialnego za modyfikacje siły połączeń synaptycznych. Oczywiście można oczekiwać, że zmiana ta zachodzi w obrębie synapsy. Nie można jednakże wykluczyć, że podłożem tej zmiany są procesy zachodzące również w jądrze komórkowym.

Stwierdzenie, że genom odgrywa istotną rolę w procesach uczenia się jest oczywiście truizmem. Tak jak truizmem jest podobne stwierdzenie w odniesieniu do funkcjonowania jakiegokolwiek komórki jądrzastej. Można się bowiem spodziewać, że jeśli geny byłyby zbędne dla czynności pewnych komórek, to podobnie jak dojrzałe krwinki czerwone ssaków, komórki takie byłyby pozbawione jądra i zawartych w nim genów. Można jednak sądzić, że genom odgrywa w tworzeniu śladów pamięciowych rolę jedynie bierną, służąc jako nośnik informacji o strukturze różnych rodzajów RNA i białek niezbędnych dla prawidłowego działania komórki nerwowej. Wiele badań wykazało zresztą taką właśnie funkcję genów. Na przykład, odkryto mutanty muszki owocowej cechujące się zaburzeniami uczenia się. Podobne mutanty myszy otrzymano również w laboratorium. Interesujące, że zarówno w przypadku muszki, jak i myszy, zmutowane geny kodowały bardzo ważne

białka, których rolą jest regulacja podstawowych procesów życiowych każdej w zasadzie komórki (były to głównie białka zaangażowane w wewnątrzkomórkowe przekaźnictwo informacji). Można się spodziewać, że brak takich białek dezorganizuje wiele różnych procesów komórkowych, w tym i tych stanowiących podłoże biochemii pamięci.

Od początku lat 60-tych sądzono jednak, że w toku uczenia się dochodzi do pobudzenia aktywności pewnych, zupełnie wówczas nieznanych, genów. Przemawiały za tym wyniki doświadczeń z inhibitorami syntezy białka i RNA. Okazało się, że podanie zwierzęciu tych substancji uniemożliwiało tworzenie długotrwałych (czyli trwających co najmniej przez kilka dni) śladów pamięciowych. Co więcej, tylko inhibitory podane w okresie treningu behawioralnego (czyli sesji uczenia się) miały taki wpływ. Wskazywało to na to, że w czasie uczenia się dochodzi do pobudzonej aktywności (ekspresji) pewnych genów, a w konsekwencji do zwiększonej syntezy nieznanych wówczas białek. Białka te są następnie niezbędne dla utworzenia długotrwałych śladów pamięci. Fakt, że traktowanie zwierząt tymi substancjami nie hamowało zdolności do zapamiętywania na kilka godzin świadczył, że omawiane inhibitory nie wywierały swego wpływu poprzez blokowanie zdolności zwierzęcia do percepcji bodźców, motywacji do wykonania zadania, czy też nie wykazywały innego nieswoistego działania.

W drugiej połowie lat 80-tych podjęto pierwsze próby zbadania, czy ekspresja (mierzona poziomem swoistego mRNA) określonych genów może się zmieniać w toku uczenia się. Wybrano modele uczenia się wykorzystujące testy oparte o obronne odruchy warunkowe. W naszych pracach, rozpoczętych wspólnie z zespołem prof. H. Matthiesa z Magdeburga, a kontynuowanych we współpracy z zespołem prof. K. Zielinskiego w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie, analizowaliśmy wpływ nabywania tzw. dwukierunkowej reakcji unikania na ekspresję genów. Eksperyment przeprowadzany był w aparacie zwanym klatką wahadłową. Składa się ona z dwóch identycznych części. W każdej podłoga zbudowana jest z metalowych prętów, przez które można dostarczyć łagodny bodziec bólowy (prąd elektryczny o natężeniu ok. 1 mA), w każdej jest także źródło światła i dźwięku. Zwierzę jest umieszczone np. w lewej części. W pewnym momencie gaśnie w niej światło, co stanowi sygnał, że w ciągu pięciu sekund w tej części klatki zostanie podany prąd. Szczur ma zatem pięć sekund na przebiegnięcie do części prawej. Jeśli tego nie zrobi, jest karany bodźcem bólowym. Jeśli zaś reakcję

wykona poprawnie, to bodźca bólowego nie otrzymuje. Może zatem unikać bólu i dlatego taką procedurę nazywa się nabywaniem reakcji unikania.

Stwierdziliśmy, że pojedyncza sesja treningowa składająca się z 50 prób i trwająca około 25 minut powoduje wzmożoną aktywność genu *c-fos* oraz genu *zif268* w mózgu szczura (Kaczmarek i Nikolajew, 1990; Nikolaev i wsp., 1992a; Kaczmarek, 1993). W kolejnych doświadczeniach stwierdziliśmy, iż samo wykonanie już wyuczonej reakcji unikania przez zwierzęta już nauczone, nie wywołuje podwyższonej aktywności genu (Nikolaev i wsp., 1992b). Sądymy zatem, że to właśnie proces uczenia się jest odpowiedzialny za obserwowane zjawisko. Warto tu dodać, że produkt genu *c-fos*, czyli białko c-Fos stanowi składnik czynnika transkrypcyjnego (zwanego AP-1) - kompleksu białkowego zdolnego do regulacji ekspresji wielu genów. Podobną rolę odgrywa i białko Zif268. Zarówno my, jak i inni badacze potwierdzili te obserwacje w następujących eksperymentach, wykazując wzmożoną w konsekwencji treningu ekspresję również i innych czynników transkrypcyjnych.

Co z tego wynika? Po pierwsze to, że istnieją określone geny, których aktywność wzrasta w czasie tworzenia śladów pamięciowych. Już to pozwala zapewne nazwać je "genami pamięci". Ale oczywiście to trochę mało. Chciałoby się, aby geny bardziej zasługiwały na takie określenie, np. poprzez udział ich produktów białkowych w samych procesach uczenia się. Niestety dowodów takiego udziału jeszcze nie ma. Niemniej warto zwrócić uwagę na białka kodowane przez te geny. Jak wspomniano, są to czynniki transkrypcyjne, czyli regulatory aktywności genów. Z faktu, że ich pobudzenie towarzyszy uczeniu się można sądzić, co zresztą znajduje już stopniowe potwierdzenie, że muszą istnieć inne geny regulowane przez te czynniki transkrypcyjne. Wydaje się, że kodują one białka kontrolujące siłę połączeń między komórkami nerwowymi. Warto tu podkreślić, że w takim rozumieniu, nie ma miejsca na pojedyncze białka, czy cząsteczki kwasów nukleinowych, które zawierałyby w sobie ślady pamięciowe. Zwiększenie ilości białka to tylko pierwszy etap w tworzeniu śladu pamięci. Bardzo ważne jest również właściwe umiejscowienie tego białka w komórce nerwowej, np. w określonych synapsach. Rodzi się zatem pytanie o zdolność neuronów do zapewnienia tak specyficznej lokalizacji wybranych mRNA lub białek. Ostatnie badania to przełom w tej dziedzinie. Okazuje się, że istnieją mechanizmy bardzo swobodnego transportu i umiejscowienia wręcz w wybranych synapsach

(po stronie postsynaptycznej, czyli w określonych końcówkach dendrytów) -- zarówno określonych białek, jak i mRNA, które ulega tutaj lokalnej translacji. Zatem, dopiero umiejscowienie jakichkolwiek biochemicznych nośników informacji w ściśle określonym miejscu sieci nerwowej ma sens dla tworzenia śladów pamięciowych.

W badaniach prowadzonych w ciągu ostatnich kilku lat podejmowaliśmy kilka z powyżej zasygnalizowanych wątków. Po pierwsze, staraliśmy się scharakteryzować wzory ekspresji białek czynników transkrypcyjnych aktywowanych w trakcie uczenia się, a także w ich modelowych sytuacjach, np. stymulacji czuciowej, aktywującej korę mózgową. Skupiliśmy się zwłaszcza nad c-Fos i Zif268. Przeprowadziliśmy w tym zakresie wiele doświadczeń, opisanych w naszych publikacjach eksperymentalnych, a także dokonując bardzo solidnej analizy całego dostępnego piśmiennictwa, co znalazło wyraz w pracach przeglądowych (Filipkowski i wsp., 2000; 2001; Frankland i wsp., 2004; Kaczmarek, 2000; Kaczmarek, 2002; Knapska i Kaczmarek, 2005; Radwanska i wsp., 2002; Savonenko i wsp., 2003). Konkluzja tych badań jest następująca - ekspresja (aktywność) c-Fos ściśle koreluje z nabywaniem nowej informacji i jej zapamiętywaniem. Natomiast obecność białka Zif268 w komórkach nerwowych świadczy o ich pobudzeniu czynnościowym, a nie oznacza, że będą one podlegały zmianom plastycznym (m.in. będącym podstawą uczenia się).

Rozwijaliśmy także kolejne modele badawcze, pozwalające na modelowanie zjawisk uczenia się. Szczególnie ciekawe okazały się doświadczenia nad zachowaniami seksualnymi szczurów, w których określiliśmy, jakie elementy nabywania reakcji kopulacyjnej mają charakter uczenia się (Bialy i wsp., 2000). Opracowaliśmy także warunki uzyskiwania długotrwałego wzmocnienia synaptycznego w skrawkach ciała migdałowatego *in vitro* (Okulski i wsp., 2002). Zwróciła też naszą uwagę hipoteza, że podobne podłoże plastyczne, z udziałem badanych przez nas genów, mogą mieć także procesy uzależnienia, w tym i od alkoholu etylowego. We współpracy z kolegami z zespołu prof. W. Kostowskiego oraz prof. R. Przewłockiego rozpoczęliśmy badania tego zagadnienia (Bienkowski i wsp., 2004; Korkosz i wsp., 2004).

Kolejny bardzo ważny nurt naszych prac w ostatnich latach to próba stworzenia modeli badawczych, pozwalających na manipulację zjawiska ekspresji wybranych genów w mózgu. Przeszliśmy tutaj prawdziwie cierniową drogę (stosując tzw. antysensowne

oligonukleotydy, wektory adeno- i lentiwirusowe) dochodząc do transgenicznych szczurów, których technologię otrzymywania opanowaliśmy niedawno i staramy się zastosować do naszych celów badawczych (Jaworski, 2001; Jaworski i wsp., 2000, 2003; Konopka i wsp., 2005).

Szukaliśmy także innych niż wymienione, czynników transkrypcyjnych, potencjalnie zaangażowanych w procesy zapamiętywania. Dużo uwagi poświęciliśmy receptorowi estrogenowemu beta (ER β). Zainteresowania te wyniknęły z uprzednich doniesień innych badaczy o obfitej obecności tego białka w rejonach mózgu zaangażowanych w procesy poznawcze oraz zdolności do oddziaływania z AP-1. Skupiliśmy się w naszych pracach na hipokampie i, ku naszemu wielkiemu zaskoczeniu, wykazaliśmy, że ER β jest tu obecny jedynie w cytopazmie komórek nerwowych, co wyklucza jego udział w bezpośredniej kontroli genów (Kalita, 2004; Kalita i wsp., 2005; Lewandowski i wsp., 2002; Szymczak, 2005).

Sz szczególnie ciekawe wyniki uzyskaliśmy w badaniach nad układem enzymatycznym białek, zdolnych do modyfikacji macierzy zewnątrzkomórkowej (extracellular matrix, ECM). W ostatnich latach coraz liczniejsze są dowody na kontrolę siły połączeń synaptycznych przez otaczającą macierz białek pozakomórkowych. W tym kontekście pojawia się pytanie, jakie czynniki mogą kontrolować z kolei skład i strukturę tej macierzy. Oczywista wydaje się tu hipoteza o udziale specyficznych proteaz, zdolnych do rozkładu określonych składników ECM (Dzwonek i wsp., 2004; Kaczmarek i wsp., 2002). Kilka lat temu wykazaliśmy, że tkankowy inhibitor metaloproteaz (TIMP-1) jest regulowany w komórkach nerwowych hipokampa na poziomie ekspresji genu przez AP-1 (Jaworski i wsp., 1999). Ta obserwacja skłoniła nas do badań regulowanych przez TIMP-1 metaloproteaz macierzy zewnątrzkomórkowej (matrix metalloproteinases, MMP). Odkryliśmy, że jedna z nich, MMP-9 jest obecna w komórkach nerwowych hipokampa i jej zawartość jest regulowana przez czynność komórek nerwowych. Stosując model podawania kwasu kainowego zwierzętom, w którym można uzyskać informacje o potencjalnym udziale danego genu w plastyczności neuronalnej (Zagulska-Szymczak, 2001), stwierdziliśmy, że MMP-9 może taką rolę odgrywać (Szklarczyk i wsp., 2002; Kaczmarek i wsp., 2002). Co więcej, dokonaliśmy bardzo zaskakującego odkrycia, że pobudzenie czynnościowe (bioelektryczne) neuronów hipokampa prowadzi do translokacji mRNA MMP-9 do synaps, w okolice postsynaptyczne.

Obecnie kończymy serię badań nad MMP-9, jego lokalizacją na poziomie mRNA czy białka. Badamy jego aktywność enzymatyczną oraz udział MMP-9 w procesach uczenia się i plastyczności neuronalnej. Uzyskanie wyniki ewidentnie wskazują, że MMP-9 odgrywa wielką rolę w tych procesach.

Cytowane publikacje:

Bialy M., Rydz M., **Kaczmarek L.**, Precontact 50-kHz vocalizations in male rats during acquisition of sexual experience. *Behav. Neurosci.*, 114: 983-990, 2000.

Bienkowski P., Rogowski A., Korkosz A., Mierzejewski P., Radwanska K., **Kaczmarek L.**, Bogucka-Bonikowska A., Kostowski W., Time-dependent changes in alcohol-seeking behaviour during abstinence *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 14: 355-360, 2004.

Dzwonek J., Rylski M. **Kaczmarek L.**, Matrix metalloproteinases (MMPs) and their endogenous inhibitors (TIMPs) in neuronal physiology of the adult brain. *FEBS Lett.*, 567: 129-135, 2004.

Filipkowski R.K., Rydz M., Berdel B., Morys J, **Kaczmarek L.** Tactile Experience Induces c-Fos Expression in Rat Barrel Cortex. *Learn Memory*, 7: 116-122, 2000.

Filipkowski R.K., Rydz M., **Kaczmarek L.**, Expression of c-Fos, Fos B, Jun B, and Zif268 transcription factor proteins in rat barrel cortex following apomorphine-evoked whisking behavior. *Neuroscience*, 106: 679-688, 2001.

Frankland P.W., Bontempi B., Talton L.E., **Kaczmarek L.**, Silva A.J. The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science*, 304: 881-883, 2004.

Jaworski J., Udział czynnika transkrypcyjnego ICER w śmierci komórek nerwowych w hodowli. *Rozprawa doktorska*, IBD im. M. Nenckiego PAN, Warszawa, 2001.

Jaworski J., Biedermann I.W., Lapinska J., Szklarczyk A., Figiel I, Konopka D., Nowicka D., Filipkowski R.K., Hetman M., Kowalczyk A., **Kaczmarek L.**, Neuronal excitation-driven and AP-1-dependent activation of *timp-1* gene expression in rodent hippocampus. *J. Biol. Chem.*, 274: 28106-28112, 1999.

Jaworski J., Figiel I., Proszynski T., **Kaczmarek L.**, Efficient expression of tetracycline-responsive gene following transfection of dentate gyrus neurons in vitro. *J. Neurosci. Res.*, 60: 754-760, 2000.

Jaworski J., Mioduszewska B., Sanchez-Capelo A., Figiel I., Habas A. Gozdz A., Proszynski T. Hetman M., Mallet J., **Kaczmarek L.** Inducible cAMP Early Repressor (ICER), an endogenous antagonist of cAMP responsive element binding protein (CREB) evokes neuronal apoptosis in vitro. *J. Neurosci*, 23: 4519-4526, 2003.

Kaczmarek L., Hyland J.K., Watt R., Rosenberg M., Baserga R., Microinjected c-myc as a competence factor. *Science*, 228: 1313- 1315, 1985.

Kaczmarek L., Calabretta B., Baserga R., Expression of cell cycle dependent genes in phytohemagglutinin stimulated human lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 5375-5379, 1985.

Kaczmarek L., Protooncogene expression during the cell cycle. *Lab. Invest.*, 54: 365-377, 1986.

- Kaczmarek L.**, Molecular biology of vertebrate learning: is c-fos a new beginning? *J. Neurosci. Res.*, 34: 377-381, 1993.
- Kaczmarek L.** Gene expression in learning processes, *Acta Neurobiol. Exp.*, 60: 419-424, 2000.
- Kaczmarek L.**, c-Fos in learning: Beyond the mapping of neuronal activity. W: **Handbook of Chemical Neuroanatomy**, vol. 19: Immediate early genes and inducible transcription factors in mapping of the central nervous system function and dysfunction. Kaczmarek L., Robertson H.A. (red.). Elsevier, Amsterdam, Boston, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, 2002, str 189-216.
- Kaczmarek L.**, Lapinska-Dzwonek J., Szymczak S., Matrix metalloproteinases in the adult brain physiology: a link between c-Fos, AP-1 and remodeling of neuronal connections? *EMBO J.*, 21: 6643-6648, 2002.
- Kaczmarek L.**, Kaminska B., Molecular biology of cell activation. *Exp. Cell Res.*, 183: 24-35, 1989.
- Kaczmarek L.**, Nikolajew E., c-fos protooncogene expression and neuronal plasticity. *Acta Neurobiol. Exp.*, 50: 173-179, 1990.
- Knapska E., **Kaczmarek L.**, A gene for neuronal plasticity in the mammalian brain: Zif268/Egr-1/NGFI-A/Krox-24/TIS8/ZENK? *Prog. Neurobiol.*, 74: 183-211, 2004.
- Kalita K. Udział receptora estrogenowego beta (ER β) w procesach plastycznych zachodzących w hipokampie pod wpływem naturalnie zmieniającego się poziomu estradiolu *Rozprawa doktorska* IBD im. M. Nenckiego PAN, Warszawa, 2004
- Kalita K., Szymczak S., **Kaczmarek L.** Non-nuclear estrogen receptor beta and alpha in the hippocampus of male and female rat. *Hippocampus*, w druku.
- Konopka W., Duniec K., Mioduszevska B., Proszynski T., Jaworski J., **Kaczmarek L.**, hCMV and Tet promoters for the inducible gene expression in rat neurons in vitro and in vivo. *Neurobiol. Dis.*, w druku.
- Korkosz A., Kolomska P., Kowalska K., Rogowski A., Radwanska K., **Kaczmarek L.**, Mierzejewski P., Scinska A., Kostowski W., Bienkowski P., Dissociation of ethanol and saccharin preference in *fosB* knockout mice *Physiol. Behav.*, 82: 391-395, 2004.
- Lewandowski S., Kalita K., **Kaczmarek L.**, Estrogen receptor beta. Potential functional significance of a variety of mRNA isoforms. *FEBS Lett.*, 524: 1-5, 2002.
- Nikolaev E., Werka T., **Kaczmarek L.** c-fos protooncogene expression in rat brain after long term training of two-way active avoidance reaction. *Behav. Brain Res.*, 48: 91-94, 1992.
- Nikolaev E., Kaminska B., Tischmeyer W., M., Matthies H., **Kaczmarek L.** Induction of expression of genes encoding transcription factors in rat brain elicited by behavioral training. *Brain Res. Bull.*, 28: 479-484, 1992.

- Okulski P., Hess G., **Kaczmarek L.**, Anisomycin treatment paradigm affects duration of LTP in the slices of amygdala, *Neuroscience*, 114: 1-5, 2002.
- Radwanska K., Nikolaev E., Knapska E., **Kaczmarek L.** Differential response of two subdivisions of lateral amygdala to aversive conditioning as revealed by c-Fos and P-ERK mapping. *NeuroReport*, 13: 2241-2246, 2002.
- Rylski M., **Kaczmarek L.**, AP-1 targets in the brain, *Front. Biosci*, 9: 8-23, 2004.
- Savonenko, A., Werka, T., Nikolaev, E., Zieliński, K., **Kaczmarek, L.** Complex effects of NMDA receptor antagonist APV in basolateral of amygdala on acquisition of two-way active avoidance reeaction and long-term fear memory. *Learn. Mem.*, 10: 293-303, 2003..
- Szklarczyk A., Lapinska J., Rylski M., McKay R.D.G., **Kaczmarek L.** Matrix metalloproteinase -9 undergoes expression and activation during dendritic remodeling in adult hippocampus. *J. Neurosci.*, 22: 920-930, 2002.
- Szymczak S., Estrogen receptor beta in rat hippocampus following kainic acid-induced neuronal activation and its comparison with estrogen receptor alpha, in resting and activated brain. *Rozprawa doktorska*, IBD im. M. Nenckiego PAN, Warszawa, 2005.
- Zagulska-Szymczak, S., Filipkowski, R., **Kaczmarek, L.** Kainate-induced genes in the hippocampus: lessons from expression patterns. *Neurochem. Int.* 38: 485 -501, 2001.