

## Abstrakt

GABA a glycin představují nejvýznamnější inhibiční přenašeče v CNS. Svůj vliv uplatňují prostřednictvím ionotropních a metabotropních receptorů, které tvoří oligomerní komplexy v plazmatické membráně neuronálních buněk. Farmakologické vlastnosti, distribuce a tím i funkce GABA a glycinových receptorů závisí na jejich podjednotkovém složení. Cílem předkládané práce bylo nalézt podjednotková složení a fyziologickou úlohu ionotropních glycinových a metabotropních GABA<sub>B</sub> receptorů na neuronech mediálního jádra trapézovitého tělesa, MNTB. Toto jádro je součástí sluchové dráhy v mozgovém kmeni savců a vyznačuje se dobře definovanými excitačními a inhibičními vstupy. Excitační vlákna tvoří v MNTB obří glutamatergní nervová zakončení, tzv. Heldovy kalichy, zatímco inhibiční vlákna končí jako drobné GABA/glycinergní butony. Oba typy aferentních vláken inervují somatodentritické části hlavních neuronů MNTB a toto jádro tak představuje vhodný modelový systém pro studium molekulárních a buněčných mechanismů interakcí mezi synaptickou excitací a inhibicí.

Naše pokusy jsme provedli s použitím elektrofyziologických a imunohistochemických metod. Pro snímání membránových proudů a potenciálů neuronů v živých řezech MNTB potkana nebo myši jsme používali techniku terčíkového zámku. Zvukem vyvolanou aktivitu neuronů v MNTB myši jsme snímali in vivo juxtacelulárně technikou tzv. volného terčíku. Lokalizaci receptorů v nativní tkáni potkanů nebo myši jsme pak sledovali pomocí značení fluorescenčními protilátkami a konfokální mikroskopie.

Zjistili jsme, že glycinové receptory jsou v MNTB zastoupeny dvěma funkčně odlišnými populacemi. Presynaptické receptory jsou na povrchu Heldových kalichů volně rozptýleny jako homomery podjednotek  $\alpha 1$  a vyvolávají postupnou potenciaci intenzity glutamatergního přenosu. Naopak postsynaptické receptory tvoří na tělech a dendritech hlavních neuronů shluky  $\alpha 1\beta$  heteromerních komplexů a zprostředkují rychlou a fázickou postsynaptickou inhibici. Naše výsledky tak ukázaly, že cílená exprese podjednotky  $\beta$  ve specifických buněčných oddílech vede k segregaci podtypů glycinových receptorů zapojených v různých mechanismech modulace síly přenosu na synapsi centrálního typu. Dále jsme zjistili, že přirozená kochleární aktivita hraje důležitou úlohu při spouštění změn v typu inhibičního neuropřenašeče a v expresi pre- a postsynaptických inhibičních receptorů v MNTB během časného postnatálního vývoje.

Druhá část pokusů byla zaměřena na mechanismy účinku pre- a postsynaptických GABA<sub>B</sub> receptorů na neuronech MNTB. Podařilo se nám prokázat, že GABA<sub>B</sub> exprimované na Heldových kališích kontrolují sekreci glutamátu při spontánní a zvukem vyvolané aktivitě neuronů MNTB dospělé myši. Zároveň jsme vyloučili tonickou aktivaci presynaptických GABA<sub>B</sub> zbytkovou koncentrací

endogenního agonisty jako dříve uvažovanou příčinu nízké pravděpodobnosti uvolňování glutamátergních váčků z Heldova kalichu. Postsynaptické GABA<sub>B</sub> receptory na hlavních neuronech MNTB regulují aktivitu napětím-řízených Ca<sup>2+</sup> kanálů typu N a P/Q. To má za následek inhibici střední posthyperpolarizační fáze postsynaptických akčních potenciálů, zprostředkované otevřením Ca<sup>2+</sup> aktivovaných SK kanálů. Tento GABA<sub>B</sub> závislý mechanismus vede ke snadnějšímu vyvolávání akčních potenciálů opakujících s vysokou frekvencí. Postsynaptické GABA<sub>B</sub> receptory, které jsou všeobecně považovány za jedny z nejvýznamnějších regulátorů neuronální excitability, tak v MNTB savců plní specifickou funkci zvyšováním spolehlivosti excitačního synaptického přenosu.