

1. SOUHRN

Difúze neuroaktivních látek v extracelulárním prostoru (ECP) je základním mechanismem extrasynaptického přenosu. Rychlost extracelulární difúze je určena difúzními parametry ECP, které se výrazně mění během stavů, spojených se změnami objemu buněk. V naší práci jsme porovnávali změny difúzních parametrů ECP v průběhu akutního zvýšení objemu buněk *in vivo* v modelech pilokarpinem vyvolaného status epilepticus (SE) a během terminální ischemie/anoxie. Úlohu aquaporinového kanálu AQP4 v mechanismech změn buněčného objemu jsme studovali pomocí aplikace hypotonického roztoku nebo roztoku se zvýšenou koncentrací K^+ na řezech geneticky modifikovaných myši. Difúzní parametry ECP, t.j. objemová frakce α (α = objem ECS/celkový objem tkáně), tortuozita λ (λ^2 = aparentní difúzní koeficient/difúzní koeficient ve volném médiu) a nespecifický uptake (k'), byly stanoveny iontoforetickou metodou v reálném čase („real-time iontophoretic method“ – RTI). RTI představovala hlavní použitou metodu v mé diplomové práci. Změny extracelulární koncentrace K^+ ($[K^+]_e$) byly měřeny pomocí iontově-selektivních mikroelektrod. Apparentní difúzní koeficient vody (ADC_w) byl stanoven difúzní váženou MRI.

V obou použitých modelech *in vivo* došlo ke snížení hodnot objemové frakce ECP a ADC_w ; tyto změny byly větší a rychlejší během terminální ischemie/anoxie než v modelu SE. Zmenšení objemu ECP během počáteční fáze epileptiformní aktivity ještě více zvýšilo $[K^+]_e$, která následně ovlivnila neuronální aktivitu a vyvolala nástup prvního epileptického výboje 30 min po injekci pilokarpinu. Výraznější nárůst amplitudy výbojů souvisel s poklesem objemu ECP asi o 30%, což naznačuje, že snížení objemu ECP přispívá k zahájení SE. Snížený objem ECP měl rovněž vliv na extracelulární koncentraci tkáňových metabolitů, jako jsou glukóza, laktát a glutamát. Maximální vzestup $[K^+]_e$ během SE nepřesáhl 15 mM a nezaznamenali jsme žádné signifikantní změny v hodnotě λ . Vzestup $[K^+]_e$ nad 50 mM během terminální ischemie/anoxie byl naopak doprovázen výrazným zvýšením tortuozity (nad 2,00).

Ve srovnání s kontrolními zvířaty, jsme u myši s delecí α -syntrofinu (α -syn) našli vyšší klidové hodnoty ADC_w a α , ale žádné významné rozdíly v hodnotách λ nebo k' . Delece α -syn byla spojena s podstatně menším relativním poklesem α , který byl vyvolán aplikací zvýšené koncentrace K^+ (10 mM) nebo silně hypotonického roztoku (-100 mOsmol/l), ale neměla vliv na pokles α v mírně hypotonickém prostředí (-50 mOsmol/l). Finální hodnoty ADC_w a objemové frakce ECP během terminální ischemie/anoxie svědčily o menším zvětšení objemu buněk u α -syn-negativních myši ve srovnání s α -syn-positivní skupinou. Krátce po vyvolání terminální ischemie/anoxie byl počáteční prudký nárůst koncentrace extracelulárního draslíku a zvýšení λ rychlejší u α -syn-negativních myši, ale konečné hodnoty se u obou skupin nelišily.

Naše výsledky ukazují, že chybění AQP4 kanálů v perivaskulární oblasti, způsobené delecí α -syntrofinu, snižuje tvorbu buněčného edému zejména v závažných patologických stavech a v podmínkách spojených se zvýšenou $[K^+]_e$, což může být spojeno se změněným K^+ transportem u těchto zvířat. Větší extracelulární objem v klidových podmínkách také může sloužit jako ochranný faktor proti rychlému zvýšení koncentrace potenciálně neurotoxických látek a zpomalovat proces vývoje buněčného edému. Narušený transport vody přes buněčné membrány může však na druhou stranu zpomalit normalizaci objemu ECP a zotavení tkáně.

Změny tortuozity a extracelulárního objemu mají vliv na pohyb a lokální koncentraci neuroaktivních látek a trofických faktorů, která následně může modulovat rozsah poškozené oblasti, proces hojení a/nebo distribuci léčiv. Pochopení mechanismů, na nichž je závislý pohyb vody a iontů (zejména K^+) přes buněčnou membránu, může odhalit nové cíle pro potenciální terapeutický zásah při závažných lidských patologiích, které jsou spojené se vznikem buněčného edému, jako jsou např. mozková mrtvice nebo poškození hematoencefalické bariéry.