

Vlastnosti glycinových (GlyR) a GABA_B (GABA_BR) receptorů byly studovány v mediálním jádře trapézovitěho tělesa (MNTB) u dospělého potkana. MNTB je součástí sluchových jader mozkového kmene a je tvořeno skupinou buněk, mezi nimiž převažují tzv. hlavní neurony (PC). PC přijímají 2 typy synaptických vstupů. Excitační, přicházející z kontralaterálního anteroventrálního kochleárního jádra (AVCN), tvoří obrovské glutamatergní nervové zakončení, tzv. Heldův kalich (CH). Inhibiční vstupy jsou představovány glycinergními a GABAergními vlákny nejasného původu. Synapticky uvolněná GABA a glycin modulují excitační přenos v MNTB prostřednictvím receptorů exprimovaných presynaptickými a postsynaptickými neurony. Cílem práce bylo objasnit subcelulární distribuci a podjednotková složení těchto receptorů a přispět tak k lepšímu pochopení jejich funkce v MNTB.

Při našich pokusech jsme používali imunohistochemické metody. Receptory na mozkových řezech byly značeny specifickými protilátkami, jejichž lokalizace v nervové tkáni byla provedena pomocí fluorescenční a elektronové mikroskopie.

Experimentální práce byla rozdělena do tří etap. První část ukázala, že GlyR se v MNTB dělí na dvě odlišné populace. Postsynaptické receptory tvoří $\alpha\beta$ heteromerní shluky na tělech a dendritech PC. Tyto shluky kolokalizují s glycinergními zakončeními a jsou tak uzpůsobeny ke zprostředkování rychlé postsynaptické inhibice. Naopak presynaptické GlyR na CH jsou představovány rozptýlenými $\alpha 1$ homomerními receptory. GlyR na tělech presynaptických neuronů (globulárních buňkách v AVCN) se vyznačují

2 podobným složením i rozmístěním jako postsynaptické GlyR na PC. Naše pokusy tak naznačily, že cílená exprese β podjednotky GlyR vede k segregaci receptorových podtypů zapojených v různých mechanismech modulace synaptického přenosu. Dále se ukázalo, že hustota postsynaptických GlyR na tělech PC a množství glycinergních nervových zakončení v MNTB jsou přechodně sníženy vlivem oboustranné kochleární ablace. Výsledky tak naznačují úlohu přirozené senzorické aktivity v utváření inhibičních systémů MNTB.

Druhá část práce byla zaměřena na kvantitativní analýzu rozmístění presynaptických GlyR na CH. Ukázalo se, že GlyR obsazují struktury CH, které jsou odpovědné za uvolňování glutamátu. Tyto části byly identifikovány jako tzv. stonky a zduřeniny. Vyšší hustota receptorů byla nalezena na zduřeninách, především na jejich straně namířené

do extracelulárního prostoru. Místa nejvyšší koncentrace GlyR byla nalezena u zduřenin těsně sousedících s glycinergními nervovými zakončeními. Naše výsledky tak ukazují nehomogenní výskyt presynaptických GlyR, sledující rozmístění endogenních zdrojů glycinu, a naznačují existenci na aktivitě-závislého mechanismu distribuce GlyR.

Třetí část prací vedla k první přímé demonstraci GABA_BR v MNTB. GABA_BR na CH a na glycinergních zakončeních se nacházejí v blízkosti presynaptických aktivních zón a extrasynaptických místech. Na postsynaptické membráně hlavních neuronů byly receptory detekovány především jak v postsynaptické denzitě, tak v její bezprostřední blízkosti. Při postsynaptické GABA_BR obsahovaly přídatné podjednotky KCTD12. Výsledky jsou v souladu s předpokládanou existencí presynaptických GABA_B homo- a heteroreceptorů regulujících uvolňování excitačních a inhibičních neuropřenašečů a dále

3

postsynaptických desensitizujících receptorů zprostředkujících fázičnou inhibici.