

U podstawy większości procesów neuronalnych w mózgu leży transmisja sygnału pomiędzy komórkami nerwowymi. Najbardziej powszechna metoda przekazywania informacji między neuronami to przekaźnictwo synaptyczne. W synapsach hamujących, w mózgu dorosłych ssaków, najczęściej wydzielanym neuroprzekaźnikiem jest kwas gamma-aminomasłowy (GABA), a zwiążanie GABA przez główny mózgowy receptor tego neuroprzekaźnika, receptor $GABA_A$, prowadzi do napływu jonów chlorkowych do wnętrza komórki i skutkuje obniżeniem potencjału błonowego neuronu odbierającego sygnał (postsynaptycznego). Transmisja GABA-ergiczna jest kluczowa w utrzymywaniu odpowiedniego poziomu pobudliwości neuronów, rozwoju mózgu i procesach uczenia się i pamięci oraz w schorzeniach takich jak epilepsja, bezsenność czy stany lękowe. Z uwagi na różnorodność struktur i procesów w mózgu, transmisja hamująca musi podlegać regulacji na drodze różnych mechanizmów: składu podjednostkowego, modulacji przez środki farmakologiczne lub zjawiska plastyczne. Mimo wielu badań regulacji hamowania, wciąż jesteśmy daleko od pełnego wyjaśnienia tych zjawisk. Z uwagi na istotną rolę transmisji GABA-ergicznej w większości aspektów procesów zachodzących w mózgu, przedstawiam projekt, którego celem jest zbadanie regulacji aktywności receptorów $GABA_A$ przez zmianę składu podjednostkowego, modulację przez klinicznie stosowane środki farmakologiczne i zmiany plastyczne synaps hamujących.

Właściwości funkcjonalne receptora $GABA_A$ krytycznie zależą od tego, z jakich podjednostek jest on zbudowany. Wiadomo też, że pomimo ważnej roli, jaką pełni podjednostka β w strukturze receptora synaptycznego, możliwa jest ekspresja w pełni funkcjonalnych receptorów pozbawionych tej podjednostki, co sugeruje że takie receptory mogą występować w mózgu. Nie wiadomo jednak, jak aktywność takiego receptora różni się od tego najczęściej występującego w synapsie (złożonego z podjednostek α_1 , β_2 i γ_2) oraz jak te receptory reagują ze związkami modulującymi odpowiedź receptorów $GABA_A$, takimi jak benzodiazepiny i barbiturany. W ramach pierwszego zadania chcę zbadać czy i jak kinetyka aktywności receptora $GABA_A$ oraz jego modulacja przez substancje farmakologiczne zależy od obecności podjednostki β . Co ciekawe, receptory $GABA_A$ mogą otwierać się także spontanicznie, czyli bez wiązania GABA. Nieznany jest jednak mechanizm tej spontanicznej aktywności i to czy zachodzi ona według podobnego schematu jak aktywność ze związanym GABA, czyli z udziałem tzw. stanu preaktywacji. Stan ten oddziela procesy wiązania agonisty i otwierania kanału jonowego i jest uznawany za kluczowy w kształtowaniu aktywności receptora po związaniu GABA. Wiadomym jest, że benzodiazepiny wywołują zwiększenie prądu płynącego przez receptory $GABA_A$ nawet przy nieobecności GABA, lecz kwestią niepoznaną jest to, czy benzodiazepiny modulują spontaniczną aktywność, czy też same aktywują receptory. Drugie zadanie polega zatem na dogłębnym zbadaniu aktywności spontanicznej, określeniu czy jest zależna od stanu preaktywacji oraz czy jest modulowana przez benzodiazepiny. Receptor $GABA_A$ wiąże neuroprzekaźnik w tzw. miejscu wiązania, daleko od bramki kanału (ok. 5 nm). Miejsce wiązania składa się z kilku pętli aminokwasowych będących elementami przystających do siebie podjednostek α i β . Jedną z tych pętli, pętla G, z uwagi na swoją strukturę i usytuowanie w receptorze może być ważnym elementem strukturalnym przenoszącym energię wiązania neuroprzekaźnika do części receptora, w której zachodzi bramkowanie kanału, co świadczyłoby o kluczowej roli tej pętli w procesie aktywacji receptora. Weryfikacja tej hipotezy stanowi treść zadania trzeciego niniejszego projektu. Plastyczność synaptyczna to zmiana funkcji i morfologii synaps pod wpływem aktywności neuronalnej. Zjawisko to było przedmiotem obszernych badań w transmisji pobudzającej, lecz w synapsach hamujących jest dużo słabiej poznane. Duże zróżnicowanie interneuronów wydzielających GABA w mózgu wskazuje na istotną rolę tego zjawiska w regulacji pobudliwości. Mechanizm tej plastyczności jest do tej pory niepoznany, ponadto prawdopodobnie jest on różny w zależności od typu interneuronu i może zależeć od zmiany profilu podjednostkowego receptorów w synapsie podlegającej zmianie plastycznej. Istnieje podejrzenie, że po indukcji wzmocnienia synapsy następuje wbudowywanie do niej receptorów $GABA_A$ z podjednostką α_5 . Zbadanie tej kwestii jest treścią czwartego zadania badawczego tego projektu, co planuję wykonać we współpracy z laboratorium Sensory Cells and Circuits Section w National Center for Complementary and Integrative Health w Bethesda, USA. Powyższe zadania planuję wykonać w oparciu o zaawansowane techniki elektrofizjologiczne (rejestracje prądów makroskopowych oraz aktywności pojedynczych kanałów). Dodatkowo, zadanie czwarte planuję wykonać używając zwierzęcych modeli ekspresji białek z grupy Channelrodopsyn w określonym typie interneuronu, by móc sprawdzić, używając narzędzi optogenetycznych, czy jest to zjawisko zależne od typu interneuronu.

Wyniki uzyskane w ramach zaplanowanych badań znacznie poszerzą wiedzę z dziedziny transmisji hamującej i mechanizmów jej regulacji, co może być ważne w dalszych odkryciach z dziedziny etiologii chorób związanych z inhibicją aktywności neuronalnej.