

Streszczenie

Dwukierunkowa komunikacja pomiędzy siecią połączeń neuronalnych a wypustkami astrocytarnymi zapoczątkowała nowe podejście do dotychczas neurocentrycznego postrzegania mechanizmów regulacji przekazywania synaptycznego. W latach 90. zdefiniowano koncept „synapsy trójdzielnej” w odpowiedzi na zgromadzone dowody aktywnego kontaktu komórek nerwowych i glejowych, opierający się na założeniu, że neuroprzekazniki, aktywując metabotropowe receptory na powierzchni astrocytów, prowadzą do wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca^{2+} w ich cytoplazmie oraz uwolnienia glioprzekazników.

Do tej pory nie jest do końca jasne, jaka jest dynamika oraz właściwy mechanizm przekazywania jonów Ca^{2+} w astrocytach i czy prowadzi on do uwalniania glioprzekazników poprzez regulowaną egzocytozę. Dodatkowo niewiele wiadomo o funkcjonalnej różnorodności astrocytów w różnych obszarach mózgu, szczególnie w kontekście glioprzekazywania.

W niniejszej pracy użyto mieszanych hodowli neuronalno-glejowych i mikroskopii całkowitego wewnętrznego odbicia (TIRF) do zbadania mechanizmów regulujących egzocytozę w astrocytach. Wykazano, że obecność neuronów w hodowli znacząco zmniejsza poziom spontanicznej egzocytozy w astrocytach. Ponadto wykazano, że aktywność neuronalna reguluje częstotliwość egzocytozy w astrocytach, a proces ten zależy w dużej mierze od zewnątrzkomórkowych jonów Ca^{2+} . Ustalono również, że w przeciwieństwie do hodowli hipokampalnej, proces egzocytozy wywołany elektrostymulacją nie ulega zahamowaniu w obecności TTX w hodowli korowej. Koreluje to ze zmniejszonym poziomem mRNA genu *Unc13c* w astrocytach w hodowli korowej w stosunku do hodowli hipokampalnej, co zbadano za pomocą fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH, ang. fluorescent in situ hybridization).

Podsumowując, przedstawione w niniejszej rozprawie wyniki badań opisują pewne mechanizmy regulacji egzocytozy w astrocytach, które wymagają jednak dalszych badań.

Abstract

The bidirectional communication between the neuronal connection network and astrocytic protrusions initiated a new approach to the previously neurocentric view of the regulation mechanisms of synaptic transmission. In the 1990s, the concept of a 'tripartite synapse' was defined in response to accumulated evidence of active contact between neural and glial cells, based on the idea that neurotransmitters, by activating metabotropic receptors on the surface of astrocytes, lead to an increase in the intracellular Ca^{2+} ion concentration in their cytoplasm and the release of gliotransmitters.

To date, it is not entirely clear what the dynamics and the specific mechanism of Ca^{2+} ion transmission in astrocytes is and whether it leads to the release of gliotransmitters through regulated exocytosis. Additionally, little is known about the functional diversity of astrocytes in different brain areas, particularly in the context of gliotransmission.

In this study, mixed neuronal-glial cultures and total internal reflection fluorescence microscopy (TIRF) were used to investigate the mechanisms regulating exocytosis in astrocytes. It was shown that the presence of neurons in the culture significantly reduces the level of spontaneous exocytosis in astrocytes. Furthermore, neuronal activity was found to regulate the frequency of exocytosis in astrocytes, a process that largely depends on extracellular Ca^{2+} ions. It was also established that, unlike in hippocampal cultures, the exocytosis process induced by electrical stimulation is not inhibited in cortical cultures by the presence of TTX. This correlates with a reduced level of mRNA for the *Unc13c* gene in astrocytes from cortical cultures compared to those from hippocampal cultures, as investigated using fluorescent in situ hybridization (FISH).

In summary, the findings presented in this dissertation describe certain mechanisms of exocytosis regulation in astrocytes, which require further investigation.