

N-methyl-D-aspartátové receptory (NMDAR) jsou ionotropní glutamátové receptory, které se podílejí na regulaci téměř všech procesů v mozku. Proto i nepatrná porucha funkce NMDAR může vést k závažným patologickým důsledkům. Mutace v genech kódujících NMDAR, které vedou ke snížení jejich funkce, se podílejí na mnoha neuropsychiatrických poruchách, jako jsou například mentální retardace, schizofrenie, poruchy autistického spektra, epilepsie a poruchy pohybu. Nedostatečnou funkci NMDAR lze korigovat pozitivními alosterickými modulátory, včetně neurosteroidů. Mechanismus který je základem potenciačního účinku steroidů však není dosud dostatečně objasněn.

Pomocí elektrofyziologické metody terčíkového zámku jsme změřili účinek nově syntetizovaných analogů pregnanů, které jsou podobné neurosteroidům, na rekombinantní NMDAR s podjednotkovým složením GluN1/GluN2B. Prokázali jsme, že sloučeniny s krátkými residui na uhlíku C3, jako je pregnanolon acetát (PA-Ace) a pregnanolon karboxylát (PA-Car), jsou negativními modulátory NMDAR, zatímco sloučeniny s delšími residui na C3, jako je pregnanolon butyrát (PA-But) a epipregnanolon butyrát (EPA-But), jsou pozitivními modulátory NMDAR. Dále jsme odhalili, že EPA-But má “disuse-dependentní” pozitivní alosterický účinek, přičemž je v tomto ohledu podobný endogennímu neurosteroidu pregnenolon sulfátu (PE-S).

Kombinací elektrofyziologie, molekulární biologie a počítačového modelování jsme identifikovali vazebná místa PE-S a EPA-But v transmembránové doméně receptoru GluN1/GluN2B. Naše výsledky ukazují, že EPA-But se váže na NMDAR na rozhraní transmembránových domén M4 a M1 sousedících podjednotek GluN1(M4)/GluN2B(M1), GluN2B(M4)/GluN1(M1) a dále na toto rozhraní v jedné podjednotce GluN2B(M1/M4). Naproti tomu PE-S se váže na receptor pouze na rozhraní GluN2B(M1/M4). Zde jsme navrhli mechanismy, kterými steroidy potencují funkci NMDAR.

Dále jsme provedli charakterizaci vlivu více než deseti *de novo* mutací asociovaných s neuropsychiatrickými onemocněními v lidské variantě podjednotek hGluN2B a hGluN1 na funkční vlastnosti a povrchovou expresi NMDAR. Zkoumali jsme účinek EPA-But a PE-S u těchto mutovaných NMDAR a naše výsledky ukázaly potenciál EPA-But a PE-S kompenzovat hypofunkci NMDAR, které nesou tyto mutace.

V této studii jsme odhalili strukturální principy, které jsou základem potenciačního účinku steroidů. Naše výsledky otevírají nové možnosti vývoje léčiv na bázi steroidů, které budou určeny pro léčbu poruch spojených s hypofunkcí NMDAR.