

Detekce bolestivých podnětů na periférii a jejich transdukce do CNS je zprostředkována některými zástupci teplotně citlivých transient receptor potential (TRP) kanálů, kteří se exprimují na volných zakončeních primárních aferentních senzoričkových neuronů nazývaných nociceptory. Prostřednictvím TRP kanálů nociceptory vnímají nejen teplotní stimuly, ale také podněty mechanické a chemické. Ze sedmi v současnosti identifikovaných teplotně citlivých TRP kanálů jsou za detekci bolestivých teplotních podnětů zodpovědní dva teplem aktivovaní zástupci vaniloidních receptorů: TRPV1 ($\geq 42\text{ }^{\circ}\text{C}$), TRPV2 ($\geq 52\text{ }^{\circ}\text{C}$) a jeden chladem aktivovaný zástupce ankyrinových receptorů TRPA1 ($\leq 17\text{ }^{\circ}\text{C}$). Tyto kanály jsou typické složitým a dosud neznámým mechanismem působení, jejichž poznání je nezbytné k pochopení jejich komplexních funkcí v organismu a následně pro navrhování potenciálních analgetik. Nové poznatky, které jsou náplní této studie, směřují k objasnění mechanismů působení dvou výše zmíněných nociceptivních receptorů TRPV1 a TRPA1, se zaměřením na kastrovou a napětěovou citlivost TRPV1 a vápníkovou modulaci TRPA1 receptoru.

Prvním tématem, které je v této práci diskutováno, je modulační mechanismus kafru na TRPV1 receptor. Kafr je účinnou, v přírodě se vyskytující látkou používanou díky svým analgetickým účinkům od nepaměti. Její mechanismus působení je však neznámý. Kafr je znám jako parciální agonista TRPV1 receptoru, plný agonista TRPV3 receptoru, ale i jako inhibitor savčího receptoru TRPA1. Působení kafru bylo v rámci této studie studováno nejen na úrovni vaniloidního receptoru typu 1, ale i na úrovni změn vlastností membrány v přítomnosti této látky. Ukázalo se, že kafr je schopen velmi rychle aktivovat TRPV1 receptor, a to prostřednictvím konformační změny krátkého helixu, který je situován uvnitř póru kanálu. Tento helix byl navržen i jako místo interakce kafru s receptorem. Stejně dobře kafr mění distribuci důležitého modulátoru vaniloidního receptoru fosfatidylinositolu-4,5-bisfosfátu na vnitřním listu membrány, což může představovat důležitý způsob modulace membránových receptorů.

Z hlediska základních strukturálně funkčních vlastností byla u TRPV1 receptoru studována úloha intracelulární části S4-S5 helixů a byla porovnána funkce odpovídajících aminokyselin u dvou dalších zástupců vaniloidních receptorů, TRPV2 a TRPV3. Přestože je studovaná oblast mezi těmito zástupci vysoce konzervovaná, ukázalo se, že nabitá rezidua v této oblasti mají mezi jednotlivými zástupci odlišné funkce v jejich teplotní, napětěové a chemické citlivosti. Byla identifikována rezidua nezbytná pro napětěovou a teplotní modulaci kapsaicinem aktivovaného TRPV1 kanálu.

Závěrečným tématem diskutovaným v rámci této práce je úloha distální části C-terminálního konce TRPA1 receptoru v aktivaci vápenatými ionty. TRPA1 je iontový kanál, jehož funkce je silně modulovaná ionty Ca^{2+} , ale mechanismus této modulace nebyl zatím uspokojivě objasněn. Na základě našich experimentálních dat usuzujeme na funkci distální domény C-konce jako vápníkového senzoru TRPA1 receptoru. Záměnami kyselých aminokyselin v této oblasti byla prokázána úloha těchto reziduí ve Ca^{2+} -indukované potenciaci a inaktivaci tohoto kanálu. Výsledky této části předložené dizertační práce napomáhají k porozumění funkce TRPA1 receptoru v chemické nocicepci.