



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

«Η γεύση του umami»

Πτυχιακή εργασία

Δαμianoπούλου Σπυριδούλα

Αθήνα, 2017



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

**Παπανικολάου Γεώργιος (Επιβλέπων), Λέκτορας στην Παθοφυσιολογία -
Γενετική του Ανθρώπου**

Ματάλα Αντωνία – Λήδα, Καθηγήτρια Ανθρωπολογίας της Διατροφής

**Μπόσκου Γεώργιος, Επίκουρος Καθηγητής
Οργάνωσης και Διαχείρισης Μονάδων Διατροφής**

Ο/Η Δαμιανοπούλου Σπυριδούλα

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1)** Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2)** Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κο Παπανικολάου, τόσο για την ανάθεση του συγκεκριμένου , πολύ ενδιαφέροντος θέματος, όσο και για την πολύτιμη βοήθειά του, την υπομονή και τη διακριτικότητά του κατά την εκπόνηση της εργασίας. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, η οποία με στήριξε καθ'όλη τη διάρκεια των φοιτητικών μου χρόνων.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

	Σελ.
Περίληψη.....	7
Abstract.....	8
Κεφάλαιο 1 ^ο : Η αίσθηση της γεύσης.....	9
1.1 Εισαγωγή	9
1.2 Η σημασία της γεύσης.....	9
1.3 Η σημασία της γεύσης umami.....	11
1.4 Κατώφλι ανίχνευσης γεύσης.....	11
1.5 Ανατομία και φυσιολογία της γεύσης.....	12
1.5.1 Γευστικοί κάλυκες και γευστικές θηλές.....	12
1.5.2 Τα γευστικά κύτταρα.....	13
1.5.2.α Κύτταρα τύπου I.....	13
1.5.2.β Κύτταρα τύπου II.....	14
1.5.2.γ Κύτταρα τύπου III.....	15
1.5.2.δ Κύτταρα τύπου IV.....	15
1.5.3 Γευστικοί υποδοχείς	16
1.5.3.α Υποδοχείς της γλυκιάς γεύσης.....	16
1.5.3.β Υποδοχείς της πικρής γεύσης.....	18
1.5.3.γ Υποδοχείς της αλμυρής γεύσης.....	19
1.5.3.δ Υποδοχείς της όξινης γεύσης.....	21
1.5.3.ε Υποδοχείς της γεύσης umami.....	22
1.6 Μηχανισμός διέγερσης των γευστικών καλύκων.....	23
1.7 Μετάδοση των γευστικών μηνυμάτων στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα.....	24
1.8 Ο κώδικας της γεύσης.....	25
Κεφάλαιο 2 ^ο : Το umami στην αρχαιότητα και η αναγνώρισή του ως βασική γεύση.....	26
2.1 Εισαγωγή : Φυσικές umami ουσίες.....	26
2.2 Το umami στην αρχαία Ρώμη.....	28
2.2.1. Ρωμαϊκές σάλτσες ψαριών.....	29
2.3 Το umami στη νοτιοανατολική Ασία.....	30
2.4 Η ανακάλυψη της γεύσης umami.....	32
2.5 Η αναγνώριση του umami ως βασική γεύση.....	33
Κεφάλαιο 3 ^ο : Η εξελικτική πορεία της γεύσης umami στα είδη.....	37
3.1 Εισαγωγή : Γνωστές εξελικτικές αλλαγές στην αίσθηση της γεύσης.....	37
3.2 Ο εξελικτικός ρόλος της umami γεύσης.....	38
3.3 Φυσική επιλογή <i>TAS1R</i> γονιδίων στις Ανθρωπίδες.....	39

3.4 Συσχετισμός των γονιδίων της γεύσης umami με τη διατροφή θηλαστικών...	40
3.4.1 Τα ψευδογονίδια <i>Tas1r1</i> του γιγαντιαίου πάντα.....	40
3.4.2 Η απώλεια της γεύσης umami στις νυχτερίδες.....	41
3.4.3 Η απώλεια της γεύσης umami στα πτερυγιόποδα.....	43
3.4.4 Η εξελικτική πορεία των γονιδίων της umami γεύσης σε θαλάσσια κήτη.....	44
3.4.5 Η δράση της φυσικής επιλογής σε πρωτεύοντα της οικογένειας Cercopithecidae	46
 Κεφάλαιο 4 ^ο : Οι υποδοχείς και τα γονίδια της γεύσης umami.....	48
4.1 Εισαγωγή: Οι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες υποδοχείς.....	48
4.2 Οι υποδοχείς της umami γεύσης.....	49
4.2.1 Ο ετεροδιμερής T1R1/T1R3 υποδοχέας της umami γεύσης.....	50
4.2.2 Οι μεταβοτροπικοί υποδοχείς του γλουταμινικού.....	51
4.3 Οι τελεστές και η μεταγωγή της umami γεύσης.....	53
4.4 Οι προσδέτες των υποδοχέων της γεύσης umami.....	55
4.5 Τα γονίδια της γεύσης umami.....	56
4.6 Εξωστοματική έκφραση των υποδοχέων της umami γεύσης.....	59
4.6.1 Η έκφραση του T1R1/T1R3 υποδοχέα στον εγκέφαλο.....	59
4.6.2 Ο T1R1/T1R3 υποδοχέας στη γαστρεντερική οδό.....	60
4.6.2.α Ο T1R1 / T1R3 υποδοχέας διεγείρει την έκκριση χολοκυστοκινίνης	61
4.6.3 Ο ρόλος του T1R1/T1R3 υποδοχέα στο αναπαραγωγικό σύστημα.....	63
4.6.4 Η έκφραση του T1R1/T1R3 υποδοχέα στον καρδιακό μυ.....	64
 Κεφάλαιο 5 ^ο : Παράγοντες που επηρεάζουν την αντίληψη της umami γεύσης...66	
5.1 Εισαγωγή: Το συνεργιστικό φαινόμενο.....	66
5.2 Η επίδραση της συγκέντρωσης του κυτοσολικού ασβεστίου στο συνεργιστικό φαινόμενο.....	67
5.3 Η επίδραση της θερμοκρασίας στη γεύση του umami.....	69
5.4 Η επίδραση της όσφρησης στην umami γεύση.....	70
5.5 Η επίδραση άλλων γεύσεων στην αντίληψη του umami.....	71
5.5.1 Αλληλεπιδράσεις μεταξύ πικρών και umami ενώσεων.....	72
5.5.2 Η αλληλεπίδραση μεταξύ γλυκιάς και umami γεύσης.....	73
5.5.3 Η αλληλεπίδραση μεταξύ αλμυρής και umami γεύσης.....	74
5.6 Το γήρας και η αντίληψη της umami γεύσης.....	75
 Συζήτηση.....	77
 Βιβλιογραφία.....	82

Περίληψη

Η παρούσα πτυχιακή εργασία αποτελεί μια ανασκόπηση της διαθέσιμης μέχρι σήμερα βιβλιογραφίας σχετικά με τη γεύση του umami. Αρχικά, παρατίθενται ορισμένες γενικές πληροφορίες γύρω από την αίσθηση της γεύσης, καθώς και η ανάλυση όρων απαραίτητων για την κατανόηση των επόμενων κεφαλαίων. Στη συνέχεια, ακολουθεί η περιγραφή των ενώσεων και συστατικών της umami γεύσης, η διερεύνηση του ρόλου τους στη διατροφή αρχαίων πολιτισμών και η συμβολή τους στην ανάδειξη του umami σε βασική γεύση. Έπειτα, πραγματοποιείται εκτενής αναφορά στον εξελικτικό ρόλο της συγκεκριμένης γεύσης και παρατίθενται στοιχεία που καταδεικνύουν την επίδραση της φυσικής επιλογής στα γονίδια του umami σε διάφορα θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Σε επόμενο κεφάλαιο, ακολουθεί αναλυτική περιγραφή της δομής των υποδοχέων της umami γεύσης, με αναφορές στους σχετικούς προσδέτες και τελεστές. Επιπλέον, παρατίθενται πληροφορίες σχετικά με τα γονίδια της γεύσης αυτής και συγκεκριμένα πάνω στη δομή, την έκφραση και την ποικιλομορφία τους. Τέλος, γίνεται αναφορά στους βασικούς παράγοντες που επηρεάζουν την αισθητηριακή αντίληψη της γεύσης του umami. Ανάμεσα σε αυτούς περιλαμβάνεται η θερμοκρασία, η αίσθηση της όσφρησης, η αλληλεπίδραση με άλλες γευστικές ποιότητες, καθώς επίσης και η ηλικία.

Λέξεις κλειδιά: γεύση, umami, T1R1/T1R3, mGluR1, mGluR4

Abstract

This bachelor's thesis is a review of the literature available so far on the umami taste. Initially, some general information about the sense of taste is provided, along with an analysis of terms necessary for the understanding of the following chapters. Subsequently, a description of the compounds and components of umami taste is followed by the exploration of their role in the dietary habits of ancient cultures and their contribution to the recognition of umami as a basic taste. Then, an extensive reference is made to the evolutionary role of this particular taste, and data are presented demonstrating the effect of natural selection on umami genes in various mammals, including humans. In the next chapter, follows a detailed description of the structure of umami taste receptors, with references to the related ligands and effectors. In addition, information about umami genes is provided, concerning their structure, expression and diversity. Finally, reference is made to the key factors influencing the sensory perception of umami. These include temperature, olfaction, age, as well as the interaction with other taste qualities.

Keywords: taste, umami, T1R1/T1R3, mGluR1, mGluR4

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : Η ΑΙΣΘΗΣΗ ΤΗΣ ΓΕΥΣΗΣ

1.1. Εισαγωγή

Η αίσθηση της γεύσης αποτελεί, κατά κύριο λόγο, λειτουργία των γευστικών καλύκων της στοματικής κοιλότητας. Τα γευστικά κύτταρα συνδέονται με τα μόρια των τροφών που καταναλώνονται και στέλνουν μηνύματα στον εγκέφαλο, ο οποίος διακρίνει και αξιολογεί το ερέθισμα, οδηγώντας σε μια εμπειρία γνωστή ως «γεύση». (Breslin, 2013, Loper et al., 2015) Είναι ωστόσο κοινά αποδεκτό ότι η αίσθηση της όσφρησης επίσης συμβάλλει σημαντικά στην αντίληψη της γεύσης. Επιπλέον, η υφή της τροφής, όπως ανιχνεύεται από την απτική αίσθηση της στοματικής κοιλότητας, καθώς και η παρουσία ουσιών στην τροφή που διεγείρουν νευρικές απολήξεις πόνου, όπως το πιπέρι, μεταβάλλουν σε μεγάλο βαθμό τη γευστική εμπειρία. (Guyton, 2006) Πέντε βασικές γεύσεις γίνονται αντιληπτές από τον άνθρωπο και τα περισσότερα ζώα – η πικρή, η γλυκιά, η όξινη, η αλμυρή και η umami γεύση (η γεύση του γλουταμινικού μονονατρίου MSG). (Liman et al., 2014)

1.2 Η σημασία της γεύσης

Η αίσθηση της γεύσης εξυπηρετεί κυρίως δύο λειτουργίες. Αφενός, επιτρέπει την αξιολόγηση των τροφίμων ως προς την τοξικότητα και τα θρεπτικά συστατικά και αφετέρου μπορεί να έχει μεταβολική λειτουργία, προετοιμάζοντας τον οργανισμό να απορροφήσει καλύτερα τα επεξεργασμένα θρεπτικά συστατικά. (Breslin, 2013) Πιο συγκεκριμένα, είναι γενικά αποδεκτό ότι ο ανθρώπινος οργανισμός μπορεί να αντιληφθεί πέντε διαφορετικές γεύσεις, καθεμία από τις οποίες είναι υπεύθυνη για την αναγνώριση συγκεκριμένων θρεπτικών και δηλητηριωδών συστατικών στις καταναλισκόμενες τροφές. Αρχικά, η γλυκιά γεύση είναι ενδεικτική πηγών πλούσιων σε υδατάνθρακες, ενώ η γεύση umami είναι χαρακτηριστική τροφίμων με μεγάλη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και αμινοξέα. (Stanska and Krzeski, 2016) Η αλμυρή γεύση, είναι υπεύθυνη για τον εντοπισμό αλάτων, των οποίων η πρόσληψη είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της ισορροπίας των υγρών του σώματος. Η πικρή γεύση, όταν έχει αυξημένη ένταση, οδηγεί σε απόρριψη της τροφής, γεγονός που είναι ιδιαίτερα σημαντικό, καθώς πολλές θανατηφόρες τοξίνες που εντοπίζονται σε δηλητηριώδη φυτά είναι αλκαλοειδή, και στο σύνολό τους προκαλούν μια ιδιαίτερα έντονη πικρή γεύση. Τέλος, η ξινή γεύση είναι απαραίτητη για την αξιολόγηση του βαθμού ωρίμανσης των φρούτων, καθώς και για τον εντοπισμό αλλοιωμένων τροφών. (Prescott, 2014)

Από την άλλη πλευρά, η αίσθηση της γεύσης μπορεί να συμμετέχει και στο μεταβολισμό των θρεπτικών συστατικών, μέσω ενός συνόλου αντιδράσεων που ονομάζονται κεφαλική φάση, και οι οποίες πυροδοτούνται από την αισθητηριακή αναγνώριση του φαγητού (εμφάνιση, οσμή, γεύση). (Power and Schulkin, 2008) Μερικές από τις αντιδράσεις αυτές είναι η έκκριση σιέλου, η αύξηση των καρδιακών παλμών και της μεσεντερικής ροής, η έκκριση πεπτικών ενζύμων, ορμονών και οξέων, καθώς και η αύξηση της κινητικότητας του εντέρου. (Zafra et al., 2006) Οι φυσιολογικές αυτές αντιδράσεις είναι ραγδαίες (συμβαίνουν εντός ολίγων λεπτών από τη στιγμή της αισθητηριακής διέγερσης), μικρές σε ένταση (σε σχέση με τις διαστάσεις που λαμβάνουν κατά τον μεταβολισμό της τροφής) και παροδικές. (Mattes, 1997) Ωστόσο, διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στην καλύτερη απορρόφηση και αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών από τον οργανισμό.

Τέλος, οι γευστικές προτιμήσεις των ζώων, οι οποίες διαμορφώνουν τη διαίτά τους, καθορίζονται από τις εκάστοτε ανάγκες τους σε θρεπτικά συστατικά. Τα ακόλουθα πειράματα καταδεικνύουν αυτή την ικανότητα των ζώων να επιλέγουν τρόφιμα σύμφωνα με τις ανάγκες του σώματός τους. Καταρχάς, ζώα τα οποία έχουν υποβληθεί σε εκτομή επινεφριδίων και εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα νατρίου, επιλέγουν αυτόματα πόσιμο νερό με ψηλή συγκέντρωση χλωριούχου νατρίου έναντι του καθαρού νερού, και αυτό συχνά επαρκεί για την κάλυψη των αναγκών τους και, κατ'επέκταση, την επιβίωσή τους. Επιπλέον, ένα ζώο που έλαβε, σε ενέσιμη μορφή, αυξημένη ποσότητα ινσουλίνης εμφάνισε χαμηλό σάκχαρο αίματος και επέλεξε αυτόματα την πιο γλυκιά τροφή ανάμεσα σε πολλά δείγματα. Ακόμη, ζώα που έχουν υποβληθεί σε παραθυρεοειδεκτομή και εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα ασβεστίου, αυτόματα επέλεξαν πόσιμο νερό με υψηλή συγκέντρωση χλωριούχου ασβεστίου. (Guyton, 2006)

Το φαινόμενο της γευστικής προτίμησης είναι σχεδόν με βεβαιότητα αποτέλεσμα κάποιου μηχανισμού που εντοπίζεται στο κεντρικό νευρικό σύστημα και όχι από μηχανισμό στους ίδιους τους υποδοχείς γεύσης, αν και είναι αλήθεια ότι οι υποδοχείς συχνά ευαισθητοποιούνται υπέρ μιας αναγκαίας θρεπτικής ουσίας. Ένας σημαντικός λόγος που καταδεικνύει ότι η γευστική προτίμηση είναι κυρίως ένα φαινόμενο του κεντρικού νευρικού συστήματος είναι ότι η προηγούμενη εμπειρία με δυσάρεστες ή ευχάριστες γεύσεις παίζει σημαντικό ρόλο στον καθορισμό των γευστικών προτιμήσεων του ατόμου. Για παράδειγμα, εάν ένα άτομο έχει δυσάρεστα συμπτώματα μετά την κατανάλωση ενός συγκεκριμένου τροφίμου, το άτομο έπειτα αναπτύσσει μια αρνητική γευστική προτίμηση, γνωστή και ως αποστροφή, για το συγκεκριμένο τρόφιμο. (Guyton, 2006)

1.3 Σημασία της γεύσης umami

Η γεύση umami, εκτός του εξελικτικού της ρόλου, εμπλέκεται και σε πολλές διεργασίες του ανθρώπινου οργανισμού. (Stanska and Krzeski, 2016) Αρχικά, οι ουσίες umami διεγείρουν την παγκρεατική εξωκρινή λειτουργία, την έκκριση γαστρικών υγρών και οξέων, καθώς και την απελευθέρωση ινσουλίνης, συμβάλλοντας έτσι στην βελτίωση της πέψης. (San Gabriel et al., 2009b) Μια από αυτές τις ουσίες, το MSG (γλουταμινικό μονονάτριο), προάγει τη γαστρική κένωση και την περισταλτικότητα του εντέρου, ενώ παράλληλα ρυθμίζει την απελευθέρωση διττανθρακικών και την έκκριση γαστρικής βλέννας. (Kendig et al., 2014, Zai et al., 2009) Επιπλέον, η γεύση του umami επάγει την έκκριση σιέλου. (Uneyama et al., 2009) Παραδόξως, η συνολική ποσότητα σιέλου που εκκρίνεται λόγω του ερεθίσματος των ουσιών της συγκεκριμένης γεύσης, είναι μεγαλύτερη από εκείνη που προκύπτει από τη διέγερση που προκαλεί ένα ‘στυφό’ γεύμα. (Mouritsen, 2012) Η λειτουργία αυτή είναι αρκετά σημαντική, εφόσον όλες οι ουσίες της τροφής πρέπει να διαλυθούν πρώτα με τη βοήθεια του σιέλου προκειμένου να συνδεθούν στη συνέχεια με τους γευστικούς υποδοχείς. Αξιοσημείωτο είναι, επίσης, το γεγονός ότι οι ουσίες της γεύσης umami αυξάνουν την όρεξη και βελτιώνουν την αίσθηση ικανοποίησης που προσφέρουν τα τρόφιμα, οδηγώντας έτσι σε αύξηση της πρόσληψης τροφής. Τέλος, η προσθήκη των συγκεκριμένων ουσιών μπορεί να μειώσει την επιθυμία για αλάτι, με αποτέλεσμα τη βελτίωση της ποιότητας της διατροφής. (Masic and Yeomans, 2014)

1.4 Κατώφλι ανίχνευσης γεύσης

Στην ψυχοφυσική, ως όριο ανίχνευσης ενός γευστικού ερεθίσματος αναφέρεται η ελάχιστη ποσότητα του ερεθίσματος που απαιτείται ώστε το αισθητήριο σύστημα να προκαλέσει μια συμπεριφορική απόκριση. Το κατώφλι αυτό ποικίλλει αναλόγως με το είδος του οργανισμού και του υπό εξέταση ερεθίσματος. (Møller, 2003)

Συγκεκριμένα, το όριο ανίχνευσης της όξινης γεύσης του υδροχλωρικού οξέως έχει δείκτη 1 (0.0009M). Σε σύγκριση με αυτό, το τρυγικό οξύ, το κιτρικό και το ανθρακικό, έχουν δείκτες ανίχνευσης 0,7, 0,46 και 0,06 αντίστοιχα. Για τη διέγερση της αλμυρής γεύσης με χλωριούχο νάτριο, το κατώφλι ανίχνευσης είναι 0,01M (δείκτης 1), ενώ το χλωριούχο κάλιο έχει δείκτη 0,6. Το κατώφλι ανίχνευσης της γλυκιάς γεύσης που προκαλεί η σακχαρόζη είναι 0,01M (δείκτης 1), ενώ η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η λακτόζη έχουν δείκτες 0,8, 1,7 και 0,3 αντίστοιχα. Το κατώφλι ανίχνευσης της umami γεύσης του γλουταμινικού μονονατρίου είναι 0,000625M (Boudreau and American Chemical Society. Division of Agricultural and Food Chemistry.,

1979), και τέλος, για την πικρή γεύση που προκαλείται από κινίνη, το κατώφλι ανίχνευσης είναι 0.000008M, φανερώνοντας έτσι τη μεγάλη ευαισθησία της πικρής γεύσης, η οποία οφείλεται στον προστατευτικό της ρόλο κατά των τοξινών. (Guyton, 2006)

1.5 Ανατομία και φυσιολογία της γεύσης

1.5.1 Γευστικοί κάλυκες και γευστικές θηλές

Η γλώσσα αποτελεί το κύριο αισθητηριακό όργανο της γεύσης. Το περιφερικό όργανο του γευστικού συστήματος βρίσκεται κυρίως στη ραχιαία επιφάνεια της γλώσσας και είναι η θηλή της γλώσσας. Η βασική λειτουργική μονάδα της γεύσης βρίσκεται στις θηλές της γλώσσας και είναι ο γευστικός κάλυκας. (Barrett, 2010) Γενικά, φαίνεται να υπάρχουν τουλάχιστον 4 διαφορετικά είδη γευστικών θηλών, οι οποίες, εκτός της γλώσσας, εντοπίζονται και στη μαλακή και σκληρά υπερώα, στην επιγλωττίδα, στο φάρυγγα και το λάρυγγα. (Gravina et al., 2013)

Οι μυκητοειδείς θηλές καλύπτουν τα 2/3 της πρόσθιας επιφάνειας της γλώσσας και έχουν σχήμα μανιταριού. Στον άνθρωπο, οι θηλές αυτές είναι περίπου 50-200 και κατανέμονται διάσπαρτα μεταξύ των πολυάριθμων τριχοειδών θηλών, οι οποίες καλύπτουν τη μεγαλύτερη έκταση της γλώσσας και δεν φέρουν γευστικούς κάλυκες. (Hoon et al., 1999)

Στα πλάγια χείλη του οπίσθιου τριτημορίου της γλώσσας υπάρχει ένα άλλο είδος γευστικών θηλών, οι φυλλοειδείς θηλές, 4-5 στον αριθμό, που σχηματίζουν αναδιπλώσεις μέσα στις οποίες βρίσκονται οι γευστικοί κάλυκες. Τέλος, οι περιχαρακωμένες θηλές εντοπίζονται στις πλάγιες και κεντρικές περιοχές της οπίσθιας επιφάνειας της γλώσσας και έχουν μεγαλύτερο μέγεθος από τα υπόλοιπα είδη γευστικών θηλών. Στον άνθρωπο παρατηρούνται περίπου 3-13 περιχαρακωμένες θηλές, διατεταγμένες κατά μήκος μιας γραμμής που σχηματίζει το ελληνικό γράμμα «Λ» και ονομάζεται γευστικό λάμδα. (Spielman, 1998)

Όπως προαναφέρθηκε, η λειτουργική μονάδα της γεύσης, δηλαδή οι γευστικοί κάλυκες της γλώσσας, εντοπίζεται στις περιχαρακωμένες, τις φυλλοειδείς και τις μυκητοειδείς θηλές. Στον άνθρωπο, μια μυκητοειδής θηλή περιέχει 1-10 γευστικούς κάλυκες, μια φυλλοειδής θηλή από μερικές εκατοντάδες έως μερικές χιλιάδες γευστικούς κάλυκες, ενώ μια περιχαρακωμένη θηλή 100-200. (Spielman, 1998) Συνολικά υπολογίζεται ότι ένας ενήλικος άνθρωπος έχει περίπου 3.000 με 10.000 γευστικούς κάλυκες, ενώ τα παιδιά διαθέτουν ακόμη περισσότερους. (Guyton, 2006) Οι γευστικοί κάλυκες αποτελούν σχηματισμούς που δημιουργούνται από 30-100 δίπολα νευροεπιθηλιακά κύτταρα (τα κύτταρα των γευστικών υποδοχέων), μαζί με υποστηρικτικά κύτταρα. Οι εξωτερικές άκρες των γευστικών κυττάρων είναι διευθετημένες γύρω από τον

γευστικό πόρο, και διαθέτουν μικρολάχνες που προεξέχουν με κατεύθυνση προς τη στοματική κοιλότητα. (Chaudhari and Roper, 2010) Σε αντίθεση με άλλα αισθητήρια συστήματα που έχουν περιφερικούς νευρικούς υποδοχείς, το σύστημα της γεύσης έχει επιθηλιακά κύτταρα-υποδοχείς που ανανεώνονται συνεχώς και με αυτόν τον τρόπο εξασφαλίζεται η άμεση αντικατάσταση των γευστικών κυττάρων που έχουν υποστεί καταστροφή ή εκφύλιση. Τα γευστικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από ταχεία αναγέννηση σε διάστημα 10 ημερών, σχεδόν δύο φορές πιο γρήγορα σε σύγκριση με άλλα επιθηλιακά κύτταρα. (Kubale, 2010)

Οι γευστικοί κάλυκες νευρώνονται από αισθητήρια νεύρα των οποίων τα σώματα βρίσκονται σε αθροίσματα κοντά στον εγκέφαλο (γονάτιο, λιθοειδές και οζώδες γάγγλιο). Στους ενήλικες, κάθε γευστικός κάλυκας νευρώνεται από 3-14 αισθητήριους γαγγλιακούς νευρώνες, ανάλογα με το είδος του οργανισμού και την περιοχή του στόματος (γλώσσα, ουρανίσκος). Οι νευρικές ίνες αναμειγνύονται με ένα πλούσιο πλέγμα από άλλες νευρικές ίνες κάτω από το γλωσσικό επιθήλιο. Λόγω της απουσίας κατάλληλων ιχνηθετών, είναι δύσκολο να διαπιστωθεί αν κάποια ίνα μεταφέρει πληροφορίες γεύσης πόνου, αφής ή θερμικών σημάτων. Ορισμένες από τις νευρικές ίνες διεισδύουν τη βασική μεμβράνη και εισέρχονται στους γευστικούς κάλυκες. Παρόλο που μερικές ίνες καταλήγουν στις συναπτικές δομές των κυττάρων τύπου III, άλλες πορεύονται πολύ κοντά στα γευστικά κύτταρα χωρίς όμως να σχηματίζουν εξειδικευμένες συνάψεις. Από τη συντονισμένη δράση των κυττάρων τύπου I, II και III πραγματοποιείται η αντίληψη της γεύσης. (Chaudhari and Roper, 2010)

1.5.2 Τα γευστικά κύτταρα

Τα βασικά είδη των κυττάρων που απαρτίζουν το γευστικό κάλυκα είναι τέσσερα (κύτταρα τύπου I, II, III και IV) και κάθε γευστικός κάλυκας περιλαμβάνει 50 έως 150 γευστικά κύτταρα. Η μεταξύ τους διάκριση γίνεται με βάση τα μικροσκοπικά χαρακτηριστικά, τα πρότυπα της γονιδιακής έκφρασης και το λειτουργικό ρόλο για κάθε τύπο. Τα κύτταρα τύπου I, II, III είναι διαφοροποιημένα, βρίσκονται εκτεθειμένα στη στοματική κοιλότητα και αλληλεπιδρούν με το γευστικό ερέθισμα, μέσω πρωτεϊνικών υποδοχέων. (Bachmanov et al., 2014)

1.5.2.α Κύτταρα τύπου I.

Τα κύτταρα τύπου I είναι τα πιο άφθονα στους γευστικούς κάλυκες με εκτενείς κυτταροπλασματικές προεκτάσεις που εγκολπώνουν άλλα, γειτονικά κύτταρα. Στα τύπου I κύτταρα εκφράζεται ο GLAST, μεταφορέας του γλουταμινικού, γεγονός που αποτελεί ένδειξη ότι μπορεί να εμπλέκονται στη μεταφορά του γλουταμινικού. (Lawton et al., 2000) Επίσης, στα

κύτταρα αυτά εκφράζεται η NTPDάση 2, μια νουκλεοτιδάση προσδεμένη στην κυτταρική μεμβράνη που υδρολύει το εξωκυτταρικό ATP. (Bartel et al., 2006) Το ATP δρα ως νευροδιαβιβαστής στα γευστικά κύτταρα, ενώ και το γλουταμινικό είναι ένας υποψήφιος νευροδιαβιβαστής. Επομένως, τα κύτταρα τύπου I φαίνεται να εμπλέκονται στην τερματική συναπτική μετάδοση καθώς και στον περιορισμό της εξάπλωσης των νευροδιαβιβαστών, ένας ρόλος που, στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα, εκτελείται από τα νευρογλοιακά κύτταρα.

Στα κύτταρα τύπου I εκφράζεται και ο ROMK, που πιθανώς εμπλέκεται στην ομοιόσταση του καλίου εντός των γευστικών καλύκων. (Dvoryanchikov et al., 2009) Κατά τη διάρκεια διαδοχικών δυναμικών ενεργείας που προκαλούνται από έντονη γευστική διέγερση, τα τύπου I κύτταρα πιθανώς εξυπηρετούν στην εξάλειψη των ιόντων K^+ που θα μπορούσαν να συγκεντρωθούν στον περιορισμένο διάμεσο κυτταρικό χώρο και να μειώσουν έτσι τη διέγερση των κυττάρων τύπου II και III. (Chaudhari and Roper, 2010)

Τέλος, ο συγκεκριμένος κυτταρικός τύπος, φαίνεται να παρουσιάζει ιοντική αγωγιμότητα που εμπλέκεται στη δημιουργία της αίσθησης του αλμυρού. (Vandenbeuch et al., 2008) Βέβαια, παρόλο που τα κύτταρα τύπου I βρίσκονται γενικά σε αφθονία, οι γνώσεις που υπάρχουν για αυτά είναι λίγες σε σχέση με τα κύτταρα τύπου II, III και IV.

1.5.2.β Κύτταρα τύπου II

Τα κύτταρα τύπου II εμφανίζουν ενσωματωμένους στη μεμβράνη τους υποδοχείς της πικρής, γλυκιάς και umami γεύσης. Οι γευστικοί αυτοί υποδοχείς είναι συζευγμένοι με πρωτεΐνες G (G protein-coupled receptors, GPCR) με 7 διαμεμβρανικά τμήματα. Επιπλέον, στα συγκεκριμένα κύτταρα φαίνεται να εκφράζονται τασεοευαίσθητοι δίαυλοι Na^+ και K^+ , οι οποίοι είναι απαραίτητοι για την παραγωγή δυναμικών ενεργείας, καθώς και υπομονάδες ημιδιαύλων που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην έκκριση ATP που προκαλείται από γευστικό ερέθισμα. (Dotson et al., 2013) Κάθε κύτταρο τύπου II φέρει υποδοχείς συζευγμένους με πρωτεΐνες G, εξειδικευμένους για μια μόνο γεύση, όχι δύο μαζί συγχρόνως, ωστόσο δεν φαίνεται να διεγείρονται άμεσα από όξινες ή αλμυρές ουσίες. (Nelson et al., 2001) Παραδόξως, ο κυτταρικός αυτός τύπος δεν σχηματίζει συνάψεις. Αντιθέτως, προσαγωγές νευρικές ίνες παρατίθενται πολύ κοντά σε αυτά τα κύτταρα. Τα σήματα μεταδίδονται με αντισυμβατικούς μηχανισμούς από τα κύτταρα-υποδοχείς στις προσαγωγές νευρικές ίνες ή σε άλλα κύτταρα εντός του γευστικού κάλυκα, δηλαδή χωρίς τη μεσολάβηση συναπτικών κυστιδίων. (Chaudhari and Roper, 2010)

1.5.2.γ Κύτταρα τύπου III

Γενικά, η βιβλιογραφία αναφέρει ότι στα κύτταρα τύπου III εκφράζονται πρωτεΐνες, οι οποίες σχετίζονται με τη δημιουργία συνάψεων, και ότι τα ίδια σχηματίζουν συναπτικές συνδέσεις με νευρικές απολήξεις. Λόγω της έκφρασης συναπτικών πρωτεϊνών και της εκπόλωσης που εμφανίζουν, η οποία σχετίζεται με το Ca^{2+} , τα κύτταρα τύπου III ονομάζονται «προσυναπτικά». (DeFazio et al., 2006) Τα κύτταρα αυτά, εκφράζουν ποικιλία γονιδίων που προσομοιάζουν νευρώνες, όπως το NCAM, μιας πρωτεΐνης που σχετίζεται με την προσκόλληση κυττάρων. Επίσης, εκφράζουν ένζυμα για τη σύνθεση δύο τουλάχιστον νευροδιαβιβαστών καθώς και τασεο-εξαρτώμενων διαύλων Ca^{2+} που σχετίζονται με την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών. (DeFazio et al., 2006, Dvoryanchikov et al., 2007) Τα κύτταρα τύπου III διεγείρονται εύκολα και εκφράζουν τασεο-εξαρτώμενους διαύλους Na^+ και K^+ , αναπτύσσοντας δυναμικά ενεργείας. (Medler et al., 2003) Η προέλευση των νευρικών ινών που συνάπτονται με τα κύτταρα τύπου III δεν είναι γνωστή. Τα κύτταρα αυτά αποκρίνονται άμεσα σε όξινα γευστικά ερεθίσματα καθώς και σε ανθρακούχα διαλύματα και είναι υπεύθυνα για την αντίχγευση αυτών των αισθήσεων. (Huang et al., 2006) (Chandrashekar et al., 2009) Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό των προσυναπτικών κυττάρων είναι ότι δέχονται και ενσωματώνουν εισερχόμενα σήματα από τα κύτταρα τύπου II. Για το λόγο αυτό, στον ακέραιο γευστικό κάλυκα, σε αντίθεση με τους γευστικούς υποδοχείς, τα προσυναπτικά κύτταρα δεν ρυθμίζουν συγκεκριμένες γεύσεις αλλά αποκρίνονται ευρέως σε γλυκές, αλμυρές, πικρές και umami ουσίες. Παρόλο που τα κύτταρα αυτά διαθέτουν αρκετές ιδιότητες νευρώνων, δεν ανήκουν σε αυτή την κατηγορία. (Tomchik et al., 2007)

1.5.2.δ Κύτταρα τύπου IV

Τα κύτταρα τύπου IV ή βασικά κύτταρα είναι σφαιρικά ή ωοειδή κύτταρα που δεν επεκτείνουν τις δραστηριότητές τους εντός του γευστικού πόρου. Συνήθως πρόκειται για αδιαφοροποίητα ή ανώριμα γευστικά κύτταρα. (Farbman, 1965) Δεν είναι ξεκάθαρο αν τα βασικά κύτταρα εντός των γευστικών καλύκων αντιπροσωπεύουν μία κοινή ομάδα αδιαφοροποίητων κυττάρων. Ο ακριβής ρόλος τους παραμένει αδιευκρίνιστος. (Tomchik et al., 2007, Suzuki, 2007)

1.5.3 Γευστικοί υποδοχείς

Οι γευστικοί υποδοχείς λειτουργούν ως χημειοϋποδοχείς που αλληλεπιδρούν με ένα γευστικό ερέθισμα, ή ως προσδέτες για τη μετάδοση μηνυμάτων στον εγκέφαλο, με αποτέλεσμα την αντίληψη γεύσης. Ανάμεσα στα γευστικά ερεθίσματα που μπορούν να διαπεράσουν την κυτταροπλασματική μεμβράνη των γευστικών κυττάρων βρίσκεται το νάτριο, τα πρωτόνια καθώς και κάποιες πικρές και γλυκιές ουσίες. Αν και έχει προταθεί ότι αρκετές πρωτεΐνες λειτουργούν ως γευστικοί υποδοχείς, δεν έχουν αναγνωριστεί όλες ομόφωνα ως τέτοιοι. Αυτό συμβαίνει επειδή, για να θεωρηθεί ότι μια πρωτεΐνη λειτουργεί ως γευστικός υποδοχέας, πρέπει να πληρούνται τα ακόλουθα κριτήρια: α) πρέπει να εξακριβωθεί η μοριακή ταυτότητα του υποψήφιου υποδοχέα, β) πρέπει να επιβεβαιωθεί η έκφρασή του σε κύτταρα γευστικών υποδοχέων (TRCs), γ) πρέπει να προσδιοριστούν οι κατάλληλοι προσδέτες και (δ) πρέπει να αποδειχθεί ότι αλλαγές στον γευστικό υποδοχέα επιφέρουν αλλαγές και στη λειτουργία της γεύσης. (Bachmanov and Beauchamp, 2007a)

1.5.3.α Υποδοχείς της γλυκιάς γεύσης

Στις αρχές του 21^{ου} αιώνα πραγματοποιήθηκε μια σημαντική ανακάλυψη, σύμφωνα με την οποία η ανίχνευση της γλυκιάς γεύσης πραγματοποιείται, κατά κύριο λόγο, από έναν μόνο υποδοχέα. Ο υποδοχέας αυτός αποτελείται από δύο διακριτούς υποδοχείς, συζευγμένους με G-πρωτεΐνες (GPCR), τους T1R2 και T1R3. (Liman et al., 2014) Ο υποδοχέας της γλυκιάς γεύσης T1R2 / T1R3 ανταποκρίνεται σε διάφορες χημικά διακριτές ενώσεις, όπως φυσικά σάκχαρα, μη θερμιδικά τεχνητά και φυσικά γλυκαντικά, μερικά D-αμινοξέα και πρωτεΐνες γλυκιάς γεύσης. (Behrens and Meyerhof, 2011) Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι το T1R3 έχει την ικανότητα να σχηματίζει ένα ομοδιμερές T1R3/ T1R3, το οποίο είναι ευαίσθητο σε μονοσακχαρίτες και δισακχαρίτες, αλλά μόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η υπομονάδα T1R3 φαίνεται να συνδέεται με το T1R1 για να σχηματιστεί ο ετεροδιμερής υποδοχέας του umami (T1R1 / T1R3), το οποίο είναι ευαίσθητο σε L-αμινοξέα, όπως το γλουταμινικό μονονάτριο. Η λειτουργική ετερόλογη έκφραση των T1R1 και T1R2 και μόνο, αποκάλυψε ότι αυτές οι υπομονάδες δεν είναι ενεργές από μόνες τους. Οι υπομονάδες T1R1, T1R2 και T1R3 είναι μέλη της μικρής οικογένειας της κατηγορίας C των GPCRs. Οι πιο μελετημένοι GPCR αυτής της κατηγορίας περιλαμβάνουν την οικογένεια των μεταβοτροπικών υποδοχέων του γλουταμινικού, τους υποδοχείς ασβεστίου και τους υποδοχείς GABA

(νευροδιαβιβαστές αμινο-βουτυρικού οξέως). (Pin et al., 2004) Οι υποδοχείς που ανήκουν στην κατηγορία C φαίνεται να έχουν παρόμοια δομή, η οποία συμπεριλαμβάνει μια μεγάλη εξωκυτταρική αμινοτελική περιοχή (ATD). Η συγκεκριμένη περιοχή εμπεριέχει μία δομή που μοιάζει με κοχύλι, την εντομοπαγίδα της Αφροδίτης (VFT), καθώς και έναν μικρό, πλούσιο σε κυστεΐνη τομέα, ο οποίος συνδέει το ATD με μια διαμεμβρανική περιοχή με επτά έλικες και ένα ενδοκυτταρικό καρβοξυτελικό άκρο, χαρακτηριστικό των GPCRs. (Gravina et al., 2013)

Παρόλο που οι T1R είναι σχεδόν κοινοί στα περισσότερα είδη (με περίπου 70% αντιστοιχία της αλληλουχίας των αμινοξέων μεταξύ ανθρώπων και τρωκτικών), αρκετές μελέτες αποκάλυψαν διαφορές στην αντίληψη της γλυκιάς γεύσης μεταξύ των ειδών. Για παράδειγμα, τα τεχνητά γλυκαντικά, συμπεριλαμβανομένων της ασπαρτάμης, της νεοτάμης, του κυκλαμικού οξέως και της νεοεσπεριδίνης, καθώς και πρωτεΐνες γλυκιάς γεύσης, όπως η μπραζείνη, γίνονται αντιληπτές από τους ανθρώπους αλλά όχι από τα τρωκτικά. Χρησιμοποιώντας τεχνητούς T1R2 / T1R3 υποδοχείς τρωκτικού-ανθρώπου, μελέτες του υποδοχέα της γλυκιάς γεύσης έδειξαν ότι υπάρχουν τουλάχιστον τέσσερα σημεία πρόσδεσης γλυκών ενώσεων. Επίσης, πειραματικές μελέτες σε ποντίκια φανέρωσαν ότι, αν και ο T1R2 / T1R3 είναι ο κύριος υποδοχέας της γλυκιάς γεύσης, σε περιπτώσεις όπου το T1R3 γονίδιο κατέστη μη λειτουργικό, είναι πιθανό να δρουν και άλλοι μηχανισμοί ανίχνευσης της γλυκιάς γεύσης. (Laffitte et al., 2014)

Στη στοματική κοιλότητα, οι γλυκές ενώσεις αλληλεπιδρούν με τους ανιχνευτές γεύσης που εκφράζονται στις μεμβράνες κυττάρων των γευστικών υποδοχέων. Αυτά τα γευστικά κύτταρα βρίσκονται ως σύμπλοκα εντός των γευστικών καλύκων. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα γλυκιάς γεύσης στους γευστικούς κάλυκες από γλυκές ενώσεις προκαλεί μια σειρά ενδοκυτταρικών αντιδράσεων που οδηγούν στην εκπόλωση των κυττάρων των γευστικών υποδοχέων. (Laffitte et al., 2014) Τα κύρια συμβάντα της μεταγωγής του σήματος έχουν αναγνωρισθεί και είναι τα ακόλουθα: Η δέσμευση γλυκών ενώσεων από τον υποδοχέα T1R2 / T1R3 έχει ως αποτέλεσμα τη διάσπαση της ετεροτριμερούς G πρωτεΐνης, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση των υπομονάδων Gβγ από τους GPCR και την αλληλεπίδρασή τους με τη φωσφολιπάση C (PLC-β2). Στη συνέχεια, η PLC-β2 διεγείρει τη διακυλογλυκερόλη και τη σύνθεση δευτέρων διαβιβαστών, όπως η 1,4,5-τριφωσφορική ινositόλη (IP3). Η IP3 ανοίγει IP3R3 διαύλους ιόντων στο ενδοπλασματικό δίκτυο, απελευθερώνοντας Ca^{2+} στο κυτταρόπλασμα των γευστικών κυττάρων. Το Ca^{2+} ανοίγει τους διαύλους TRPM5 και επιτρέπει την εισροή κατιόντων στο κύτταρο, τα οποία το εκπολώνουν, με αποτέλεσμα την έκκριση του ATP, μέσω των ημιδιαύλων στον εξωκυττάριο χώρο. (Kubale, 2010) Αυτός ο μηχανισμός μεταγωγής, είναι κοινός για την ανίχνευση της γλυκιάς, της πικρής και της umami γεύσης. (Iwatsuki et al., 2012)

1.5.3.β Υποδοχείς της πικρής γεύσης

Η πικρή γεύση είναι η πιο πολύπλοκη από τις πέντε βασικές γεύσεις και είναι υπεύθυνη για την αναγνώριση τοξικών ουσιών. Ως υποδοχείς πικρής γεύσης στα θηλαστικά, λειτουργούν υποδοχείς συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες (GPCRs) από την οικογένεια των T2R υποδοχέων, οι οποίοι έχουν συγγενική δομή με τη ροδοψίνη και το πλήθος τους κυμαίνεται από 3 έως 49, αναλόγως με το είδος. (Bachmanov et al., 2014, Liman et al., 2014) Οι υποδοχείς αυτοί είναι πρωτεΐνες με 7 διαμεμβρανικές έλικες (7TM receptors) και βραχεία αμινοτελικά άκρα. (Kubale, 2010) Μερικά είδη διαθέτουν και ψευδογονίδια, εκτός από τα λειτουργικά γονίδια T2R. Στον άνθρωπο υπάρχουν 25 πιθανώς λειτουργικά T2R γονίδια και αρκετά ψευδογονίδια, τα οποία διαφοροποιούνται μεταξύ τους κατά 25-89% της αλληλουχίας των αμινοξέων τους και εντοπίζονται σε 3 διαφορετικές χρωμοσωμικές θέσεις (12p13, 7q31 και 5p15). (Kubale, 2010) Τα σύμβολα για τα γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες T2R ξεκινούν με TAS2R (σε ανθρώπους) ή Tas2r (σε άλλα είδη), με τα γονίδια να ονομάζονται υποδοχείς γεύσης, τύπος 2, μέλος n. Εκτός από τις διαφορές στα γράμματα των συμβόλων (κεφαλαία ή πεζά), τα γονίδια T2R ανθρώπου και ποντικού μπορούν επίσης να διακριθούν με αριθμούς μελών: λιγότερων από 100 για ανθρώπινα γονίδια (π.χ. TAS2R1-TAS2R65), έναντι περισσότερων από 100 για γονίδια ποντικού (π.χ. Tas2r102 -Tas2r146). (Bachmanov et al., 2014) Τα γονίδια και οι πρωτεΐνες άλλων ειδών μπορούν να διακριθούν προσθέτοντας πεζά γράμματα που υποδεικνύουν τα είδη, για παράδειγμα rT2R9 για τον αρουραίο. Σε πολλά είδη, τα γονίδια T2R δημιουργούν σύμπλοκα σε μερικές χρωμοσωμικές θέσεις. Για παράδειγμα, τα ανθρώπινα γονίδια T2R αντιστοιχούν στα χρωμοσώματα 5, 7 και 12, ενώ τα γονίδια T2R ποντικού αντιστοιχούν στα χρωμοσώματα 2, 6 και 15. (Pydi et al., 2014) Τα γονίδια T2R δεν διαθέτουν ιντρόνια, τουλάχιστον στην κωδικοποιητική περιοχή τους, και κωδικοποιούν πρωτεΐνες GPCR που αποτελούνται από περίπου 300-330 αμινοξέα και έχουν ένα βραχύ εξωκυτταρικό αμινοτελικό άκρο.

Ο αριθμός των ενώσεων που αντιλαμβάνονται οι άνθρωποι ως πικρές είναι πολύ μεγαλύτερος από τον αριθμό των ανθρώπινων γονιδίων TAS2R, υπονοώντας ότι κάθε ανθρώπινο T2R ανταποκρίνεται σε περισσότερους από έναν προσδέτες της πικρής γεύσης. (Gravina et al., 2013) Σύμφωνα με αυτό, αρκετοί T2Rs είναι ευρέως συντονισμένοι για την ανίχνευση ερεθισμάτων διαφορετικών κατηγοριών χημικών ουσιών, ενώ άλλοι φαίνεται να έχουν πιο εξειδικευμένη δράση, καθώς ενεργοποιούνται από έναν ή μερικούς μόνο αγωνιστές. Έχει προταθεί ότι διαφορετικά αλληλόμορφα T2R μπορεί να έχουν διαφορετικά προφίλ εξειδίκευσης προσδετών. Έτσι, το πλήθος των υποδοχέων της πικρής γεύσης μπορεί να μην περιορίζεται από τον αριθμό των γονιδίων TAS2R αλλά να περιλαμβάνει τόσους υποδοχείς όσα και τα TAS2R αλληλόμορφα. Συγκριτικά με δεδομένα από μελέτες σε ανθρώπους, φαίνεται ότι λίγοι μόνο

προσδέτες έχουν επιβεβαιωθεί πειραματικά για άλλα είδη. Εκτός από την ενεργοποίηση πρωτεϊνών υποδοχέα T2R, μερικές πικρές ενώσεις μπορούν να αλληλεπιδράσουν και με διαύλους ιόντων στην κυτταρική μεμβράνη. (Maehashi and Huang, 2009)

1.5.3.γ Υποδοχείς της αλμυρής γεύσης

Μελέτες στο παρελθόν είχαν προτείνει ότι υπάρχουν τουλάχιστον δύο μεταγωγικές οδοί για την αλμυρή γεύση. Αυτή η υπόθεση βασίστηκε σε ευρήματα που έδειχναν ότι η αμιλορίδη, ένα καλιοσυντηρητικό διουρητικό, μερικώς καταστέλλει τις γευστικές αποκρίσεις σε άλατα νατρίου και λιθίου. (Schiffman et al., 1983) Επειδή η αμιλορίδη παρεμποδίζει τον επιθηλιακό διάυλο νατρίου (ENaC), το τμήμα των γευστικών αποκρίσεων που καταστέλλεται από την αμιλορίδη (ευαίσθητο σε αμιλορίδη), φαίνεται ότι μεσολαβείται από τον ENaC. Το τμήμα της γευστικής απόκρισης που δεν αναστέλλεται από την αμιλορίδη θεωρείται ότι δεν είναι ευαίσθητο σε αυτή. Οι ευαίσθητες και μη σε αμιλορίδη μεταγωγικές οδοί της αλμυρής γεύσης έχουν διαφορετικές μεταξύ τους ιδιότητες. Ο ευαίσθητος σε αμιλορίδη μηχανισμός είναι εκλεκτικός σε κατιόντα (Na^+ και Li^+), ενώ ο μη ευαίσθητος με αμιλορίδη μηχανισμός δεν είναι επιλεκτικός σε αυτά και μπορεί να ενεργοποιηθεί τόσο με άλατα νατρίου όσο και με άλατα που δεν περιέχουν νάτριο, όπως το KCl και το NH_4Cl . (Bachmanov et al., 2014)

Ο επιθηλιακός διάυλος νατρίου είναι μέλος της υπερ-οικογένειας των ιοντικών διαύλων Deg / ENaC. Ο διάυλος ENaC είναι ένα ετερομερές που αποτελείται από διάφορες υπομονάδες: α, β, γ και / ή δ. Κάθε υπομονάδα έχει δύο διαμεμβρανικές περιοχές και κωδικοποιείται από ένα ξεχωριστό γονίδιο. Στους ανθρώπους, οι διάυλοι ENaC έχουν τέσσερις υπομονάδες, τις α, β, γ και δ, που κωδικοποιούνται από τα γονίδια SCNN1A, SCNN1B, SCNN1G και SCNN1D και SCNN1D αντίστοιχα, ενώ τα ποντίκια και οι αρουραίοι στερούνται της υπομονάδας ENaCδ. (Kellenberger and Schild, 2002) Τα γονίδια για τις υπομονάδες ENaC β και γ συνδέονται στενά μεταξύ τους και εντοπίζονται σε ανθρώπους στο χρωμόσωμα 16 και σε ποντίκια σε μια περιοχή του χρωμοσώματος 7. Το γονίδιο ENaCα βρίσκεται στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 12, ενώ στο ποντίκι βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6, και τέλος, το ανθρώπινο ENaCδ βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1, ενώ στο ποντίκι είναι ψευδογονίδιο και βρίσκεται στο χρωμόσωμα 4. (Bachmanov et al., 2001)

Ο ENaC εμπλέκεται στην επιθηλιακή μεταφορά ιόντων σε διάφορους ιστούς (π.χ. στο νεφρό, πνεύμονα). Κατά αντιστοιχία, οι υπομονάδες του συγκεκριμένου διαύλου εκφράζονται σε πολλούς επιθηλιακούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των γευστικών και μη κυττάρων της γλώσσας. (Li et al., 1994) Με βάση την καταστολή των γευστικών αποκρίσεων στο νάτριο από

την αμιλορίδη, σε ορισμένα είδη, και με βάση την έκφραση του ENaC στους γευστικούς ιστούς, προτάθηκε ο επιθηλιακός διάυλος νατρίου ENaC ως υποψήφια συνιστώσα του συστήματος μεταγωγής της αλμυρής γεύσης. (Lindemann, 1997) Πρόσφατες μελέτες σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια, στα οποία έλειπε ο ENaC στα γευστικά κύτταρα επιβεβαίωσε οριστικά τη σημασία αυτού του διαύλου στην αντίληψη της αλμυρής γεύσης. Ωστόσο, δεν είναι ακόμη σαφές ποιοι άλλοι παράγοντες εμπλέκονται στο ευαίσθητο στην αμιλορίδη μονοπάτι μεταγωγής της αλμυρής γεύσης ή πώς αλληλεπιδρούν με τον ENaC. (Chandrashekar et al., 2010)

Οι μηχανισμοί για τη μεταγωγή της αλμυρής γεύσης που δεν εμφανίζουν ευαισθησία στην αμιλορίδη και επιλεκτικότητα σε κατιόντα είναι ακόμη λιγότερο κατανοητοί. Προηγούμενες μελέτες πρότειναν ότι οι συγκεκριμένοι μηχανισμοί μπορούν να εξηγηθούν από τη διάχυση του νατρίου μέσω στεγανών συνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων, οι οποίοι είναι αδιαπέραστοι από την αμιλορίδη. Ως αποτέλεσμα, το Na^+ θα μπορούσε να διεγείρει τα κύτταρα της γεύσης μέσω των διαύλων ENaC της πλασματικής μεμβράνης, οι οποίοι δεν είναι προσιτοί και, επομένως, δεν εμποδίζονται από την αμιλορίδη. (Ye et al., 1993, Mierson et al., 1996) Ωστόσο, αυτή η υπόθεση της παρακυτταρικής οδού σύντομα απορρίφθηκε. Στη συνέχεια, προτάθηκε ότι το ανιόν Cl^- είναι υπεύθυνο για τη μη-ευαίσθητη στην αμιλορίδη αλμυρή γεύση, αλλά πειράματα με γνωστούς μηχανισμούς διαμεμβρανικής μεταφοράς του Cl^- δεν επιβεβαίωσαν τη συμμετοχή του στην αλμυρή γεύση. (Elliott and Simon, 1990) Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι συμπυκνωμένα διαλύματα νατριούχων και μη αλάτων ενεργοποιούν δύο πληθυσμούς γευστικών κυττάρων: τα κύτταρα τύπου II, που εκφράζουν υποδοχείς T2R, τα οποία ενεργοποιούνται επίσης από πικρές ενώσεις και κύτταρα τύπου III, μερικά από τα οποία ενεργοποιούνται και από οξέα. Η ενεργοποίηση αυτών των κυττάρων από αλάτα ενεργοποιεί την απόκριση της γευστικής αποστροφής. (Oka et al., 2013) Ωστόσο, τα βιολογικά μόρια που μεσολαβούν στην απόκριση της μη ευαίσθητης στην αμιλορίδη αλμυρής γεύσης δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί, αν και έχουν προταθεί κάποια υποψήφια.

Ένας υποψήφιος υποδοχέας της αλμυρής γεύσης είναι ο TRPV1 (transient receptor potential). Ο υποδοχέας αυτός λαμβάνει και επεξεργάζεται επώδυνα θερμικά ερεθίσματα και ενεργοποιείται επίσης από την καψαϊκίνη, ένα πικάντικο συστατικό σε "καυτερές" πιπεριές τσίλι. (Caterina et al., 1997) Με βάση πειράματα πάνω στην καταγραφή της δραστηριότητας γευστικών νεύρων, χρησιμοποιώντας αγωνιστές και ανταγωνιστές του TRPV1 σε ποντίκια, προτάθηκε ότι ένα αλληλόμορφο του TRPV1 λειτουργεί ως μη-ευαίσθητος στην αμιλορίδη υποδοχέας της αλμυρής γεύσης σε τρωκτικά. (Lyll et al., 2004) Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες δεν επιβεβαίωσαν τα αρχικά ευρήματα των επιδράσεων των ανταγωνιστών TRPV1 και του γονιδίου *Trpv1* στις αποκρίσεις των γευστικών νεύρων. (Ruiz et al., 2006, Treesukosol et al., 2007) Επιπλέον,

δεδομένα σχετικά με την έκφραση του TRPV1 στον ιστό της γλώσσας είναι εξίσου ασύμβατα με τον ρόλο του στην αντίληψη της αλμυρής γεύσης. (Breza and Contreras, 2012) Ορισμένες ανοσοϊστοχημικές μελέτες ανίχνευσαν την έκφρασή του σε προσαγωγούς νευρώνες του αρουραίου, οι οποίοι νευρώνουν την στοματική κοιλότητα αλλά δεν συναντώνται σε γευστικά κύτταρα. Σε άλλη μελέτη, έχει ανιχνευθεί ανοσοαντιδραστικότητα στον TRPV1 υποδοχέα σε κύτταρα γευστικών καλύκων αρουραίων, τα οποία εκφράζουν τους υποδοχείς T1R και T2R. (Moon et al., 2010) Εάν ο TRPV1 λειτουργεί ως υποδοχέας της αλμυρής γεύσης, τότε η συν-έκφρασή του με τους T1Rs υποδοχείς υποδηλώνει ότι τα άλατα πρέπει να ενεργοποιούν τα κύτταρα που εκφράζουν T1R γονίδια, γεγονός που αντιφάσκει με κάποια ευρήματα. (Oka et al., 2013) Είναι πιθανό ότι το TRPV1 συμβάλλει στην αισθητηριακή απόκριση της στοματικής κοιλότητας στις αλμυρές ουσίες μέσω της έκφρασής του σε νευρικές απολήξεις του τριδύμου νεύρου, αλλά όχι σε κύτταρα γεύσης. (Smith et al., 2012)

Ένας δεύτερος υποψήφιος υποδοχέας της αλμυρής γεύσης που δεν είναι ευαίσθητος στην αμιλορίδη είναι ο TRPML3, ο οποίος, όπως και ο TRPV1, ανήκει στην οικογένεια των διαύλων κατιόντων. Ωστόσο, τα κύτταρα γευστικών υποδοχέων ποντικού δεν φαίνεται να εκφράζουν φυσιολογικά σημαντική ποσότητα TRPML3. (Castiglioni et al., 2011)

1.5.3.δ Υποδοχείς της όξινης γεύσης

Η όξινη γεύση ανιχνεύεται από ένα υποσύνολο κυττάρων των γευστικών υποδοχέων του επιθηλίου της γλώσσας και του ουρανίσκου, τα οποία αποκρίνονται σε όξινο pH και ασθενή οργανικά οξέα με ηλεκτρική δραστηριότητα. Με την πάροδο των χρόνων, έχουν προταθεί αρκετές ουσίες ως υποψήφιοι υποδοχείς της όξινης γεύσης, συμπεριλαμβανομένων των ASIC (οξεο-ευαίσθητο κανάλι ιόντων), των διαύλων HCNs (hyperpolarization and nucleotide gated channels), των διαύλων καλίου και, πιο πρόσφατα, των διαύλων TRP (transient receptor potential), PKD2L1 και PKD1L3. (Roper, 2007) Ωστόσο, προς το παρόν δεν υπάρχει καμία ένδειξη ότι κάποια από αυτές τις πρωτεΐνες μεσολαβεί στη αντίληψη της όξινης γεύσης. Εντούτοις, τα κύτταρα που εκφράζουν PKD2L1 γονίδια ανταποκρίνονται στο όξινο ερέθισμα και απαιτούνται για την αντίληψή του. (Chang et al., 2010b) Η απόκριση των κυττάρων που εκφράζουν PKD2L1 γονίδια, παρουσία οξέων, μεσολαβείται από έναν ασυνήθιστο διάυλο ιόντων, εκλεκτικό πρωτονίων. Η εκλεκτικότητα πρωτονίων επιτρέπει στα κύτταρα να αποκρίνονται σε οξέα, χωρίς παρεμβολή από Na^+ , η οποία μπορεί να ποικίλει ανεξάρτητα από

τη συγκέντρωση. Η μοριακή ταυτότητα της αντλίας πρωτονίων είναι προς το παρόν άγνωστη. (Liman et al., 2014)

Η είσοδος πρωτονίων σε κύτταρα της όξινης γεύσης προκαλεί κυτταρική οξείδωση, η οποία μπορεί να επηρεάσει την ικανότητά τους να στέλνουν σήματα. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η ενδοκυτταρική οξείδωση μπορεί να μπλοκάρει τη λειτουργία αρκετών K_{2P} , οι οποίοι είναι παθητικοί δίαυλοι διαρροής, απαραίτητοι για τον καθορισμό του δυναμικού ηρεμίας της κυτταρικής μεμβράνης, προκαλώντας έτσι περαιτέρω εκπόλωση του κυττάρου. (Lin et al., 2004)

Η ιδέα ότι η ενδοκυτταρική οξείδωση ενεργοποιεί κύτταρα της όξινης γεύσης είναι ελκυστική, καθώς θα μπορούσε να εξηγήσει γιατί, στο ίδιο pH, οξικό οξύ και άλλα ασθενή οξέα που διεισδύουν την κυτταρική μεμβράνη έχουν πιο έντονη όξινη γεύση σε σχέση με ισχυρά οξέα, όπως το HCl, που δεν διεισδύουν στην κυτταρική μεμβράνη. (Roper, 2007)

Εκτός από την ύπαρξη όξινων ερεθισμάτων, απαραίτητα είναι και τα κύτταρα που εκφράζουν PKD2L1 γονίδια, για την γευστική απόκριση στην ενανθράκωση (CO_2). Αυτή η απόκριση εξαρτάται από την παρουσία μιας καρβονικής ανυδράσης 4 (Car4), η οποία καταλύει την αντίδραση $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$. (Chandrashekar et al., 2009) Ο μηχανισμός με τον οποίο η Car4 συμβάλλει στην ενεργοποίηση των κυττάρων της ξινής γεύσης δεν είναι γνωστός. Μια πιθανότητα είναι ότι τα πρωτόνια που παράγονται από αυτή την ενζυμική αντίδραση εισέρχονται μέσω της αντλίας πρωτονίων εντός του κυττάρου και οδηγούν στην εκπόλωσή του.

Πρέπει να σημειωθεί ότι η απόκριση στα οξέα και η ενανθράκωση περιπλέκονται από το γεγονός ότι το σύστημα του τριδύμου νεύρου, το οποίο έντονα νευρώνει τη στοματική κοιλότητα, είναι επίσης ευαίσθητο σε αυτά τα ερεθίσματα. Ο υποδοχέας του TRPA1 εκφράζεται από αλγοϋποδοχείς και ενεργοποιείται από το διοξείδιο του άνθρακα και το οξικό οξύ, και ο υποδοχέας της καψαϊκίνης, TRPV1, ενεργοποιείται από εξωκυτταρικά πρωτόνια. (Tominaga et al., 1998) Επιπλέον, προσαγωγές νευρικές ίνες που νευρώνουν την στοματική κοιλότητα, διατηρούν την ευαισθησία τους στα οξέα, σε ποντίκια με πλήρη αγευσία. (Ohkuri et al., 2012)

1.5.3.ε Υποδοχείς της γεύσης umami

Το umami («εύγευστο» στα Ιαπωνικά) είναι η γεύση που προκαλείται από το γλουταμινικό μονονάτριο, από ορισμένα αμινοξέα (κυρίως το ασπαρτικό) και πιθανώς από άλλες ουσίες. (Liman et al., 2014) Αρκετοί υποδοχείς που δεσμεύουν το γλουταμινικό και / ή νουκλεοτίδια έχουν εντοπιστεί σε γευστικά κύτταρα γεύσης, συμπεριλαμβανομένου του ετεροδιμερούς T1R1/T1R3 (Li et al., 2002, Nelson et al., 2002), των ισομορφών των μεταβοτροπικών υποδοχέων του γλουταμινικού mGluR4, mGluR1 (San Gabriel et al., 2009a), mGluR2 και

mGluR3 (Toyono et al., 2007) και αρκετών ιοντοτρόπων υποδοχέων γλουταμινικού οξέως, όπως οι υποδοχείς του NMDA (N-μεθυλο-D-ασπαρτικό) και του καϊνικού οξέως. Ένα πρόβλημα στον προσδιορισμό του πιθανού ρόλου αυτών των υποδοχέων στη μεταγωγή της γεύσης είναι ότι, αφενός το γλουταμινικό λειτουργεί και ως νευροδιαβιβαστής, και αφετέρου ότι, προκειμένου οι υποδοχείς να μπορέσουν να θεωρηθούν ειδικοί για αναγνώριση γεύσης, πρέπει να εκφράζονται στην ακραία μεμβράνη των γευστικών κυττάρων (apical membrane) ώστε να έρχονται σε επαφή το γλουταμινικό στη στοματική κοιλότητα. (Kinnamon, 2009) Από την άποψη αυτή, τόσο οι NMDA υποδοχείς όσο και οι υποδοχείς τους καϊνικού έχουν εντοπιστεί στη μεμβράνη των γευστικών κυττάρων, όπου πιθανώς αποκρίνονται στο γλουταμινικό οξύ ως νευροδιαβιβαστή. (Caicedo et al., 2000) Ο καθοριστικός ρόλος ενός συγκεκριμένου υποδοχέα στη μεταγωγή της umami γεύσης απαιτεί να τροποποιείται η γεύση όταν ο υποδοχέας αφαιρείται γενετικά. Ο μόνος υποδοχέας για τον οποίο υπάρχουν αντίστοιχα γενετικά δεδομένα, είναι ο ετεροδιμερής T1R1/T1R3. Οι υποδοχείς T1R1/T1R3 της γεύσης umami ανήκουν στην κατηγορία C των GPCR και αντιδρούν ειδικά στο L-γλουταμινικό οξύ, ενώ δρουν συνεργιστικά με ριβονουκλεοτίδια όπως η 5-μονοφωσφορική ινοσίνη (IMP) και 5-μονοφωσφορική γουανοσίνη (GMP). (Kinnamon and Vandenbeuch, 2009) Περισσότερες λεπτομέρειες για τους υποδοχείς και τη μεταγωγή της συγκεκριμένης γεύσης ακολουθούν σε επόμενα κεφάλαια.

1.6 Μηχανισμός διέγερσης των γευστικών καλύκων

Η μεμβράνη των γευστικών κυττάρων, όπως συμβαίνει με τις μεμβράνες των περισσότερων αισθητηριακών κυττάρων, είναι αρνητικά φορτισμένη στο εσωτερικό, σε σχέση με το εξωτερικό μέρος της. Η εφαρμογή μιας γευστικής ουσίας στην επιφάνεια των γευστικών κυττάρων προκαλεί μερική απώλεια αυτού του αρνητικού δυναμικού, δηλαδή το κύτταρο γίνεται εκπολωμένο. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η πτώση του δυναμικού σχετίζεται με τη συγκέντρωση της διεγερτικής ουσίας. Αυτή η αλλαγή στο ηλεκτρικό δυναμικό των γευστικών κυττάρων ονομάζεται παραγωγικό δυναμικό ή δυναμικό του υποδοχέα. (Guyton, 2006)

Ο μηχανισμός με τον οποίο οι περισσότερες διεγερτικές ουσίες αντιδρούν με τους γευστικούς κάλυκες για να δημιουργήσουν το δυναμικό του υποδοχέα είναι η σύνδεση της ουσίας με έναν πρωτεϊνικό υποδοχέα, ο οποίος βρίσκεται στην εξωτερική επιφάνεια κυττάρων των γευστικών υποδοχέων. Αυτό, με τη σειρά του, ανοίγει διαύλους ιόντων, οι οποίοι επιτρέπουν θετικά φορτισμένα ιόντα νατρίου ή υδρογόνου να εισέλθουν και να εκπολώσουν το φυσιολογικό

αρνητικό φορτίο του κυττάρου. Στη συνέχεια, η ίδια η γευστική ένωση απομακρύνεται σταδιακά από τους γευστικούς κάλυκες με τη βοήθεια του σιέλου, ο οποίος απομακρύνει το ερέθισμα.

Ο τύπος του γευστικού υποδοχέα καθορίζει τον τύπο γεύσης που θα γίνει αντιληπτή. Για ιόντα νατρίου και υδρογόνου, τα οποία προκαλούν αλμυρή και όξινη γεύση, αντίστοιχα, οι πρωτεϊνικοί υποδοχείς ανοίγουν συγκεκριμένους διαύλους ιόντων στις μεμβράνες των γευστικών κυττάρων, ενεργοποιώντας έτσι τους υποδοχείς. Ωστόσο, για την γλυκιά και πικρή γεύση, τα πρωτεϊνικά μόρια-υποδοχείς βασίζονται για τη μετάδοση του γευστικού σήματος σε δεύτερους αγγελιοφόρους, οι οποίοι τα δημιουργούν μέσω ενδοκυτταρικών χημικών αλλαγών που επάγουν.

1.7 Μετάδοση των γευστικών μηνυμάτων στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

Κατά την πρώτη εφαρμογή του ερεθίσματος της γεύσης, ο ρυθμός εκφόρτισης των νευρικών ινών από τους γευστικούς κάλυκες αυξάνεται κατακόρυφα σε κλάσματα του δευτερολέπτου, αλλά στη συνέχεια προσαρμόζεται μέσα στα επόμενα δευτερόλεπτα σε ένα χαμηλότερο, σταθερό επίπεδο, όσο διαρκεί το γευστικό ερέθισμα. Έτσι, ένα ισχυρό άμεσο σήμα μεταδίδεται από το γευστικό νεύρο και ένα ασθενέστερο, συνεχές σήμα μεταδίδεται όσο ο γευστικός κάλυκας είναι εκτεθειμένος στο γευστικό ερέθισμα. (Bachmanov and Beauchamp, 2007a)

Αισθητηριακά σήματα από τους γευστικούς κάλυκες μεταδίδονται αρχικά στο υπογλώσσιο νεύρο, στη συνέχεια μέσα από τη χορδή του τυμπάνου (chorda tympani) στο προσωπικό νεύρο (VII), και τελικά στο εγκεφαλικό στέλεχος, μέσω της μονήρους δεσμίδας (NTS). Γευστικά σήματα από τις περιχαρακωμένες θηλές στο οπίσθιο μέρος της γλώσσας, καθώς και από άλλες περιοχές του στόματος και του λάρυγγα μεταδίδονται μέσω του γλωσσοφαρυγγικού νεύρου (IX) και καταλήγουν επίσης στο εγκεφαλικό στέλεχος. Τέλος, μερικά σήματα μεταδίδονται στη μονήρη δεσμίδα από τη βάση της γλώσσας και από μέρη της περιοχής του φάρυγγα μέσω του πνευμονογαστρικού νεύρου (X). (McCaughey, 2008)

Όλες οι γευστικές ίνες δημιουργούν συνάψεις στο οπίσθιο τμήμα του εγκεφαλικού στελέχους, στον πυρήνα της μονήρους δεσμίδας. Αυτός ο πυρήνας αποστέλλει νευρώνες δεύτερης τάξης σε μια μικρή περιοχή του οπίσθιου έσω κοιλιακού πυρήνα του θαλάμου (VPM), από όπου μεταδίδονται τρίτης τάξης νευρώνες στο κατώτερο άκρο της περιοχής του βρεγματικού λοβού του εγκεφάλου. Στη συνέχεια, εισχωρούν στην πλάγια σχισμή (του Sylvius) και καταλήγουν στον πρόσθιο νησιδιακό φλοιό (insula), ο οποίος αποτελεί κομμάτι του γευστικού φλοιού του εγκεφάλου G1. (Guyton, 2006)

1.8 Ο κώδικας της γεύσης

Γευστικές προσαγωγές νευρικές ίνες μεταδίδουν πληροφορίες από τους γευστικούς κάλυκες, στον εγκέφαλο. Ο τρόπος με τον οποίο η ενεργοποίηση των γευστικών υποδοχέων και των προσυναπτικών κυττάρων κατά τη διάρκεια της γευστικής διέγερσης μεταφράζεται σε κώδικα που καθορίζει διαφορετικές γευστικές ποιότητες (γλυκιά, πικρή, κ.λπ.), παραμένει ασαφής. Από τη μία πλευρά, έχει προταθεί ότι, εξειδικευμένες νευρικές ίνες είναι υπεύθυνες για τη μετάδοση κάθε γευστικής ποιότητας, για παράδειγμα συγκεκριμένα «πικρά» κύτταρα, ίνες και νευρώνες μεταφέρουν διαδοχικά τα μήνυμα της πικρής γεύσης στον εγκέφαλο. Από την άλλη πλευρά, έχει προταθεί η λειτουργία ενός συνδυαστικού συστήματος, στο οποίο περισσότερες από μία γευστικές ποιότητες κωδικοποιούνται από κάθε νευρική ίνα. (Chaudhari and Roper, 2010)

Το ερώτημα της κωδικοποίησης έχει απαντηθεί μέσω χειρισμών της γενετικής και με την αξιοποίηση διάφορων δοκιμών. Ηλεκτροφυσιολογικές καταγραφές από μονές προσαγωγές ίνες ή τα γονικά τους αισθητηριακά γαγγλία φανέρωσαν ότι ορισμένοι νευρώνες ανταποκρίνονται έντονα σε μια μοναδική ποιότητα γεύσης (συνήθως γλυκιά), αλλά έχουν πιο αδύναμες αποκρίσεις σε άλλες γεύσεις. Αντίθετα, άλλοι προσαγωγοί νευρώνες διεγείρονται από πολλαπλά γευστικά ερεθίσματα, δηλαδή είναι ευρέως αποκρινόμενοι. (Frank et al., 2008, Breza et al., 2010) Έτσι, οι προσαγωγοί γευστικοί νευρώνες παρουσιάζουν προφίλ απόκρισης παρόμοιο τόσο με εκείνο των λειτουργικά εξειδικευμένων κυττάρων των γευστικών υποδοχέων, όσο και με εκείνο των ευρέως αποκρινόμενων προσυναπτικών κυττάρων. Το μοτίβο της δραστηριότητας του προσαγωγού νευρώνα αντανακλά την ετερογένεια των αποκρίσεων των κυττάρων των γευστικών υποδοχέων και υποδεικνύει ότι, η νευρωνική δραστηριότητα που είναι υπεύθυνη για την κωδικοποίηση της γεύσης δεν ακολουθεί τη λογική μιας απλής επισημασμένης γραμμής που προαναφέρθηκε. (Tomchik et al., 2007)

Εν ολίγοις, όλα τα κύτταρα της γλυκιάς, πικρής και umami γεύσης εκκρίνουν τον ίδιο νευροδιαβιβαστή (ATP) σε προσαγωγές νευρικές ίνες. Διακριτές συνάψεις, οι οποίες θα μπορούσαν να συνδέσουν κύτταρα γευστικών υποδοχέων με αισθητηριακές προσαγωγές ίνες για τη μετάδοση μίας μόνο γευστικής ποιότητας ανά περίπτωση, δεν έχουν βρεθεί. Αν και μερικά γευστικά κύτταρα είναι αρκετά συντονισμένα με τη λειτουργία αισθητηριακών προσαγωγών νευρώνων, άλλα αποκρίνονται σε περισσότερες από μία γεύσεις. Έτσι, παραμένει ανοιχτό το ερώτημα για το πώς ακριβώς πληροφορίες που συλλέγονται από καλά διαφοροποιημένα κύτταρα-υποδοχείς των γευστικών καλύκων "κωδικοποιείται" για την τελική αντίληψη ξεχωριστών γευστικών ποιοτήτων. (Chaudhari and Roper, 2010)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : ΤΟ UMAMI ΣΤΗΝ ΑΡΧΑΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ Η ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ ΩΣ ΒΑΣΙΚΗ ΓΕΥΣΗ

2.1 Εισαγωγή : Φυσικές umami ουσίες

Στις αρχές του 20ου αιώνα, ο Ιάπωνας καθηγητής Kikunae Ikeda παρατήρησε ότι μια άγνωστη ποιότητα γεύσης, διαφορετική από τις τέσσερις βασικές (γλυκό, πικρό, ξινό και αλμυρό), ήταν παρούσα σε εξαιρετικά εύγευστα τρόφιμα. Συγκεκριμένα, ανίχνευσε αυτή τη γευστική ποιότητα και αναγνώρισε το L-γλουταμινικό οξύ ως βασικό συστατικό στο "dashi", ένα ζωμό ο οποίος αποτελεί τη βάση για πολλές σάλτσες, παρασκευάζεται από τα φύκια *Laminaria japonica* και παραδοσιακά χρησιμοποιείται στη ιαπωνική κουζίνα. Ο Ikeda ονόμασε αυτή τη γεύση "umami", από την ιαπωνική λέξη *umai* ("νόστιμο"), και ισχυρίστηκε ότι αποτελεί την πέμπτη βασική γεύση. (Beauchamp, 2009) Με βάση τα ευρήματα του Ikeda, μπορεί να υποτεθεί ότι η ευαίσθητη από του στόματος ανίχνευση του πρωτεϊνικού L-γλουταμινικού οξέως ή του γλουταμινικού μονονατρίου (MSG), η οποία παρουσιάζει χαμηλό κατώφλι αναγνώρισης (3,0 ή 1,5 mmol/kg, αντίστοιχα) οδήγησε τον πρωτόγονο άνθρωπο σε τρόφιμα πλούσια σε πρωτεΐνες. Για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα, η περιγραφή της γεύσης του umami από τον Ikeda, η οποία δημοσιεύτηκε στα Ιαπωνικά, παρέμενε μη αποδεκτή από τη δυτική επιστημονική κοινότητα. Αν και η ανακάλυψη του υποδοχέα της γεύσης umami το 2001 εδραίωσε το umami ως πέμπτη βασική γεύση, από μαγειρικής άποψης, η γεύση του umami δεν είναι καινούρια. Σάλτσες ψαριών που έχουν παραχθεί με φυσική ζύμωση και εκχυλίσματα λαχανικών και κρέατος χρησιμοποιούνται σε διάφορες κουζίνες παγκοσμίως για περισσότερο από 2000 χρόνια, όπως για παράδειγμα, η ρωμαϊκή σάλτσα *garum* (σάλτσα από γαύρο), τα ταϊλανδέζικα *nam pla* (σάλτσα ψαριού), τα βιετναμέζικα *nuoc mum tom cha* (ανάμικτη σάλτσα ψαριών), το ινδονησιακό *terasi* (σάλτσα γαρίδας), καθώς και το βρετανικό *beef tea* (ζωμός βοδινού) και οι συμπυκνωμένες γεύσεις τους. (Behrens et al., 2011)

Εκτός του L-γλουταμινικού οξέος και του αντίστοιχου άλατος (MSG), υδατικά διαλύματα L-ασπαρτικού οξέος καθώς και C₄-δικαρβοξυλικά οξέα, όπως το ηλεκτρικό και το τρυγικό οξύ αναφέρθηκε ότι εμφανίζουν ορισμένες γευστικές ιδιότητες, παρόμοιες με εκείνες του γλουταμινικού μονονατρίου MSG και, επιπλέον, το L-γαλακτικό οξύ έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει στην umami γεύση του βόειου κρέατος, καθώς και του ζωμού κρέατος. (Behrens et al., 2011) Ακόμη, 5'-ριβονουκλεοτίδια πουρίνης όπως η 5'-μονοφωσφορική γουανοσίνη (GMP), η 5'-μονοφωσφορική ινόςίνη (IMP, 39) και η 5'-μονοφωσφορική αδενοσίνη (AMP) προκαλούν την αίσθηση της γεύσης umami, με όρια αναγνώρισης 30 και 5 mmol/kg για GMP και IMP,

αντίστοιχα. (Dunkel and Hofmann, 2009) Τα δύο αυτά ριβονουκλεοτίδια φαίνεται να ενισχύουν συνεργιστικά την γεύση umami του MSG και να συμβάλλουν στην ελκυστική γεύση του κρέατος, των ψαριών, των θαλασσινών, των μανιταριών, καθώς και των προϊόντων διατροφής που περιέχουν μαγιά. Η ευχάριστη γεύση του umami που συναντάται σε ασιατικά φαγητά, προσδίδεται από τη συνδυαστική χρήση συστατικών όπως, για παράδειγμα, αφυδατωμένες νιφάδες παλαμίδας (bonito) πλούσιες σε IMP, λεντινούλες (μανιτάρια shiitake) πλούσια σε GMP, φύκια πλούσια σε L-γλουταμινικό, καθώς και ζυμωμένα προϊόντα όπως σάλτσα σόγιας και σάλτσες ψαριών με υψηλή περιεκτικότητα L-γλουταμινικού. (Yamaguchi and Ninomiya, 2000) Ο δυτικός κόσμος εκτιμά την ικανότητα γευστικής ενίσχυσης του umami, κυρίως όταν το γλουταμινικό οξύ βρίσκεται με τη μορφή ελεύθερου αμινοξέος, όπως στο εκχύλισμα βοδινού κρέατος, σε παλαιωμένα τυριά, ζαμπόν και ντομάτες.

Εκτός από το L-γλουταμινικό οξύ και τα ριβονουκλεοτίδια, έχουν βρεθεί και άλλα μόρια με umami γεύση σε διάφορες φυσικές πηγές. Ανάλυση των πεπτιδίων σε υδρολύματα φυτικών πρωτεϊνών αποκάλυψαν ότι πυρογλουταμυλ-πεπτίδια όπως τα pGlu- Pro-Ser, pGlu-Pro, pGlu-Pro-Glu και pGlu-Pro-Gln αποτελούν σημαντικά μόρια της umami γεύσης. (Schlichtherle-Cerny and Amado, 2002) Επιπλέον, η ενζυμική υδρόλυση πρωτεϊνών ψαριών αναφέρθηκε ότι οδηγεί σε εύγευστα προϊόντα που είναι πλούσια σε όξινα πεπτίδια όπως τα Asp-Glu-Ser, Glu-Asp-Glu, Thr-Glu και Ser-Glu-Glu. (Noguchi et al., 1975) Τέτοια όξινα δι- και τριπεπτίδια βρέθηκε ότι μόνα τους εμφανίζουν μια ασθενή umami γεύση, ωστόσο η γεύση τους αυτή ενισχύεται σημαντικά, παρουσία IMP. (Maehashi et al., 1999)

Η θερμική επεξεργασία, συμπεριλαμβανομένης της ξήρανσης, είναι γνωστή εδώ και πολύ καιρό για την ενισχυτική της επίδραση στη γεύση του umami, σε προϊόντα όπως οι λιαστές ντομάτες και τα μανιτάρια. Έτσι, αναπτύχθηκε μια ειδική προσέγγιση με σκοπό τη στοχευμένη ανακάλυψη γευστικών ουσιών και μορίων που ενισχύουν τη γεύση σε πολύπλοκα επεξεργασμένα τρόφιμα. Η προσέγγιση αυτή συνδυάζει τις τεχνικές προηγμένης ανάλυσης φυσικών προϊόντων με αναλυτικά ψυχοφυσικά εργαλεία και χρησιμοποιήθηκε συστηματικά για την αναγνώριση, κατηγοριοποίηση και ποσοτικοποίηση βασικών γευστικά ενεργών μεταβολιτών που παράγονται κατά την επεξεργασία της τροφής. (Toelstede and Hofmann, 2008b, Toelstede and Hofmann, 2008a) Εφαρμογή αυτής της μεθόδου αποκάλυψε ότι η ελκυστική γεύση αποξηραμένων μορχελών (είδος μανιταριού) οφείλεται στην ενίσχυση της umami γεύσης του L-γλουταμινικού από ενώσεις όπως το S-μηλικό οξύ και η β-D-γλυκοκυρανόζη. (Rotzoll et al., 2005) Το S-μηλικό οξύ δημιουργείται από τη μη ενζυμική γλυκοζυλίωση του D-μηλικού οξέως κατά την ξήρανση των μανιταριών.

Εκτός από την ταυτοποίηση τέτοιων φυσικών ενισχυτών της γεύσης umami σε ακατέργαστα προϊόντα διατροφής καθώς και σε επεξεργασμένα τρόφιμα μέσω της προαναφερθείσας προσέγγισης, άλλες αντίστοιχες στρατηγικές περιλαμβάνουν τη θερμική αντίδραση γνωστών απομονωμένων συστατικών τροφίμων, κάτω από πρότυπες για το συγκεκριμένο τρόφιμο συνθήκες, και την εξέταση των προϊόντων που σχηματίστηκαν από την αντίδραση για ικανότητα βελτίωσης της γεύσης. Ο έλεγχος πραγματοποιείται τόσο με ανθρώπινη δοκιμή, όσο και μέσω HPLC-MS/MS (Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης συνδεδεμένη με Φασματομετρία μάζας), η οποία επαληθεύει ότι οι συγκεκριμένες ουσίες προκύπτουν με φυσικό τρόπο στα τρόφιμα. (Behrens et al., 2011) Θερμική επεξεργασία της 5'-μονοφωσφορικής γουανοσίνης, παρουσία οξικού ή γαλακτικού οξέος, αναφέρθηκε ότι οδηγεί στη σύνθεση N-ακετυλο- και N-λακτοϋλο- 5'- μονοφωσφορικής γουανοσίνης, αντίστοιχα, οι οποίες εμφανίζουν έντονη umami γεύση. (de Rijke et al., 2007) Η ανίχνευση της N-λακτοϋλο- 5'- μονοφωσφορικής γουανοσίνης σε αποξηραμένη και ζυμωμένη παλαμίδα, χαρακτηριστική της ιαπωνικής κουζίνας με ανάλυση HPLC-MS επιβεβαίωσε τη φυσική της ύπαρξη στο συγκεκριμένο τρόφιμο. (Winkel et al., 2008)

2.2 Το umami στην αρχαία Ρώμη

Το umami, όπως προαναφέρθηκε, είναι χαρακτηριστική γεύση της ανατολικής κουζίνας. Ωστόσο, αρχαιολογικές μελέτες έχουν φανερώσει ότι η συγκεκριμένη γεύση καθόριζε, παράλληλα, μεγάλο μέρος της αρχαίας ρωμαϊκής κουζίνας, από το 2^ο π.Χ. αιώνα. Παρόλο που οι Ρωμαίοι δεν διέθεταν πολλά από τα τρόφιμα, τα οποία στη σημερινή εποχή βρίσκονται σε αφθονία, όπως οι ντομάτες και το σπανάκι, θεωρείται ότι κατανάλωναν άλλα τρόφιμα που είναι πλέον γνωστά για την περιεκτικότητά τους σε φυσικές umami ουσίες. (Dalby, 2003) Αυτά περιλαμβάνουν λαχανικά όπως τα καρότα, τα μανιτάρια, το λάχανο, τα σπαράγγια, τα μπιζέλια και τα κρεμμύδια, καθώς επίσης και φρούτα όπως τα σταφύλια και τα μήλα. Το χοιρινό και το κοτόπουλο ήταν από τα πιο δημοφιλή κρέατα, αν και οι Ρωμαίοι προτιμούσαν επίσης το βοδινό κρέας. Τα θαλασσινά εδέσματα της εποχής περιλάμβαναν σαρδέλες, σκουμπρί, τόνο, στρείδια και γαρίδες. Οι γνώσεις που υπάρχουν για αυτά τα αρχαία ρωμαϊκά τρόφιμα με πλούσια umami γεύση προέρχεται από λογοτεχνικές, καλλιτεχνικές και αρχαιολογικές πηγές. (Curtis, 2009)

Το φαγητό ήταν ένα δημοφιλές μοτίβο στη διακόσμηση των ρωμαϊκών σπιτιών, ειδικά σε χώρους που σχετίζονται με την προετοιμασία ή την κατανάλωση τροφίμων, όπως οι κουζίνες και οι τραπεζαρίες. Ανάμεσα στα τρόφιμα που απεικονίζονται σε τοιχογραφίες και ψηφιδωτά δαπέδου, περιλαμβάνονται αρκετά με χαρακτηριστική umami γεύση, όπως σταφύλια, μήλα,

σπαράγγια, χοίροι, κοτόπουλα και ψάρια. (D'Arms, 2004) Η επιστημονική ανάλυση απανθρακωμένων φρούτων και λαχανικών, καθώς και οστά ζώων που βρέθηκαν σε διάφορους αρχαιολογικούς χώρους, καταδεικνύει την ύπαρξη και πολλών άλλων τροφίμων. (Jashemski, 1973, MacKinnon, 2004) Αυτά τα φυσικά στοιχεία παρέχουν επιβεβαίωση για τα διαθέσιμα τρόφιμα και συχνά βρίσκονται σε συμφωνία με λογοτεχνικές πηγές της εποχής. Τα καλλιτεχνικά και αρχαιολογικά ευρήματα είναι σαφώς σημαντικά, δεν παρέχουν ωστόσο πληροφορίες για τον τρόπο με τον οποίο οι Ρωμαίοι προετοίμαζαν τα τρόφιμα. Όσες πληροφορίες είναι διαθέσιμες μέχρι και σήμερα, έχουν αποκτηθεί μέσω των περιορισμένων λογοτεχνικών πηγών που έχουν διασωθεί.

Η σάτιρα, ένα λογοτεχνικό είδος που επισημαίνεται για τη χρήση του γεύματος ως χιουμοριστικό μέσο για την άσκηση κριτικής στις αδυναμίες της τότε κοινωνίας, συχνά προσδιορίζει τα είδη των φαγητών που καταναλώνονταν σε συγκεκριμένα γεύματα. Συνήθως με κάποια υπερβολή, περιγράφει εκείνα τα πιάτα που ήταν ιδιαίτερα αξιοσημείωτα. (Curtis, 2009) Ο Γάιος Πλίνιος Σεκούνδος (γνωστός και ως Πλίνιος ο Πρεσβύτερος) στην εγκυκλοπαίδειά του 'Historia Naturalis', γαστρονομικοί συγγραφείς όπως ο Αθηναίος ο Ναυκρατίτης στο έργο του 'Δειπνοσοφισταί' καθώς και διάφοροι ιατρικοί συγγραφείς που συζητούν για θέματα διατροφής, παρέχουν αποδείξεις για τα διαθέσιμα τρόφιμα και, περιστασιακά, οδηγίες σχετικά με τον τρόπο προετοιμασίας των πιάτων. (Pliny et al., 1961, Bekker-Nielsen, 2005) Η πιο σημαντική, ωστόσο, πηγή που έχει διατηρηθεί, είναι το βιβλίο μαγειρικής που αποδίδεται στο Μάρκο Γάβιο Απίκιο. Είναι το μοναδικό βιβλίο μαγειρικής που έχει επιβιώσει από τον ρωμαϊκό κόσμο, και περιέχει περίπου 465 συνταγές, με ολόκληρα κεφάλαια αφιερωμένα σε πιάτα παρασκευασμένα με λαχανικά, όσπρια, πτηνά και θαλασσινά. (Apicius et al., 2006) Το βασικό συστατικό που βρέθηκε στις περισσότερες από αυτές τις συνταγές ήταν η σάλτσα ψαριών, η οποία ήταν πλούσια σε ουσίες της umami γεύσης και είχε το ρόλο του καρυκεύματος στα ρωμαϊκά πιάτα. (Yoshida, 1998)

2.2.1. Ρωμαϊκές σάλτσες ψαριών

Οι Ρωμαίοι συνήθιζαν να παρασκευάζουν τέσσερις διαφορετικές σάλτσες ψαριών, οι οποίες ονομάζονταν garum, liquamen, allec, και muria. (Yoshida, 1998) Η garum ήταν η πιο δημοφιλής σάλτσα κατά τη ρωμαϊκή εποχή και παραγόταν από υδρόλυση ολόκληρων ψαριών (γαύρων) ή των εντοσθίων τους παρουσία άλατος, μέσω φυσικής ζύμωσης για διάστημα αρκετών μηνών. Το αδιάλυτο υλικό των ψαριών που παρέμενε από την παρασκευή της σάλτσας garum ονομάστηκε

allec. Η muria ήταν το αλμυρό διάλυμα που προέκυπτε από την ώσμωση κατά το αλάτισμα ολόκληρων, καθαρισμένων ψαριών ή φιλέτων ψαριών (salsamentum). (Bekker-Nielsen, 2005) Η ακριβής φύση της σάλτσας liquamen παραμένει ασαφής, αλλά, με βάση σύγχρονες παραλλαγές, φαίνεται να ήταν αποτέλεσμα συνεχόμενων αποπλύσεων allec με ένα αλμυρό διάλυμα. Ως εκ τούτου, η σάλτσα liquamen ήταν στενά συνδεδεμένη με την garum, και η παρόμοια διαδικασία παρασκευής τους εξηγεί γιατί στην ύστερη αρχαιότητα ο όρος liquamen αντικατέστησε αποτελεσματικά το garum ως το γενικό όρο για τη σάλτσα ψαριού.

Οι αρχαίες λογοτεχνικές πηγές παρέχουν λίγες λεπτομέρειες της διαδικασίας παραγωγής για σάλτσες ψαριών. Σε γενικές γραμμές, οι Ρωμαίοι τοποθετούσαν σε δοχεία από τερακότα, βαρέλια, ή δοχεία μικρά ψάρια, ιδιαίτερα γαύρο, σαρδέλες και σκουμπρί, και στη συνέχεια πρόσθεταν αλάτι σε προκαθορισμένες αναλογίες (συνήθως 5:1) και μερικές φορές διάφορα βότανα, καρκεύματα ή κρασί. Στη συνέχεια, χρησιμοποιούσαν βάρη για να συμπίεσουν το μείγμα, το κάλυπταν και το άφηναν να παραμείνει στον ήλιο για αρκετούς μήνες. Στο τέλος του ίδιου χρόνου, συνέλεξαν τη ρευστή σάλτσα garum με τη βοήθεια ενός αγωγού στο κατώτατο μέρος του δοχείου, τη διηθούσαν και την τοποθετούσαν σε αμφορείς. Συχνά μάλιστα, πραγματοποιούσαν απόπλυση του υπολείμματος με ένα καυτό, αλμυρό διάλυμα και το άφηναν να ζυμωθεί, παρασκευάζοντας έτσι μια σάλτσα κατώτερης ποιότητας. Αυτή η περιγραφή, αν και είναι αρκετά ασαφής, παρουσιάζει αρκετές ομοιότητες με τη σύγχρονη διαδικασία παραγωγής σάλτσας ψαριού στη νοτιοανατολική Ασία. (Miyano and Curtis, 2010)

Σαφώς, οι ρωμαϊκές σάλτσες ψαριών, τόσο σε βασικά συστατικά (ψάρι και αλάτι) όσο και σε μεθόδους παραγωγής, είναι σχεδόν πανομοιότυπες με παραδοσιακές σάλτσες ψαριών της νοτιοανατολικής Ασίας. Έτσι, εφόσον οι πρώτες δεν έχουν επιβιώσει μέχρι σήμερα (εκτός από τα αποξηραμένα υπολείμματα allec), η εμφάνισή τους, η γεύση και η μυρωδιά τους μπορούν να μελετηθούν καλύτερα από μια ανάλυση παραδοσιακών σαλτσών ψαριού της νοτιοανατολικής Ασίας, οι οποίες έχουν διατηρηθεί σχετικά αναλλοίωτες στο πέρασμα των χρόνων. (Yoshida, 1998)

2.3 Το umami στη νοτιοανατολική Ασία

Τα πλούσια σε γλουταμινικό μονονάτριο υλικά είναι, εδώ και πολλά χρόνια, ιδιαίτερα δημοφιλή, όχι μόνο για τη γεύση τους αυτή καθ' εαυτή, αλλά και για την ιδιότητά τους ως ενισχυτικά γεύσης. Σάλτσες ψαριού που έχουν υποστεί ζύμωση, παστά ψάρια ή μικρές γαρίδες και ζυμωμένα προϊόντα φασολιών αποτελούν χαρακτηριστικά της ασιατικής κουζίνας εδώ και

αρκετούς αιώνες. Εκτός από αυτά τα ζυμωμένα προϊόντα, συμπυκνωμένα εκχυλίσματα ψαριών, οστρακοειδών, φασολιών κλπ., έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί ως παραδοσιακά καρυκεύματα, αντιπροσωπευτικά της γεύσης umami. (Otsuka, 1998)

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η πρώτη ιστορική καταγραφή σάλτσας ψαριού και παστών ψαριών έγινε πριν από 2000 χρόνια περίπου, στην αρχαία Ρώμη. Κατά τον 15^ο αιώνα, σάλτσες αντίστοιχης παρασκευής συνόδευαν καθημερινά πιάτα στη νοτιοανατολική Ασία, μία παράδοση που συνεχίζεται μέχρι και σήμερα. Το αλάτι αναμειγνυόταν με φρέσκα ψάρια ή οστρακοειδή, τα οποία στη συνέχεια ζυμώνονταν για διάφορα χρονικά διαστήματα ώσπου η δράση των ενζύμων να φέρει το επιθυμητό αποτέλεσμα. Ανάλογα με το είδος του ψαριού ή του οστρακοειδούς (γαρίδες, στρείδια, μύδια, αχιβάδες ή καβούρια), την ποσότητα άλατος και τη μεταχείριση των πρώτων υλών πριν από τη ζύμωση, παράγονταν διάφορα είδη σάλτσας και παστών προϊόντων. Ανεξάρτητα από τα τοπικά είδη που χρησιμοποιούνταν σε αυτή τη διαδικασία, η βασική λειτουργία των ζυμωμένων προϊόντων ήταν η παροχή της αλμυρής και umami γεύσης. (Yoshida, 1998) Η απλότητα των τεχνικών επεξεργασίας και η ομοιομορφία των τελικών ζυμωμένων προϊόντων είναι αναμφισβήτητα μια εξήγηση για τη χρήση τους σε μια ευρεία γεωγραφική περιοχή σε ολόκληρη τη νοτιοανατολική Ασία.

Μια από τις παλαιότερες συνταγές που έχει καταγραφεί στην ανατολική Ασία, είναι εκείνη για την προετοιμασία παστών φασολιών και σάλτσας από φασόλια (chi και jiang αντίστοιχα), η οποία βρίσκεται στο "Chimin Yaoshu", ένα κινέζικο βιβλίο που αναφέρεται στη γεωργία της εποχής και γράφτηκε από τον Chia Ssu-Hsieh τον 6ο αιώνα. Σύμφωνα με αυτή, το "chi" παρασκευαζόταν με ανάμιξη αλατιού και ζυμωμένων δημητριακών με φασόλια που είχαν σιγοβράσει για μικρό χρονικό διάστημα, με αποτέλεσμα οι πρωτεΐνες τους να έχουν διασπαστεί σε διάφορα αμινοξέα. Ο ζωμός που προέκυπτε από τη συγκεκριμένη μαγειρική παρασκευή διαχωριζόταν και αποτελούσε το jiang ή σάλτσα φασολιών. (Fukushima, 1985) Η πιο δημοφιλής σάλτσα φασολιών στην ανατολική Ασία φαίνεται να ήταν η σάλτσα σόγιας, ενώ οι σάλτσες ψαριών χρησιμοποιούνταν σε πολύ μικρότερο βαθμό.

Στην αρχαία Ιαπωνία, τα συμπυκνωμένα εκχυλίσματα ονομάζονταν σάλτσα irogi. Μια τέτοια παχύρρευστη σάλτσα προέκυπτε σιγοβράζοντας νερό μέσα στο οποίο είχε προηγουμένως μαγειρευτεί παλαμίδα (bonito). Παρόμοια καρυκεύματα γίνονταν με το νερό στο οποίο είχαν βράσει κρέας, ψάρι, οστρακοειδή, φασόλια ή λαχανικά. Αυτός ο τύπος καρυκευμάτων εξαφανίστηκε από την ιαπωνική κουζίνα κατά την εποχή Meiji (1867-1912). (Frøst, 2017)

2.4 Η ανακάλυψη της γεύσης umami

Ο Kikunae Ikeda γεννήθηκε στο Κιότο το 1864 και άρχισε να φοιτά στο Imperial University of Tokyo το 1885. Μέχρι το 1896 είχε ήδη επιτύχει το βαθμό του αναπληρωτή καθηγητή φυσικοχημείας, ενώ το 1899 κλήθηκε να μελετήσει φυσικοχημεία στο εργαστήριο του Wilhelm Ostwald, στη Λειψία της Γερμανίας. Ο Ostwald ήταν ένας από τους ιδρυτές της κλασικής φυσικοχημείας και έλαβε το Βραβείο Νόμπελ Χημείας το 1909 για το έργο του. Σε σύντομο χρονικό διάστημα από την επιστροφή του από το εξωτερικό, ο Ikeda προήχθη σε καθηγητής φυσικοχημείας στο Πανεπιστήμιο του Τόκιο (1901). (Kurihara, 2009)

Ο Ikeda γνώριζε ότι υπήρχαν 4 καθορισμένες γευστικές ποιότητες, το γλυκό, το ξινό, το πικρό και το αλμυρό. Παράλληλα, όμως, θεωρούσε ότι μπορεί να υπάρχει και μία επιπλέον γεύση, η οποία ήταν αρκετά διαφορετική από τις τέσσερις ήδη γνωστές γεύσεις, και η οποία κυριαρχούσε σε τρόφιμα όπως τα φύκια και, ενδεχομένως, το κρέας. (Iordanis, 2013) Έτσι, επινόησε τον όρο umami για να ονομάσει αυτή την υποτιθέμενη γεύση. Το 1907 ξεκίνησε ένα έργο για να ταυτοποιήσει χημικά το συστατικό που προσέδιδε τη γεύση umami σε φύκη. (Beauchamp, 2009) Η εστίασή του στα φύκη εξηγείται εν μέρει από το γεγονός ότι στην Ιαπωνία μεγάλες ποσότητες από φύκη (*Laminaria japonica*), που ονομάζονται konbu, συλλέγονται και καταναλώνονται ως τρόφιμα. Έτσι, ο Ikeda διέθετε επαρκές υλικό για να χρησιμοποιήσει ως πρώτη ύλη στα πειράματά του. Η επιλογή του να χρησιμοποιήσει φύκη προέκυψε, επίσης, από την εξοικείωσή του με τη γεύση του konbu. Στο Κιότο, όπου γεννήθηκε, το konbu χρησιμοποιούνταν σε μια ποικιλία φαγητών, επομένως είχε εκτεθεί στη γεύση του από μικρή ηλικία. (Kurihara, 2009)

Για να προσδιορίσει τον παράγοντα umami στα φύκη, ο Ikeda ξεκίνησε με αποξηραμένο konbu, επειδή οι πρωτεΐνες του μετουσιώνονται κατά τη διάρκεια της ξήρανσης και έτσι δεν εξάγονται στο νερό. Άρχισε την εξαγωγή νερού χρησιμοποιώντας 12 κιλά ξηρού konbu. (Kurihara, 2015) Το μεγαλύτερο μέρος της μαννιτόλης και του NaCl στο υγρό απομακρύνθηκε με κρυστάλλωση, ενώ οι ουσίες της γεύσης umami παρέμειναν στο διάλυμα. Αρχικές δοκιμές έδειξαν ότι το «υλικό» umami ήταν το άλας ενός οργανικού οξέος και τα ακόλουθα βήματα επικεντρώθηκαν στην απομόνωση του οργανικού οξέος. Ο Ikeda δημιούργησε πειραματικά διάφορα άλατα του οργανικού αυτού οξέος, αλλά δεν κατάφερε να παραλάβει κάποιο ίζημα, επειδή όλα ήταν ιδιαίτερα διαλυτά στο νερό. Τέλος, με τη χρήση νιτρικού μολύβδου, παρήγαγε ένα άλας του οργανικού οξέως που να καθιζάνει. Κατά την ψύξη, το ρητινώδες ίζημα κονιορτοποιήθηκε και υπέστη κατεργασία με υδρόθειο, παρουσία νερού και ανθρακικού βαρίου. Αυτή η διαδικασία μετέτρεψε το άλας του οργανικού οξέος με το μολύβδο σε άλας βαρίου, το οποίο ήταν

ευδιάλυτο στο νερό παρουσία χλωρίου. Το ιόν μολύβδου καταβυθίστηκε ως θειούχος μόλυβδος. Η επακόλουθη προσθήκη θεικού αργύρου (διαλυμένου σε μεγάλο όγκο ζεστού νερού) προκάλεσε την πλήρη απομάκρυνση του χλωριούχου βαρίου από το οργανικό οξύ και στη συνέχεια απομακρύνθηκε το βάριο μέσω καθίζησης με θεικό οξύ. Το τελικό διάλυμα συμπυκνώθηκε και αφέθηκε να κρυσταλλωθεί. Αυτή η διαδικασία κρυστάλλωσης οδήγησε στην απομάκρυνση του ιόντος αργύρου, εφόσον δεν καθιζάνει. Περίπου 30 g του οργανικού οξέος ελήφθησαν. (Ikeda, 1908) Επειδή το konbu στο νερό έχει γεύση umami και βρίσκεται σε ουδέτερο pH, το οργανικό οξύ πρέπει να υπάρχει ως μορφή άλατος στο νερό. Ως εκ τούτου, ο Ikeda προετοίμασε ένα διάλυμα του απομονωμένου οργανικού οξέος, ρύθμισε το pH ώστε να είναι ουδέτερο και επιβεβαίωσε ότι αυτό το διάλυμα προκαλούσε μία ισχυρή umami γεύση.

Το μοριακό βάρος και στοιχειώδεις αναλύσεις των κρυστάλλων του οργανικού οξέος αποκάλυψαν τον μοριακό τύπο $C_5H_9NO_4$. Ο Ikeda ταυτοποίησε την ένωση αυτή με το γλουταμινικό οξύ. Η δομή του γλουταμινικού οξέως είχε ήδη περιγραφεί από τον Ritthausen το 1866 (Vickery, 1931) και από τον Fischer, ο οποίος στη συνέχεια ανέφερε ότι το γλουταμινικό οξύ είχε αρχικά μια ξινή και στη συνέχεια μια ιδιόμορφη γεύση. Ο Fischer ωστόσο δεν παρατήρησε ότι το γλουταμινικό παράγει μια μοναδική γεύση, ξεχωριστή από τις άλλες. Ο λόγος είναι ότι η μορφή άλατος του γλουταμινικού είναι αυτή που προκαλεί την umami γεύση, και όχι το οξύ του. Από την άποψη αυτή, αξίζει να σημειωθεί ότι το pH των περισσότερων τροφίμων είναι σχεδόν ουδέτερο. Σε ουδέτερο pH, το γλουταμινικό υπάρχει σχεδόν αποκλειστικά ως άλας. Ο Fischer είχε δοκιμάσει το οξύ, ενώ ο Ikeda, αν και είχε απομονώνει το οξύ, προετοίμασε και δοκίμασε το άλας. Για την ακρίβεια, διάφορα διαλυτά άλατα (π.χ. Na, K, ή Ca άλατα) του γλουταμινικού οξέος προκαλούν την umami γεύση. Ο Ikeda ολοκλήρωσε το έργο του το 1908, μόνο ένα χρόνο αφότου το ξεκίνησε. (Kurihara, 2009)

2.5 Η αναγνώριση του umami ως βασική γεύση

Η γεύση umami θεωρείτο ανέκαθεν ως ξεχωριστή γεύση στην ασιατική κουζίνα, ωστόσο, στην Ευρώπη και την Αμερική, παρέμενε μη αποδεκτή για μεγάλο χρονικό διάστημα. Το ίδιο το γλουταμινικό θεωρούνταν άγευστο κι έτσι αμφισβητούνταν οι ιδιότητές του ως ενισχυτικό γεύσης. (Iordanis, 2013)

Σε διεθνές συμπόσιο που πραγματοποιήθηκε στη Χαβάη (1985), ο όρος umami αναγνωρίστηκε ως ο επιστημονικός όρος για να περιγράψει τη γεύση του γλουταμινικού και των νουκλεοτιδίων.

Η παρουσίαση πάνω στη γεύση umami της Δρ. Shizuko Yamaguchi ήταν ένα σημαντικό βήμα ώστε να εισαχθεί η θεμελιώδης έννοια της γεύσης αυτής στην επιστημονική κοινότητα. Πιο συγκεκριμένα, η Yamaguchi αναφέρθηκε σε ψυχοφυσικά δεδομένα που υποστήριζαν την ύπαρξη του umami. (Ninomiya, 2015) Εξέτασε τις ομοιότητες μεταξύ των 21 γευστικών ερεθισμάτων, με τη χρήση μίας μεθόδου που θα αναλυθεί στη συνέχεια, και έδειξε ότι οι τέσσερις μέχρι τότε βασικές γεύσεις βρίσκονται στις τέσσερις κορυφές ενός τρισδιάστατου τετράεδρου και ότι το umami βρίσκεται ξεκάθαρα μακριά από τις κορυφές του τετραέδρου. Αυτό υπονοούσε ότι το umami είναι μια γεύση διαφορετική από τις τέσσερις βασικές. Στη συνέχεια, επιβεβαιώθηκε ότι το umami δεν έχει τη δυνατότητα να ενισχύσει οποιαδήποτε από τις υπόλοιπες βασικές γεύσεις.

Δεδομένου ότι το άλας του γλουταμινικού έχει γεύση umami, το γλουταμινικό μονονάτριο (MSG) χρησιμοποιείται συνήθως ως ερέθισμα της γεύσης του umami σε ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες. Η εφαρμογή του MSG στη γλώσσα προκαλεί τη δημιουργία ώσεων στις γευστικές νευρικές ίνες. Μεμονωμένες νευρικές ίνες που ανταποκρίνονται στο γλουταμινικό μονονάτριο ανταποκρίνονται πάντα και στο NaCl και ως εκ τούτου η απόκριση στο MSG θεωρήθηκε ότι οφείλεται στην παρουσία Na^+ που περιέχεται στο MSG. Έτσι, προέκυψε το συμπέρασμα ότι δεν υπάρχουν νευρικές ίνες, ειδικές για τη γεύση umami. (Kurihara, 2015)

Ωστόσο, το 1987, οι Ninomiya και Funakoshi έδειξαν ότι υπάρχουν νευρικές ίνες σε γλωσσοφαρυγγικά νεύρα ποντικών που αποκρίνονται στο γλουταμινικό μονονάτριο, αλλά αποκρίνονται ελάχιστα στο NaCl. Το 1991, οι Baylis και Rolls μέτρησαν τις αποκρίσεις νευρικών ινών στο γευστικό φλοιό πιθήκων του γένους Macaca και ανακάλυψαν ίνες που ανταποκρίνονταν καλύτερα στο γλουταμινικό. Παρόλο που η συνέργεια μεταξύ του γλουταμινικού και των 5'-νουκλεοτιδίων στον άνθρωπο είναι εξαιρετικά μεγάλη, στα τρωκτικά αυτό το φαινόμενο έχει πολύ μικρότερες διαστάσεις. Προκειμένου να διευκρινιστεί αν οι αποκρίσεις σε ουσίες του umami οφείλονται σε ιόντα Na^+ ή όχι, προστέθηκε αμιλορίδη σε μείγμα MSG και 5-GMP. Η μεγάλη απόκριση που προκλήθηκε από τη συνεργιστική δράση, δεν επηρεάστηκε από την αμιλορίδη, γεγονός που αποτέλεσε απόδειξη ότι όλες οι αποκρίσεις στις ουσίες umami οφείλονται ξεκάθαρα στο umami αυτό καθ' εαυτό και όχι στο νάτριο. (Kurihara, 2009)

Το 1997, στο 12ο ISOT (International Symposium on Olfaction and Taste) που πραγματοποιήθηκε στο Σαν Ντιέγκο, αφιερώθηκε μέρος του συνεδρίου στην παρουσίαση νέων στοιχείων πάνω στη γεύση umami. Από το πρώτο συμπόσιο για το umami το 1985 μέχρι το 1997, τα δεδομένα που έδειχναν ότι αποτελεί μια βασική γεύση είχαν ήδη συσσωρευτεί. Οι προϋποθέσεις για να θεωρηθεί μια γεύση ως βασική είναι οι εξής: (Ninomiya, 2002)

- (1) Μια βασική γεύση δεν πρέπει να προκύπτει από οποιονδήποτε συνδυασμό άλλων βασικών γεύσεων.
- (2) Ψυχοφυσικές και ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες πρέπει να καταδεικνύουν την ανεξαρτησία της υποτιθέμενης βασικής γεύσης από τις υπόλοιπες.
- (3) Πρέπει να υπάρχει ειδικός υποδοχέας για τη συγκεκριμένη βασική γεύση.
- (4) Μια βασική γεύση πρέπει να εντοπίζεται παγκοσμίως σε μεγάλη ποικιλία τροφών.

Μια θεμελιώδης διαφωνία των αρχικών ερευνητών, η οποία εξακολουθεί να υπάρχει μέχρι και σήμερα, αφορούσε το αν οι γευστικές ιδιότητες του MSG (δηλαδή, η αντίληψη του umami) ήταν μοναδικές, όπως είχε προτείνει ο Ikeda ή αν μπορούσαν να αναπαραχθούν από κάποιο συνδυασμό των υπόλοιπων τεσσάρων βασικών γεύσεων, όπως είχε προτείνει ο Von Skramlik. Τα αποτελέσματα μιας τέτοιας μελέτης μεταμερικής αντιστοίχισης που απαιτούνται για την επαλήθευση αυτής της υπόθεσης δεν δημοσιεύθηκαν ποτέ. Επιπλέον, η αδυναμία εύρεσης των κατάλληλων συνδυασμών αλμυρού, όξινου, γλυκού και πικρού ερεθίσματος με σκοπό την ακριβή αναπαραγωγή της γεύσης του MSG μέχρι στιγμής, είναι ήσσονος σημασίας, καθώς υπάρχει τεράστιο πλήθος πιθανών συνδυασμών. (Beauchamp, 2009)

Ως εναλλακτική λύση στην μεταμερική αντιστοίχιση (και στις δυσκολίες της), και προκειμένου να δοκιμαστούν οι μοναδικές αισθητηριακές ιδιότητες του umami, ερευνητές κατέφυγαν στη χρήση μεθόδων κλιμάκωσης για να προσδιορίσουν αν η γεύση του γλουταμινικού μονονατρίου διαφέρει από τις άλλες βασικές γεύσεις. Σε μια μελέτη της, η Yamaguchi (Kawamura and Kare, 1987) χρησιμοποίησε την τεχνική της πολυδιάστατης κλιμάκωσης για να συγκρίνει τις αντιληπτές ομοιότητες γεύσης του MSG με τη σακχαρόζη, το NaCl, το τρυγικό οξύ και τη θειική κινίνη, καθώς επίσης και με κάποιους συνδυασμούς τους, χρησιμοποιώντας παράλληλα και διαφορετικές συγκεντρώσεις. Πολύ απλά, βρήκε ότι, εντός ενός τρισδιάστατου χώρου που δημιουργείται μαθηματικά από τα δεδομένα της μεθόδου που αξιοποίησε, το MSG βρισκόταν έξω από το χώρο που περιλάμβανε τις άλλες 4 ποιότητες γεύσης. Με τον τρόπο αυτό, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το umami δεν αποτελείται από τις υπόλοιπες βασικές γεύσεις. (Beauchamp, 2009) Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν παράλληλα με εκείνη της Yamaguchi, χρησιμοποιώντας παρόμοιες τεχνικές, διεξήχθησαν με τη χρήση δεδομένων από την καταγραφή νευρωνικής δραστηριότητας και οδήγησαν σε παρόμοια αποτελέσματα. (Baylis and Rolls, 1991)

Το 2000, με τη χρήση των μεθόδων της μοριακής βιολογίας, ανακαλύφθηκε ο mGluR4 υποδοχέας του γλουταμινικού στον εγκέφαλο, ο οποίος είναι ένας μεταβοτροπικός, συζευγμένος με G-πρωτεΐνες υποδοχέας. (Lindemann et al., 2002) Η συγκεκριμένη κατηγορία γευστικών

υποδοχέων διαθέτει ένα βραχύ αμινοτελικό άκρο στο οποίο προσδένεται το L-γλουταμινικό οξύ, μολονότι με σχετικά χαμηλή συγγένεια. Θεωρήθηκε ότι αυτή η περικοπή του αμινοτελικού άκρου του υποδοχέα ήταν αποτέλεσμα της προσαρμογής του στη μεγάλη περιεκτικότητα ορισμένων τροφίμων σε γλουταμινικό. (Chaudhari et al., 2000) Στη συνέχεια, οι γευστικοί υποδοχείς T1R1/T1R3 που ανιχνεύουν το umami, εντοπίστηκαν στη γλώσσα το 2001 από τον βιολόγο Charles Zuker στα εργαστήρια του Πανεπιστημίου της Καλιφόρνιας, μετά από βιολογικές έρευνες. Ανακαλύφθηκε ότι το συγκεκριμένο ετερομερές, στα ποντίκια, αποκρίνεται σε μεγάλο αριθμό αμινοξέων που εμπεριέχονται στα τρόφιμα, ενώ στον άνθρωπο αποκρίνεται κυρίως στο L-γλουταμινικό και ενισχύεται από το IMP. (Nelson et al., 2002) Με βάση αυτά τα δεδομένα, το umami αναγνωρίστηκε ως η πέμπτη βασική γεύση. (Iordanis, 2013)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο : Η ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΤΗΣ ΓΕΥΣΗΣ UMAMI ΣΤΑ ΕΙΔΗ

3.1 Εισαγωγή : Γνωστές εξελικτικές αλλαγές στην αίσθηση της γεύσης

Οι υποδοχείς της γεύσης προσδιορίζουν την έλξη ή την αποστροφή του οργανισμού απέναντι στις τροφές και, κατά συνέπεια, αλλαγές σε αυτούς τους υποδοχείς πιθανώς σχετίζονται άμεσα με προσαρμοστικές αλλαγές στην αναζήτηση και την επιλογή τροφής. (Baeyens et al., 1996, Zhao et al., 2003) Όπως αναφέρθηκε, η γεύση επιτρέπει στα ζώα να καθορίσουν το θρεπτικό περιεχόμενο των τροφίμων πριν από την κατάποση, καθώς τρεις από τις πέντε βασικές γεύσεις (η γλυκιά, η αλμυρή και η umami), καταδεικνύουν την παρουσία απαραίτητων θρεπτικών συστατικών. Από την άλλη πλευρά, οι άλλες δύο γευστικές ποιότητες, η πικρή και η όξινη, σηματοδοτούν την παρουσία τοξινών ή την αλλοίωση της τροφής, προκαλώντας αποστροφή στους περισσότερους οργανισμούς. Η μοριακή βάση για την όξινη και την αλμυρή γεύση δεν είναι ακόμη καλά κατανοητή και υποψήφια μόρια υποδοχέα αναμένουν επικύρωση με γενετικές μεθόδους (Lindemann, 2001, Li et al., 2002) Αντίθετα, οι υποδοχείς για γλυκό, πικρό, και umami έχουν περιγραφεί καλά: μια μικρή οικογένεια τριών υποδοχέων, συζευγμένων με πρωτεΐνες G (GPCRs), οι οποίοι ανήκουν στην κατηγορία C, οι T1Rs, μεσολαβούν στη γλυκιά και στην umami γεύση, ενώ μια μεγαλύτερη οικογένεια GPCR κατηγορίας A (οι T2Rs) μεσολαβεί στην πικρή γεύση. Τα ετεροδιμερή των T1R σχηματίζουν τους υποδοχείς για τη γλυκιά (T1R2 / T1R3) και umami (T1R1 / T1R3) γεύση. (Li et al., 2002)

Οι συγκεκριμένοι υποδοχείς γεύσης έχουν εντοπιστεί σε πολλά είδη, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων και άλλων πρωτεύοντων θηλαστικών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι οι τρεις υποδοχείς της γλυκιάς και umami γεύσης έχουν διατηρηθεί σε όλα τα σπονδυλωτά, με εξαίρεση τη γάτα, στην οποία το *Tas1r2* είναι ψευδογονίδιο (Li et al., 2005) και το γιγαντιαίο πάντα, στο οποίο το *Tas1r1* είναι επίσης ψευδογονίδιο. (Zhao et al., 2010a) Η απώλεια των συγκεκριμένων γονιδίων και ο τρόπος αντίληψης της γλυκιάς και umami γεύσης, είναι συμβατά με τις διατροφικές επιλογές των ζώων αυτών, τα οποία είναι υποχρεωτικά σαρκοφάγα και φυτοφάγα, αντίστοιχα. Τα κοτόπουλα επίσης φαίνεται να διαθέτουν ένα μη λειτουργικό *T1R1* γονίδιο, αν και η σημασία της συγκεκριμένης παρατήρησης παραμένει άγνωστη. (Shi and Zhang, 2006) Παρόλο που τα περισσότερα είδη διατηρούν λειτουργικούς T1R υποδοχείς, είναι πιθανό ότι η εξειδίκευση των προσδετών τους ποικίλει ανάλογα με το είδος, με τέτοιο τρόπο ώστε να επιτρέπει την ανίχνευση συγκεκριμένων απαραίτητων θρεπτικών συστατικών. Για παράδειγμα, οι υποδοχείς της γλυκιάς γεύσης σε άνθρωπο και ποντίκια, διαφέρουν ως προς την ευαισθησία τους στη μπραζείνη, μια πρωτεΐνη που παράγεται από ορισμένα αφρικανικά φυτά. Η

πρωτεΐνη αυτή έχει ιδιαίτερα έντονη γλυκιά γεύση για τον άνθρωπο, ενώ τα ποντίκια παραμένουν αδιάφορα προς αυτή. Η δομική βάση για αυτή τη διαφορά εντοπίζεται σε μία πλούσια σε κυστεΐνη περιοχή του T1R3 υποδοχέα. (Jiang et al., 2004) Αυτό αποτελεί ένα ακόμα παράδειγμα παράλληλης εξέλιξης των αισθητηριακών υποδοχέων ενός σπονδυλωτού με ένα φυσικό φυτικό προϊόν.

Τα γονίδια των υποδοχέων της πικρής γεύσης ποικίλουν σε αριθμό ανάλογα με το είδος, καθώς ένα μεγάλο μέρος τους έχει μετατραπεί σε ψευδογονίδια. (Fischer et al., 2005) Ο άνθρωπος έχει 25 λειτουργικά γονίδια της πικρής γεύσης, ενώ τα ποντίκια διαθέτουν 35. (Go et al., 2005) Συγκεκριμένα τρεις υποδοχείς φαίνεται να έχουν γίνει ψευδογονίδια κατά την εξελικτική πορεία του ανθρώπου, ενώ σε άλλα πρωτεύοντα ο αριθμός αυτός είναι μικρότερος. Έχει υποστηριχθεί ότι η απώλεια επιλεκτικής πίεσης στα γονίδια των υποδοχέων της πικρής γεύσης στην ανθρώπινη εξέλιξη μπορεί να είναι το αποτέλεσμα της απομάκρυνσης της διατροφής του ανθρώπου από φυτά που περιέχουν τοξίνες. (Shi and Zhang, 2006)

3.2 Ο εξελικτικός ρόλος της umami γεύσης

Η γεύση umami, ενδεικτική πηγών πρωτεΐνης και αμινοξέων, έχει διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη και επιβίωση του ανθρώπινου είδους. Πράγματι, οι Ανθρωπίδες (Hominidae), όπως και οι σύγχρονοι άνθρωποι, εμφάνιζαν μια τάση κατανάλωσης πιο εύπεπτων μορφών πρωτεΐνης, όπως το κρέας, σε αντίθεση με τους προγόνους τους, για τους οποίους η πλειοψηφία της ημερήσιας πρωτεϊνικής πρόσληψης ήταν φυτικής προέλευσης. (Sponheimer and Lee-Thorp, 1999) Η γεύση umami δεν γίνεται αντιληπτή σε νωπό κρέας, ενώ το παλαιωμένο ή μαγειρεμένο κρέας εμφανίζει αρκετά έντονα τη γεύση αυτή. Πιθανολογείται ότι αυτός είναι και ο λόγος που οι άνθρωποι ανέπτυξαν προτίμηση για το γλουταμινικό, τα ριβονουκλεοτίδια και τη γεύση umami: η αναγνώριση του μαγειρεμένου κρέατος ως πηγή εύπεπτων πρωτεϊνών. (Mouritsen, 2016) Παράλληλα, η προτίμηση της γεύσης των ελεύθερων αμινοξέων και ριβονουκλεοτιδίων είναι πιθανό να διαμορφώθηκε λόγω της τάσης που επικρατούσε τότε για κατανάλωση ζυμωμένων τροφίμων, συμπεριλαμβανομένου του παλαιωμένου/μαγειρεμένου κρέατος. (Breslin, 2013) Η συγκεκριμένη κατηγορία τροφίμων εμφάνιζε σημαντικά πλεονεκτήματα για την επιβίωση του ανθρώπινου είδους. Η διεργασία της ζύμωσης εξασφάλιζε, όχι μόνο την άμεση πρόσβαση σε μακρο και μικροθρεπτικά συστατικά, αλλά και την πρόσληψη προβιοτικών βακτηρίων, τα οποία συνέβαλλαν στη διατήρηση μιας συνολικά καλής υγείας και την αποφυγή γαστρεντερικών λοιμώξεων. (Chang et al., 2010a, Won et al., 2011)

3.3 Φυσική επιλογή *TAS1R* γονιδίων στις Ανθρωπίδες

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι δεν έχουν εντοπιστεί σημάδια θετικής επιλογής στην οικογένεια Hominidae. Αυτό θα μπορούσε να εξηγηθεί τόσο από εξωτερικούς, όσο και από εσωτερικούς παράγοντες. Καταρχάς, τα είδη της συγκεκριμένης οικογένειας ήταν σε θέση να αποκτήσουν, να επεξεργαστούν και να καταναλώσουν μεγάλη ποικιλία τροφίμων όπως φρούτα, διάφορα είδη βλάστησης, φλοιούς, σπόρους, έντομα και κρέας. Επίσης, είχαν τη δυνατότητα να αλλάξουν τη σύνθεση της διαίτας τους, αν το απαιτούσαν οι τοπικές περιβαλλοντικές συνθήκες, καθώς διέθεταν την ικανότητα χρήσης εργαλείων για την απόκτηση και κατανάλωση τροφίμων. (Kleiman DG, 2004) Επομένως, η ευαισθησία τους στη γεύση umami είναι πιθανό να μη διαδραμάτιζε ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στη διατροφή τους.

Από την άλλη πλευρά, η ευαισθησία της γεύσης φαίνεται να συσχετίζεται επίσης με το σωματικό μέγεθος των πρωτευόντων θηλαστικών. Η μεγαλύτερη σχετικά περιοχή του βλεννογόνου της γλώσσας σε μεγάλα ζώα, θεωρήθηκε ότι μπορούσε να αυξήσει την ευαισθησία της γεύσης τους. Αυτό σημαίνει ότι όσο μεγαλύτερο σε μέγεθος είναι ένα είδος, τόσο μεγαλύτερη είναι και η οξύτητα της γεύσης του. (Hladik CM, 1997) Επομένως, εφόσον οι Ανθρωπίδες είναι μεγαλύτερες σε μέγεθος συγκριτικά με άλλα είδη πρωτευόντων, θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι η ευαισθησία της umami γεύσης που διέθεταν ήταν επαρκής για την εύρεση τροφής και την επιβίωσή τους. Επιπλέον, μια χαλάρωση του εξελικτικού περιορισμού εντοπίστηκε στα *TAS1R1* γονίδια για τον κοινό πρόγονο του ανθρώπου, του χιμπατζή και του γορίλλα, η οποία μπορεί να τους έδωσε την ευκαιρία να αποκτήσουν μια νέα ιδιότητα ή απλά να διαφοροποιηθούν λιγότερο ή περισσότερο σε σχέση με την λειτουργία του αρχικού γονιδίου. Αντίθετα, η διατροφή και η διαθεσιμότητα της τροφής για τους ουρακοτάγκους άσκησε μία πολύ πιο περιοριστική επιρροή. Αυτοί οι μεγάλοι σε μέγεθος, δενδρόβιοι πίθηκοι βασίζονται κυρίως σε φρούτα, όπως σύκα (*Ficus* spp.) και ντούριαν (*Durio* spp.) Η συγκεκριμένη διαφορά στη διατροφή μπορεί να εξηγήσει τη διαφοροποίηση στο ιστορικό εξελίξεων του *TAS1R1* μεταξύ των ουρακοτάγκων και των υπόλοιπων Ανθρωπίδων (συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων). (Liu et al., 2014)

Γενικά, έχει διαπιστωθεί ότι, σε αντίθεση με την οικογένεια γονιδίων T2R, η οικογένεια T1R είναι εξελικτικά διατηρημένη, τόσο ως προς το μέγεθός της όσο και ως προς την αλληλουχία των γονιδίων της. Όσον αφορά το μέγεθος της οικογένειας, ο αριθμός των γονιδίων T1R είναι ουσιαστικά σταθερός στα θηλαστικά, με ελάχιστες εξαιρέσεις, γεγονός που μπορεί να αντανakλά την αναγκαιότητα ανίχνευσης της umami γεύσης. (Shi and Zhang, 2006) Επίσης, σε

επίπεδο πρωτεϊνικής αλληλουχίας, τα γονίδια T1R εξελίσσονται με βραδύτερο ρυθμό σε σχέση με τα γονίδια T2R τόσο μεταξύ διαφορετικών ειδών, όσο και μεταξύ πληθυσμών του ίδιου είδους. (Kim et al., 2006)

3.4 Συσχετισμός των γονιδίων της γεύσης umami με τη διατροφή θηλαστικών

3.4.1 Τα ψευδογονίδια *Tas1r1* του γιγαντιαίου πάντα

Το γιγαντιαίο πάντα (*Ailuropoda melanoleuca* - Αιλουρόπους ο μελανόλευκος) είναι ένα απειλούμενο είδος, διασκορπισμένο σε συγκεκριμένες οροσειρές στην κεντρική Κίνα. Η φυλογενετική του ταξινόμηση υπήρξε αίνιγμα για πολλά χρόνια. Πράγματι, είχε αρχικά θεωρηθεί ότι ήταν μέλος των οικογενειών Ursidae (αρκούδες), Procyonidae (ρακούν), Ailuridae (κόκκινο πάντα), ακόμα και της δικής του οικογένειας Ailuropodidae με βάση διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά (Bininda-Emonds, 2004), προτού καταταχθεί οριστικά στην οικογένεια των αρκούδων με συντριπτικά μοριακά στοιχεία. (Arnason et al., 2007, Krause et al., 2008) Το γιγαντιαίο πάντα εμφάνιζε αρκετό ενδιαφέρον για την επιστημονική κοινότητα λόγω πολλών ασυνήθιστων χαρακτηριστικών του, όπως η μειωμένη γονιμότητα και το τροποποιημένο σησαμοειδές οστό του που λειτουργεί ως αντίχειρας. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι, σε αντίθεση με όλες τις άλλες αρκούδες, το γιγαντιαίο πάντα είναι φυτοφάγο, με το 99% της διατροφής του να είναι μπαμπού και το υπόλοιπο 1% να περιλαμβάνει μέλι, αυγά, ψάρια, φύλλα θάμνων, πορτοκάλια και μπανάνες, όταν είναι διαθέσιμες. (Zhao et al., 2010a) Πλήθος αποδεικτικών στοιχείων υποστηρίζουν ότι το γιγαντιαίο πάντα προήλθε από έναν σαρκοφάγο πρόγονο. Για παράδειγμα, η κατανομή, η δομή και η μορφολογία των γευστικών θηλών του μοιάζουν περισσότερο με εκείνες σαρκοφάγων ζώων και όχι φυτοφάγων. (Pastor et al., 2008) Το γιγαντιαίο πάντα διαθέτει επίσης δυνατά σαγόνια και δόντια, τα οποία είναι ικανά να τεμαχίσουν κρέας, και πεπτικό σύστημα μορφολογικά και γενετικά όμοιο με εκείνο των σαρκοφάγων ζώων. (Li et al., 2010) Το αρχείο των απολιθωμάτων παρέχει βασικές πληροφορίες σχετικά με το πότε πραγματοποιήθηκε η ριζική αλλαγή της διατροφής του γιγαντιαίου πάντα. Οδοντικά υπολείμματα αρχαίων πάντα που ανακτήθηκαν από την περιοχή Γιουνάν, στη νότια Κίνα, φανερώνουν πλατείς οδόντες, κατάλληλους για κατανάλωση μπαμπού, υποδεικνύοντας ότι το γιγαντιαίο πάντα είχε ήδη αρχίσει να τρέφεται με μπαμπού τουλάχιστον πριν από 7 εκατομμύρια χρόνια. (Jin et al., 2007) Οι προγόνιοι και οι γομφίοι ενός κρανίου 2-2,4 εκατομμυρίων ετών που ανακαλύφθηκε πριν από μερικά χρόνια, εμφανίζουν μεγάλη ομοιότητα με το σύγχρονο γιγαντιαίο πάντα, υποδηλώνοντας ότι είχε ήδη ολοκληρώσει τη διατροφική του

μετάβαση εκείνη την εποχή. Ωστόσο, η μοριακή βάση και οι συνέπειες της συγκεκριμένης μετάβασης παραμένουν απροσδιόριστες. (Zhao et al., 2010a)

Πρόσφατα, ανακαλύφθηκε μέσα από τη χαρτογράφηση του γονιδιώματος του γιγαντιαίου πάντα ότι το *Tas1r1* γονίδιο αδρανοποιείται λόγω δύο μεταλλάξεων μετατοπισμένου πλαισίου στα εξόνια 3 και 6, αντίστοιχα. (Li et al., 2010) Όπως έχει αναφερθεί, το *Tas1r1* ανήκει στο οικογένεια *Tas1r* των σπονδυλωτών, η οποία αποτελείται από τρία μέλη στα περισσότερα είδη: οι *Tas1r1* και *Tas1r3* σχηματίζουν ένα ετεροδιμερές που λειτουργεί ως συζευγμένος με G-πρωτεΐνη υποδοχέας μεσολαβώντας στη γεύση του umami, ενώ οι *Tas1r2* και *Tas1r3* σχηματίζουν τον ετεροδιμερή υποδοχέα της γλυκιάς γεύσης. (Nelson et al., 2002) Επειδή τα αμινοξέα συναντώνται πολύ πιο σπάνια στο μπαμπού σε σχέση με τους ζωικούς ιστούς, (Kozukue E, 1983) προτάθηκε ότι η μετατροπή του *Tas1r1* σε ψευδογονίδιο εξηγεί γιατί το γιγαντιαίο πάντα δεν καταναλώνει κρέας. Εφόσον το *Tas1r1* παραμένει ανέπαφο στο σκύλο, οι Li et al. (2010) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το *Tas1r1* ψευδογονίδιο προέκυψε αφότου το γιγαντιαίο πάντα απέκλινε από το φυλογενετικό δένδρο του σκύλου, περίπου 61 εκατομμύρια χρόνια πριν. (Li et al., 2010)

3.4.2 Η απώλεια της γεύσης umami στις νυχτερίδες

Η απουσία της γεύσης του umami σε νυχτερίδες του γένους *Desmodus* δεν αποτελεί έκπληξη, διότι η αίσθηση της γεύσης σε αυτές τις νυχτερίδες είναι γενικά ανεπαρκώς ανεπτυγμένη. Τα συγκεκριμένα θηλαστικά δεν μαθαίνουν τη γευστική αποστροφή, η οποία είναι ζωτικής σημασίας για την αποφυγή της κατάποσης επιβλαβών ουσιών. (Ratcliffe JM, 2003) Επειδή οι νυχτερίδες *Desmodontinae* τρέφονται αποκλειστικά με αίμα, η εξαιρετικά περιορισμένη διατροφή τους μπορεί να έχει καταστήσει την αίσθηση της γεύσης ασήμαντη. Επιπλέον, οι νυχτερίδες χρησιμοποιούν την όσφρηση για τον εντοπισμό των θηραμάτων τους (Bahlman JW, 2006) και αισθητήρες υπέρυθρων για τον εντοπισμό ροής αίματος κοντά στην επιφάνεια του δέρματος. (Gracheva et al., 2011) Η απόκτηση του συστήματος των υπέρυθρων αισθητήρων από νυχτερίδες *Desmodontinae* πιθανό να οδήγησε σε περεταίρω μείωση της σημασίας της αντίληψης γεύσης. Παρόλα αυτά, φαίνεται ότι η απώλεια του *Tas1r1* προηγήθηκε της εμφάνισης του γένους *Desmodus* και επομένως δεν μπορεί να αποτελεί συνέπεια του μοναδικού τρόπου διατροφής τους.

Εκτός από την απώλεια της γεύσης umami, ανακαλύφθηκε ότι στις συγκεκριμένες νυχτερίδες, το *Tas1r2* είναι ψευδογονίδιο. (Zhao et al., 2010b) Επειδή και οι δύο υποδοχείς *Tas1r1* και

Tas1r2 δεν λειτουργούν σε νυχτερίδες *Desmodontinae*, ο *Tas1r3*, που απαιτείται τόσο για τη γλυκιά όσο και για την umami γεύση, πρέπει να είναι επίσης μη λειτουργικός. Έρευνες στο εξόνιο 6 του *Tas1r3* της *D. rotundus* νυχτερίδας έδειξαν ότι το ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσής του (ORF) εμφάνιζε πολλαπλές μεταλλάξεις μετατοπισμένου πλαισίου, καθώς και τρία πρόωρα κωδικόνια λήξης. Ειδικότερα, το πρώτο πρόωρο κωδικόνιο λήξης βρίσκεται στην τέταρτη διαμεμβρανική περιοχή, γεγονός που θα οδηγούσε σε έναν υποδοχέα *Tas1r3* χωρίς τις υπόλοιπες τρεις διαμεμβρανικές περιοχές και το καρβοξυτελικό άκρο. (Zhao et al., 2012)

Από την άλλη πλευρά, η απουσία της γεύσης του umami σε νυχτερίδες που δεν τρέφονται με αίμα δεν θα μπορούσε να θεωρηθεί αναμενόμενη. Προηγούμενες μελέτες είχαν δείξει ότι το γονίδιο του υποδοχέα της γλυκιάς γεύσης *Tas1r2* διατηρείται σε αυτές τις νυχτερίδες, όπως και ένας αριθμός *Tas2r* γονιδίων των υποδοχέων της πικρής γεύσης. (Zhou et al., 2009) Συμπεριφορικές μελέτες έδειξαν επίσης ότι νυχτερίδες που τρέφονται με φυτά και έντομα έχουν την ικανότητα να μαθαίνουν τη γευστική αποστροφή. (Ratcliffe JM, 2003) Παρόλα αυτά, δεν φαίνεται να έχουν διατηρήσει την umami γεύση, μια βασική γεύση που διατηρείται σχεδόν σε όλα τα υπόλοιπα θηλαστικά.

Όπως αναφέρθηκε, μόνο ένα θηλαστικό, το γιγαντιαίο πάντα, ήταν γνωστό ότι έχει χάσει τον *Tas1r1* και ότι η απώλεια αυτή περίπου συνέπεσε με την αλλαγή της διατροφής του από το κρέας στο μπαμπού. (Li et al., 2010) Ωστόσο, στην περίπτωση των νυχτερίδων, αυτή η απώλεια φαίνεται να μη σχετίζεται με το είδος της δίαιτας. Επιπλέον, το πιο πρώιμο απολίθωμα νυχτερίδας, του γένους *Onychonycteris finneyi*, που έζησε πριν από περίπου 52.5 εκατομμύρια έτη ανήκει σε εντομοφάγο, γεγονός που αποκλείει το ενδεχόμενο οι πρωτόγονες νυχτερίδες να ήταν φυτοφάγοι. (Simmons et al., 2008) Οι νυχτερίδες διακρίνονται από τα υπόλοιπα θηλαστικά, χάρη στην ικανότητά τους να πετούν. Ωστόσο, η ικανότητα αυτή δεν φαίνεται να σχετίζεται με τη γεύση του umami, εφόσον ο *Tas1r1* έχει διατηρηθεί σε διάφορα πτηνά, όπως η γαλοπούλα, ο ερωδιός, ο σπίνος και ο κόλυμβος. Πολλές νυχτερίδες χρησιμοποιούν ηχοεντοπισμό προκειμένου να προσανατολιστούν και να εντοπίσουν την τροφή τους, ενώ οι νυχτερίδες της οικογένειας *Pteropodidae* δεν διαθέτουν την ιδιότητα αυτή. (Jones and Teeling, 2006) Ωστόσο, και οι συγκεκριμένες νυχτερίδες στερούνται της γεύσης umami. Ως εκ τούτου, δεν έχει διευκρινιστεί μέχρι σήμερα για ποιο λόγο τα γονίδια της umami γεύσης είναι μη λειτουργικά σε νυχτερίδες που δεν ανήκουν στο γένος *Desmodus*.

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι, ενώ το *Tas1r1/Tas1r3* ετεροδιμερές είναι αναμφισβήτητα ο κυρίαρχος υποδοχέας για τη γεύση του umami, (Behrens and Meyerhof, 2011) υπήρχαν αντιφατικές αναφορές για το αν οργανισμοί που στερούνται του ετεροδιμερούς διατηρούν μια ασθενή ευαισθησία στο umami. (Damak et al., 2003) Αν αυτό ισχύει πραγματικά, έχει προταθεί

ότι μεσολαβείται από μεταβοτροπικούς υποδοχείς του γλουταμινικού (mGluR1 και mGluR4), οι οποίοι εκτελούν και άλλες λειτουργίες του εγκεφάλου. (Yasumatsu et al., 2009) Όπως αναμενόταν, εντοπίστηκαν άθικτοι οι mGluR1 και mGluR4 στις γονιδιωματικές αλληλουχίες των νυχτερίδων *P. vampyrus* και *M. lucifugus*, αλλά η έλλειψη πληροφοριών σχετικά με την έκφρασή τους δεν επιτρέπει τη διεξαγωγή συμπεράσματος σχετικά με την ύπαρξη υπολειμματικής γεύσης umami σε αυτές. Ούτως ή άλλως, η απουσία ενός λειτουργικού *Tas1r1* γονιδίου υποδηλώνει ότι η γεύση του umami απουσιάζει πλήρως, ή είναι πολύ ασθενής στις νυχτερίδες.

3.4.3 Η απώλεια της γεύσης umami στα πτερυγίοποδα

Τα σύγχρονα πτερυγίοποδα (φώκιες, θαλάσσιοι λέοντες και θαλάσσιοι ίπποι) είναι αμφίβια, κυρίως σαρκοφάγα θηλαστικά, των οποίων τα άκρα έχουν μετατραπεί σε πτερύγια, (Rybczynski et al., 2009) μεταξύ άλλων προσαρμογών στην αμφίβια ζωή τους. (Reidenberg, 2007) Πρόσφατες φυλογενετικές μελέτες με τη χρήση μορφολογικών και μοριακών δεδομένων υποστηρίζουν ότι τα πτερυγίοποδα αποτελούν μια μονοφυλετική ομάδα και υποδηλώνουν μια συγγενική σχέση με θηλαστικά των οικογενειών Ursidae ή Musteloidea. (Hunt RM, 1994, Arnason et al., 2006) Τα περισσότερα πτερυγίοποδα είναι αμφίβια, σε αντίθεση με άλλα θαλάσσια θηλαστικά (όπως τα κητώδη και τα σειρηνοειδή) που περνούν ολόκληρη τη ζωή τους στο νερό και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους εξαρτώνται από το βαθμό προσαρμογής τους στο υδάτινο περιβάλλον. (Yoshimura et al., 2002)

Η συμπεριφορά των πτερυγίοποδων όσον αφορά την εξασφάλιση τροφής είναι ένα φαινόμενο που δεν έχει γίνει ακόμη καλά κατανοητό, όπου η κατανάλωση των θηραμάτων γίνεται παράλληλα με το διαχωρισμό τους από το υδάτινο περιβάλλον. (Reidenberg, 2007) Επιπλέον, τα συγκεκριμένα θηλαστικά έχουν υποστεί ορισμένες ανατομικές εξελικτικές προσαρμογές, οι οποίες αφορούν το αναπνευστικό, κυκλοφορικό και κινητικό τους σύστημα. Επειδή πολλά από αυτά αναζητούν την τροφή τους κατά τη διάρκεια της νύχτας ή σε βαθιά, σκοτεινά νερά, το σύστημα αντίληψης των θηραμάτων τους τροποποιήθηκε. (Erdogan et al., 2015) Επιπλέον, οι γλώσσες τους παρουσιάζουν σταδιακές προσαρμογές, οι οποίες οφείλονται στη ζωή των πτερυγίοποδων τόσο σε χερσαίο όσο και σε υδάτινο περιβάλλον. Η δομή της γλώσσας των θηλαστικών αυτών εξελίχθηκε για εξειδικευμένες λειτουργίες και οι γευστικές θηλές στην επιφάνεια της γλώσσας τους δίνουν κάποιες ενδείξεις σχετικά με τη διατροφή τους. (Iwasaki, 2002)

Είναι γνωστό ότι η πρόσληψη συγκεκριμένων απαραίτητων θρεπτικών συστατικών και η αποφυγή επιβλαβών ουσιών είναι απαραίτητες για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των οργανισμών και, ως εκ τούτου, η διατροφική συμπεριφορά και οι αλλαγές στην αντίληψη της γεύσης στην εξέλιξη του οργανισμού είναι πιθανό να αντανakλώνται στην εξέλιξη των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες των γευστικών υποδοχέων. Τα πτερυγίοποδα, ως επί το πλείστον, τρέφονται με ψάρια και κεφαλόποδα και συνήθως καταναλώνουν θηράματα που είναι αρκετά μικρά ώστε να το καταπωθούν ολόκληρα. (Berta et al., 2006) Το IMP (το οποίο ενισχύει σημαντικά τη γεύση του umami) είναι άφθονο στους μύες και σε άλλους ιστούς τετραπόδων, αλλά είναι σπάνιο ή απόν σε νωπά κεφαλόποδα και ψάρια. (Yamaguchi and Ninomiya, 2000) Αυτή η συνεργιστική ένωση συσσωρεύεται σταδιακά μετά θάνατον σε ιστούς ψαριών λόγω της διάσπασης της 5'-τριφωσφορικής αδενοσίνης, με αποτέλεσμα η γεύση του umami να μπορεί τελικά να γίνει αντιληπτή κάποια στιγμή μετά το θάνατο του ψαριού. (Kurihara, 2009) Επιπλέον, η υψηλή συγκέντρωση χλωριούχου νατρίου καλύπτει ως ένα βαθμό τη γεύση umami. (Komata, 1990) Συνεπώς, πιθανολογείται ότι οι παράγοντες που οδήγησαν στην αδρανοποίηση του *Tas1r1* στα πτερυγίοποδα προέκυψαν από το θαλάσσιο περιβάλλον στο οποίο ζουν αυτά τα σαρκοφάγα θηλαστικά και περιλαμβάνουν: την εξελικτική αλλαγή της διατροφής από τετράποδα θηράματα σε ψάρια και κεφαλόποδα, τη διατροφική συνήθεια της κατάποσης ολόκληρων των θηραμάτων, χωρίς μάσηση και την αυξημένη αλατότητα του θαλασσινού νερού. (Jiang et al., 2012)

Η ικανότητα των πτερυγίοποδων να ανιχνεύουν την umami γεύση δεν έχει ακόμη εξεταστεί. Ανατομικές μελέτες, ωστόσο, έχουν δείξει ότι οι γευστικές θηλές στη γλώσσα των συγκεκριμένων θηλαστικών είναι μειωμένες σε αριθμό και απλοποιημένες σε σύγκριση με άλλα σαρκοφάγα ζώα. (Erdogan et al., 2015, Yoshimura et al., 2002) Αυτή η παρατήρηση είναι συμβατή με τη διαπίστωση ότι το *Tas1r1* είναι ψευδογονίδιο στα πτερυγίοποδα, πράγμα που υποδηλώνει απώλεια ή τουλάχιστον μειωμένη ικανότητα ανίχνευσης της γεύσης umami.

3.4.4 Η εξελικτική πορεία των γονιδίων της umami γεύσης σε θαλάσσια κήτη

Τα κητώδη, κοινώς γνωστά ως φάλαινες, δελφίνια και φώκαινες, έχουν ένα σχετικά άγνωστο ιστορικό μετάβασης από την ξηρά στη θάλασσα. Πολυάριθμες φυλογενετικές μελέτες βασισμένες σε μορφολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά πρότειναν ότι τα κητώδη αποτελούν έναν ανεξάρτητο κλάδο, ο οποίος ανήκει στην τάξη των Αρτιοδακτύλων (Artiodactyla). (Gatesy et al., 2013) Μοριακές μελέτες έχουν τοποθετήσει χρονολογικά την εμφάνιση των κητωδών

(συμπεριλαμβανομένων των υποτάξεων Mysticeti και Odontoceti) πριν από περίπου 34 εκατομμύρια χρόνια. (Zhou et al., 2011) Στη συνέχεια, τα κητώδη ανέπτυξαν μια σειρά προσαρμοστικών αλλαγών σε πλήρως υδάτινο περιβάλλον (απώλεια των άκρων, επιμήκυνση των οστών του κρανίου, απώλεια σμηγματογόνων αδένων, ικανότητα ηχοεντοπισμού κλπ.). (Thewissen J, 2009) Ωστόσο, η γενετική βάση για την προέλευση και την προσαρμογή των ειδών αυτών παραμένει ασαφής. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι πολλοί γενετικοί τόποι στα κητώδη έχουν περάσει από προσαρμοστική εξέλιξη, γεγονός που υποδηλώνει την ανάπτυξη ορισμένων οργάνων των κητωδών και τον εκφυλισμό άλλων. Για παράδειγμα, το γονίδιο SLC26A5, το οποίο σχετίζεται με ακοή υψηλής συχνότητας σε σπονδυλωτά, αποδείχθηκε ότι δέχτηκε την επίδραση θετικής επιλογής σε δελφίνια με ικανότητα ηχοεντοπισμού (Liu et al., 2010), ενώ ο αριθμός των ψευδογονιδίων της οικογένειας των γευστικών και οσφρητικών υποδοχέων είναι σημαντικά υψηλότερος στα κητώδη από ό, τι σε άλλα θηλαστικά. (Zhou et al., 2013)

Πράγματι, μελέτες σε φάλαινες των υποτάξεων Mysticeti και Odontoceti, έπειτα από απομόνωση και πολλαπλασιασμό των *TIR1* (εξόνιο 6) και *TIR3* (εξόνιο 3) με τη μέθοδο PCR, φανέρωσαν την ύπαρξη μεταλλάξεων μετατοπισμένου πλαισίου ή/και πρόωρων κωδικονίων λήξης, τα οποία είναι χαρακτηριστικά των ψευδογονιδίων. Επιπλέον, εντοπίστηκε η αφαίρεση ενός ζεύγους βάσεων στο *TIR3* και ένα πρόωρο κωδικόνιο λήξης στο *TIR1* γονίδιο και στις δύο κατηγορίες φαλαινών, μεταλλάξεις που πιθανώς να προέρχονται από έναν κοινό πρόγονό τους και καταδεικνύουν την απώλεια της umami γεύσης. (Feng et al., 2014) Οι συγκεκριμένοι γενετικοί τόποι φαίνεται να έχουν μετατραπεί σε ψευδογονίδια, τόσο στα δελφίνια του γένους *Tursiops*, όσο και στους θαλάσσιους λέοντες (*Otariidae*). (McGowen et al., 2014)

Η αλλαγή του οικοτόπου των κητωδών από την ξηρά στη θάλασσα πριν από περίπου 52.5 εκατομμύρια χρόνια και οι μεταγενέστερες αλλαγές στη διατροφική συμπεριφορά τους είναι πιθανό να συνέβαλαν στην απώλεια της γεύσης umami. (Zhu et al., 2014) Για παράδειγμα, τα βασικά κητώδη εμφανίζουν μια σειρά συναπομορφιών (χαρακτηριστικά κοινά για όλους τους απογόνους ενός κλάδου, τα οποία απουσίαζαν σε προγονικές ομάδες), συμπεριλαμβανομένης της μείωσης της αιχμηρότητας της οδοντοστοιχίας τους, γεγονός που υποδεικνύει μια σημαντική αλλαγή της οδοντικής λειτουργίας, καθώς και της επιμήκυνσης της κροταφικής περιοχής του κρανίου των πρώιμων κητωδών. Αυτές οι συναπομορφίες θα μπορούσαν να επηρεάσουν τα αισθητήρια όργανα και, κατά συνέπεια, είναι πιθανό να σχετίζονται με διατροφικές αλλαγές στα πρώιμα κητώδη. (O'Leary MA, 1999, Nummela S, 2006) Λόγω της διαβίωσής τους σε υδάτινα περιβάλλοντα, τα θαλάσσια κήτη φαίνεται να έχουν αναπτύξει μοναδικές διατροφικές συνήθειες, συμπεριλαμβανομένης της κατάποσης των θηραμάτων τους χωρίς μάσηση, η οποία,

όπως αναφέρθηκε, συναντάται και στα πτερυγίοποδα. (Werth, 2007) Αυτές οι συνήθειες μείωσαν περαιτέρω την εξάρτηση των κητώδων από την αίσθηση της γεύσης στην αναζήτηση πηγών τροφής. Ανατομικά στοιχεία επίσης αποκαλύπτουν ότι οι φάλαινες των υποτάξεων Mysticeti και Odontoceti έχουν εκφυλισμένο γλωσσικό επιθήλιο που περιέχει μόνο ελάχιστους γευστικούς κάλυκες. Οι γλώσσες δελφινιών που ανήκουν στο γένος *Tursiops* και στα είδη *Lagenorhynchus obliquidens*, *Stenella coeruleoalba* και *Lipotes vexillifer* έχει αναφερθεί ότι δεν διαθέτουν περιχαρακωμένες, φυλλοειδείς και μυκητοειδείς θηλές. (Yoshimura et al., 2002, Zhu et al., 2014) Επιπλέον, τα περισσότερα κητώδη ζουν σε ωκεανούς, όπου οι υψηλές συγκεντρώσεις νατρίου πιθανόν να καλύπτουν άλλες ποιότητες γεύσης. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να μειώσει περαιτέρω την εξάρτησή τους από τη γεύση κατά την αναζήτηση τροφής, οδηγώντας στην απώλεια των βασικών γεύσεων, συμπεριλαμβανομένης της umami γεύσης.

Αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχουν πολλές αναφορές που περιγράφουν λεπτομερώς την κατανομή *Tas1rs* σε σημεία εκτός της στοματικής κοιλότητας, συμπεριλαμβανομένης της γαστρεντερικής οδού (Rozengurt and Sternini, 2007), του παγκρέατος (Oya et al., 2011) και του εγκεφάλου, όπου οι γευστικοί υποδοχείς διατηρούν τη δυνατότητα αλληλεπίδρασης με γευστικά ερεθίσματα, αλλά προκαλούν διαφορετικές αντιδράσεις. Υπάρχουν ακόμη άλλοι υποδοχείς που ανιχνεύουν μικρά πεπτίδια και αμινοξέα, όπως οι μεταβοτροπικοί υποδοχείς του γλουταμινικού (mGluRs) και οι υποδοχείς αντίχνευσης ασβεστίου (CaSRs). (San Gabriel et al., 2005, Conigrave and Brown, 2006) Ως εκ τούτου, δεν αποκλείεται η πιθανότητα διατήρησης μιας ασθενούς umami γεύσης από τα κητώδη, παρά το γεγονός ότι το *Tas1r1* είναι ψευδογονίδιο.

3.4.5 Η δράση της φυσικής επιλογής σε πρωτεύοντα της οικογένειας Cercopithecidae

Η οικογένεια Κερκοπιθηκίδες (Cercopithecidae), τα μέλη της οποίας είναι γνωστά ως μαϊμούδες του Παλαιού Κόσμου, είναι μία ομάδα πρωτευόντων που ταξινομικά υπάγεται στην υπεριοικογένεια των Κερκοπιθηκοειδών (Cercopithecoidea) του κλάδου των Κατάρρινων. (Delson, 1975) Το φυλογενετικό δένδρο και η ανάλυση της αλληλουχίας των αμινοξέων των TAS1R1 πρωτεϊνών αποκάλυψε ότι οι συγκεκριμένοι υποδοχείς όλων των μελών της οικογένειας Cercopithecidae υποβλήθηκαν σε θετική φυσική επιλογή, η οποία πιθανολογείται ότι έγινε με αντικατάσταση αμινοξέος, και συγκεκριμένα με αντικατάσταση του R391C από R391Q. (Liu et al., 2014) Τα πρωτεύοντα θηλαστικά μπορούν να αισθανθούν την παρουσία πρωτεΐνης μέσω της γεύσης του umami, η οποία προκαλείται από το γλουταμινικό μονονάτριο. (Rolls, 2000) Εκτός από την παρουσία του γλουταμινικού στην πρωτεΐνη των φύλλων,

αναφέρεται επίσης η ύπαρξή του στο νέκταρ και τα σύκα, τα οποία αποτελούν βασικά συστατικά της διατροφής των κερκοπιθήκων, υποδεικνύοντας έτσι τη σημασία της umami γεύσης για την επιβίωσή τους. (Simmen B, 1996, Marcia C. Wendeln, 2000)

Το γένος *Macaca* αντιπροσωπεύει μία από τις πιο επιτυχημένες προσαρμοστικές διασπάσεις (adaptive radiations) πρωτευόντων του Παλαιού Κόσμου. Ενώ οι περισσότεροι κερκοπίθηκοι περιορίζονται στην Αφρική, τα μέλη του γένους *Macaca*, με εξαίρεση τον *Macaca sylvanus* της βόρειας Αφρικής (Fooden, 1982), διανέμονται ευρέως στην Ασία, βόρεια της Ιαπωνίας και δυτικά του Αφγανιστάν, αντιπροσωπεύοντας έτσι το μοναδικό μέλος της υπο-οικογένειας *Cercopithecinae* στην ασιατική ήπειρο. (Abegg, 2002, Tosi, 2003) Σύμφωνα με παλαιοντολογικά δεδομένα, το γένος αυτό πρωτοεμφανίστηκε στη βορειοανατολική Αφρική πριν από περίπου 7 εκατομμύρια χρόνια (Delson, 1975) και εξαπλώθηκε στο μεγαλύτερο μέρος της Ευρασίας. Σήμερα, το γένος *Macaca* εντοπίζεται σε ένα ευρύ φάσμα οικοτόπων, γεγονός που αντανάκλαται και μέσα από την ποικιλομορφία της διατροφής του. (Abegg, 2002) Έρευνα έδειξε ότι ο υποδοχέας TAS1R3 στο γένος *Macaca* υπέστη τη δράση θετικής φυσικής επιλογής. Είναι γνωστό ότι ο TAS1R3 είναι το πιο διατηρημένο μέλος της οικογένειας των TAS1R υποδοχέων, λόγω της βασικής του λειτουργίας στους υποδοχείς τόσο της γλυκιάς όσο και της umami γεύσης. Ως εκ τούτου, εφόσον το γένος *Macaca* είναι το μοναδικό στο οποίο ο TAS1R3 δέχτηκε την επίδραση της φυσικής επιλογής, θεωρείται πιθανό ότι τα συγκεκριμένα πρωτεΐνα αντιλαμβάνονται την umami γεύση με διαφορετικό τρόπο, σε σχέση με άλλα συγγενικά τους είδη. (Liu et al., 2014)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο : ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΚΑΙ ΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΗΣ ΓΕΥΣΗΣ UMAMI

4.1 Εισαγωγή: Οι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες υποδοχείς

Οι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες υποδοχείς (GPCRs) μεταδίδουν στο εσωτερικό των κυττάρων εξωτερικά σήματα, τα οποία μπορεί να είναι από φωτόνια έως και μεγάλου μεγέθους γλυκοπρωτεΐνες. (Bockaert and Pin, 1999) Κατά συνέπεια, αυτοί οι υποδοχείς διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διακυτταρική επικοινωνία, όντας υποδοχείς για τις περισσότερες ορμόνες και νευροδιαβιβαστές. Παίζουν επίσης ένα σημαντικό ρόλο στην αντίληψη του περιβάλλοντος, εφόσον ενεργοποιούνται από το φως, τις οσμές, τις φερομόνες και τα γευστικά ερεθίσματα. (Pin et al., 2003) Επομένως, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι τέτοιοι υποδοχείς αυξήθηκαν σταδιακά κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των ζώων, αντιπροσωπεύοντας το 1-2% του συνολικού πλήθους των γονιδίων στα θηλαστικά. Παραδόξως, οι υποδοχείς αυτοί δεν επεκτάθηκαν σε φυτά, όπου υπάρχει μόνο ένα γονίδιο που κωδικοποιεί έναν GPCR, και μερικές ειδικές πρωτεΐνες με επτά διαμεμβρανικούς τομείς (7TM), που έχουν ταυτοποιηθεί στο γονιδίωμα του *Arabidopsis thaliana*. (Plakidou-Dymock et al., 1998, Devoto et al., 1999)

Οι GPCRs ενεργοποιούν τις ενδοκυτταρικές ετεροτριμερείς G-πρωτεΐνες, διεγείροντας την αντικατάσταση του δεσμευμένου στην α-υπομονάδα GDP, με GTP. Η δέσμευση του GTP προκαλεί τη διάσπαση της α-υπομονάδας από το β-διμερές, επιτρέποντάς τους να ρυθμίσουν τη δραστηριότητα ενζύμων - στόχων ή διαύλων που είναι υπεύθυνοι για την κυτταρική απόκριση. Επιπλέον, οι GPCRs μπορούν να ενεργοποιήσουν ενδοκυτταρικές οδούς επικοινωνίας, ανεξάρτητα από τις G-πρωτεΐνες, πιθανώς μέσω άμεσης αλληλεπίδρασης με άλλες ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες. Όλοι οι γνωστοί GPCRs έχουν έναν τομέα με κοινή δομή, αποτελούμενο από 7 διαμεμβρανικές α-έλικες (HD), των οποίων τα αμινοτελικά και καρβοξυτελικά άκρα είναι εξωκυτταρικά και ενδοκυτταρικά, αντίστοιχα. Στα θηλαστικά, η σύγκριση της ακολουθίας αυτού του τομέα βοήθησε στον εντοπισμό πολλών οικογενειών GPCRs. (Parmentier et al., 2002)

Η πρώτη αναγνωρισμένη οικογένεια (A), η οποία έχει δομή όμοια με τον υποδοχέα ροδοψίνης, περιλαμβάνει τα περισσότερα μέλη, μεταξύ των οποίων βρίσκονται οι GPCRs των νευροδιαβιβαστών (μικρά μόρια όπως η αδρεναλίνη, ντοπαμίνη, σεροτονίνη, ακετυλοχολίνη), οι GPCRs των μικρών νευροπεπτιδίων (fMLP-peptide, PAF, εγκεφαλίνες), των γλυκοπρωτεϊνικών ορμονών (LH, TSH, FSH) και οι οσφρητικοί GPCRs. Οι υποδοχείς της οικογένειας A χαρακτηρίζονται από πολλά, καλά συντηρημένα αμινοξέα, ένα δισουλφιδικό

δεσμό που συνδέει την 1^η και 2^η εξωκυτταρική θηλειά, και μια παλμιτοϋλιωμένη κυστεΐνη στο καρβοξυτελικό άκρο. (Pin et al., 2003) Η δεύτερη οικογένεια (B) χαρακτηρίζεται από ένα σχετικά μεγάλο NH₂ άκρο που περιέχει πολλές κυστεΐνες, οι οποίες σχηματίζουν ένα δίκτυο δισουλφιδικών δεσμών. Η μορφολογία των GPCRs της οικογένειας B είναι όμοια με εκείνων της οικογένειας A, με τη διαφορά ότι λείπει η θέση παλμιτοϋλίωσης, και έχουν διαφορετικά συντηρημένα αμινοξέα ή μοτίβα. Οι προσδέτες της οικογένειας αυτής είναι μεγάλες πεπτιδικές ορμόνες, όπως η γλυκαγόνη, η σεκρετίνη και η παραθυρεοειδής ορμόνη. (Hollenstein et al., 2014)

Τέλος, η τρίτη οικογένεια (C) περιλαμβάνει τους μεταβοτροπικούς υποδοχείς του γλουταμινικού, των φερομονών, τους αισθητήρες Ca²⁺ (CaSR) και τους υποδοχείς του γ-αμινοβουτυρικού οξέως GABA_B. Αυτοί οι υποδοχείς εμφανίζονται σε διμερή μορφή και χαρακτηρίζονται από ένα μεγάλο NH₂-άκρο και μια μεγάλη COOH-ουρά. (Chun, 2012) Το σημείο σύνδεσης του προσδέτη τους βρίσκεται στο αμινοτελικό άκρο, μοιάζει με το σαρκοφάγο φυτό 'εντομοπαγίδα της Αφροδίτης' (από το οποίο πήρε την ονομασία του) και περικλείει τον προσδέτη. Εκτός από το δισουλφιδικό δεσμό που συνδέει την 1^η και 2^η εξωκυτταρική τους θηλειά, τα χαρακτηριστικά των υποδοχέων αυτών δεν έχουν κοινά με την οικογένεια A. (Bockaert and Pin, 1999) Σύμφωνα με το κλασικό μοντέλο μεταγωγής σήματος μέσω GPCRs, ο υποδοχέας ενεργοποιεί μια ετεροτριμερή G πρωτεΐνη (α, βγ υπομονάδες), η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί τελεστές (effectors) και αυτοί δεύτερους αγγελιοφόρους, ικανούς να προκαλέσουν διαφορετικές βιολογικές αντιδράσεις μέσω διαφόρων μονοπατιών. Έχει ακόμα βρεθεί ότι η δράση των GPCRs ρυθμίζει σηματοδοτικά μονοπάτια άλλων υποδοχέων και συντελεί έτσι σε πιο πολύπλοκα και πολλές φορές απρόβλεπτα αποτελέσματα. (Pin et al., 2003)

4.2 Οι υποδοχείς της umami γεύσης

Διάφοροι υποδοχείς συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες, που είναι πιθανό να λειτουργούν ως υποδοχείς της γεύσης umami, έχουν αναγνωριστεί μοριακά σε γευστικά κύτταρα. Μεταξύ αυτών, περιλαμβάνεται ο ετεροδιμερής υποδοχέας T1R1/T1R3 (Nelson et al., 2002) και οι μεταβοτροπικοί υποδοχείς του γλουταμινικού mGluR1 και mGluR4. (Toyono et al., 2002, San Gabriel et al., 2005) Ο υποδοχέας της umami γεύσης, ο οποίος είναι καλύτερα κατανοητός μέχρι στιγμής, είναι ο ετεροδιμερής T1R1 / T1R3. Ο συγκεκριμένος υποδοχέας έχει απομονωθεί τόσο σε ποντίκια όσο και σε ανθρώπους, έχει κλωνοποιηθεί και έχει εκφρασθεί λειτουργικά σε ετερόλογους ξενιστές. Στα τρωκτικά, ο T1R1/T1R3 αποκρίνεται σε μια ποικιλία L-αμινοξέων, (Nelson et al., 2002) ενώ στον άνθρωπο ο συγκεκριμένος υποδοχέας αποκρίνεται ειδικά στο L-

γλουταμινικό. (Li et al., 2002) Τόσο στον άνθρωπο όσο και στα τρωκτικά, ο υποδοχέας αυτός εμφανίζει ισχυρή συνέργεια, όταν συνυπάρχει με IMP ή GMP. Σε κάποιες μελέτες, η απενεργοποίηση (knock-out) των γονιδίων οποιουδήποτε εκ των δύο υποδοχέων (T1R1, T1R3) σε ποντίκια, οδήγησε σε απώλεια της umami γεύσης, γεγονός που επιβεβαίωναν συμπεριφορικές και ηλεκτροφυσιολογικές δοκιμασίες. (Zhao et al., 2003) Ωστόσο, σε άλλες μελέτες, η απενεργοποίηση του *T1R3* κατήργησε μόνο την ενισχυτική δράση των νουκλεοτιδίων στην αντίληψη του umami, με ελάχιστη επίδραση στις γευστικές αποκρίσεις στο γλουταμινικό. (Damak et al., 2003) Πλήθος μελετών έχουν ως τώρα εξετάσει τις γευστικές αποκρίσεις ποντικών στην umami γεύση, επιβεβαιώνοντας ότι είναι πιθανό να εμπλέκονται διάφοροι υποδοχείς στη μεταγωγή της συγκεκριμένης γεύσης. (Delay et al., 2006, Maruyama et al., 2006)

4.2.1 Ο ετεροδιμερής T1R1/T1R3 υποδοχέας της umami γεύσης

Η ανακάλυψη των οσφρητικών υποδοχέων από τους Buck και Axel το 1991, (Buck and Axel, 1991) έδωσε το έναυσμα για την διεξαγωγή μελετών στο επιθήλιο της γλώσσας, προς αναζήτηση των γευστικών υποδοχέων. Αρχικά, οι T2Rs αναγνωρίστηκαν ως υποδοχείς για πικρά ερεθίσματα (Chandrashekar et al., 2000) και το ετεροδιμερές σύμπλεγμα T1R2/T1R3 ταυτοποιήθηκε ως ο υποδοχέας της γλυκιάς γεύσης από έναν αριθμό ερευνητικών ομάδων. (Zhao et al., 2003) Το 2001, ο T1R1/T1R3 αναγνωρίστηκε ως υποδοχέας αμινοξέων. (Nelson et al., 2002) Αυτός ο υποδοχέας, ο οποίος εντοπίστηκε σε ποντίκια, εμφάνιζε συνέργεια μεταξύ της 5'-μονοφωσφορικής ινοσίνης και, όχι μόνο του γλουταμινικού αλλά και πολλών άλλων αμινοξέων. Το συγκεκριμένο εύρημα ήταν σύμφωνο με την καταγραφή αποκρίσεων γευστικών νεύρων σε αρουραίους και ποντίκια, αν και στον άνθρωπο, συνέργεια παρατηρήθηκε μόνο μεταξύ 5'-μονοφωσφορικής ινοσίνης και γλουταμινικού. (Yoshii et al., 1986, Nelson et al., 2002) Η συμπεριφορά αυτή του T1R1/T1R3 υποδοχέα επιβεβαιώθηκε από ψυχοφυσικά δεδομένα στον άνθρωπο, γεγονός που οδήγησε στην αναγνώρισή του ως υποδοχέας της umami γεύσης.

Οι T1Rs, συμπεριλαμβανομένων των T1R1 και T1R3, ανήκουν στην οικογένεια C των συζευγμένων με G-πρωτεΐνες υποδοχέων (GPCRs) και έχουν τρεις διακριτές περιοχές: μια μεγάλη εξωκυτταρική περιοχή, μια περιοχή αποτελούμενη από επτά διαμεμβρανικές έλικες και μια κυτταροπλασματική περιοχή. (Muto et al., 2007) Η εξωκυτταρική περιοχή διαιρείται περαιτέρω στην περιοχή σύνδεσης του προσδέτη, η οποία, όπως αναφέρθηκε, συχνά ονομάζεται και 'εντομοπαγίδα της Αφροδίτης', και στον πλούσιο σε κυστεΐνη τομέα, ο οποίος

παρεμβάλλεται μεταξύ του σημείου πρόσδεσης και των διαμεμβρανικών τομέων. (Kurihara, 2015)

Με τη βοήθεια της τοπο-κατευθυνόμενης μεταλλαξιγένεσης και της μοριακής μοντελοποίησης, εντοπίστηκε η ύπαρξη θέσεων πρόσδεσης του γλουταμινικού και της 5'-μονοφωσφορικής ινοσίνης σε ανθρώπινο υποδοχέα της γεύσης umami, στην εντομοπαγίδα της Αφροδίτης (VFT) της T1R1 υπομονάδας. (Zhang et al., 2008) Η περιοχή VFT αποτελείται από δύο λοβούς, οι οποίοι χωρίζονται μεταξύ τους από μια σχισμή, όπου συνδέεται ο ενδογενής προσδέτης (γλουταμινικό), με αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση της ενεργής αυτής διαμόρφωσης. Η 5'-μονοφωσφορική ινοσίνη δεσμεύεται σε μια γειτονική θέση, κοντά στο σημείο πρόσδεσης του γλουταμινικού, συμβάλλοντας στην περαιτέρω σταθεροποίηση της ενεργού διαμόρφωσης. Η δομή του T1R1 βρίσκεται σε δυναμική ισορροπία, όπου η αναλογία κλειστών (ενεργών) και ανοικτών (ανενεργών) διαμορφώσεων ρυθμίζεται από την παρουσία/απουσία προσδέτη. Έτσι, η συνέργεια φαίνεται να επάγεται από αλλοστερική ρύθμιση. (Mouritsen and Khandelia, 2012, Lopez Cascales et al., 2010)

4.2.2 Οι μεταβοτροπικοί υποδοχείς του γλουταμινικού

Το γλουταμινικό διαδραματίζει το ρόλο του νευροδιαβιβαστή στον εγκέφαλο. Υπάρχουν αρκετοί διαφορετικοί τύποι υποδοχέων του γλουταμινικού, συμπεριλαμβανομένων των iGluRs (ionotropic glutamate receptors) και των mGluRs (metabotropic glutamate receptors). Η ιδέα ότι οι υποδοχείς του γλουταμινικού στον εγκέφαλο μπορεί να είναι υποψήφιοι υποδοχείς για τη γεύση umami σε γευστικούς κάλυκες, οδήγησε σε αναζήτησή τους στο επιθήλιο της γλώσσας αρουραίων. (Chaudhari et al., 2000) Ένας αριθμός iGluRs φάνηκε να εκφράζεται στον επιθηλιακό ιστό της γλώσσας τους, ωστόσο οι υποδοχείς αυτοί δεν εκφράζονταν επιλεκτικά σε γευστικούς κάλυκες. Από την άλλη πλευρά, εντοπίστηκε στους κάλυκες της γλώσσας αρουραίων η έκφραση του mGluR4, ο οποίος ανήκει στους μεταβοτροπικούς υποδοχείς του γλουταμινικού. (Kurihara, 2015)

Ο mGluR4 είναι ένας συζευγμένος με G-πρωτεΐνες υποδοχέας της οικογένειας C και διαθέτει ένα μακρύ εξωκυτταρικό αμινοτελικό άκρο. Ο υποδοχέας mGluR4 που εντοπίστηκε πειραματικά σε γευστικούς κάλυκες ήταν μια ασυνήθιστη παραλλαγή του συγκεκριμένου υποδοχέα, εφόσον βρέθηκε ότι εμφανίζει έλλειψη κατά περίπου 50% του εξωκυτταρικού αμινοτελικού άκρου του. Έτσι, ο γευστικός υποδοχέας mGluR4 αποτελεί μια κολοβωμένη εκδοχή του mGluR4 που εντοπίζεται στον εγκέφαλο. (Pin et al., 2003) Η συγκέντρωση του

γλουταμινικού που απαιτείται για την ενεργοποίηση του γευστικού υποδοχέα mGluR4 είναι περίπου δύο τάξεις μεγέθους μεγαλύτερη σε σχέση με τον mGluR4 στον εγκέφαλο, ο οποίος είναι αρκετά πιο ευαίσθητος στο γλουταμινικό. Η συγκέντρωση του γλουταμινικού που είναι ικανή να ενεργοποιήσει την αίσθηση της umami γεύσης είναι 1-3mM σε τροφικά, η οποία είναι αντίστοιχη με τη συγκέντρωση ενεργοποίησης του γευστικού υποδοχέα mGluR4. Ωστόσο, έρευνες έδειξαν ότι, στο συγκεκριμένο υποδοχέα, το φαινόμενο της συνέργειας μεταξύ γλουταμινικού και 5'-νουκλεοτιδίων δεν παρατηρείται. (Kurihara, 2015) Στη συνέχεια, ακολούθησε η ανακάλυψη του mGluR1 σε γευστικούς κάλυκες, ο οποίος είναι επίσης ένας μεταβοτροπικός υποδοχέας του γλουταμινικού. (San Gabriel et al., 2005)

Ο mGluR1, ο οποίος ανήκει στους GPCRs, είναι ένας υποδοχέας που εκφράζεται κυρίως στα μετασυναπτικά νευρωνικά στοιχεία του εγκεφαλικού φλοιού, στον υπόκαμπο, στο ραβδωτό, στον θάλαμο, στον υποθάλαμο και στον εγκεφαλικό φλοιό. (Shigemoto et al., 1992) Στο κεντρικό νευρικό σύστημα, μεσολαβεί στη δράση του διεγερτικού νευροδιαβιβαστή L-γλουταμινικού. Η επαγωγή της νευρωνικής ανάπτυξης, η ρύθμιση της συναπτικής πλαστικότητας, ο νευροεκφυλισμός και η ενεργοποίηση των αστροκυττάρων είναι μερικοί μόνο από τους ρόλους του mGluR1 στον εγκέφαλο. (Valenti et al., 2002) Η κύρια μεταγωγική οδός του βασίζεται στην ετεροτριμερή G-πρωτεΐνη Gq και στη φωσφολιπάση C (PLC), η οποία αυξάνει τη συγκέντρωση της 1,4,5-τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP3), με επακόλουθη απελευθέρωση Ca^{2+} από τις IP3-εξαρτώμενες, ενδοκυτταρικές αποθήκες Ca^{2+} . (San Gabriel et al., 2009a) Έχουν επίσης ανακαλυφθεί και άλλες σηματοδοτικές οδοί που πιθανώς να συσχετίζονται με τον mGluR1 υποδοχέα, συμπεριλαμβανομένων εκείνων της αδενυλικής κυκλάσης, της κινάσης της τυροσίνης και της κινάσης MAP (mitogen-activated protein kinase). Αυτή η ευρεία ικανότητα μεταγωγής σημάτων παρέχει μεγάλη ευελιξία στη φυσιολογική λειτουργία του mGluR1. Τα κύτταρα των γευστικών υποδοχέων εκφράζουν την $\beta 2$ ισομορφή της PLC (PLC $\beta 2$), παράγοντες σηματοδότησης Ca^{2+} και αδενυλική κυκλάση. (Zhang et al., 2003, Abaffy et al., 2003) Έτσι, ο γλωσσικός ιστός φαίνεται να περιλαμβάνει το κατάλληλο υπόβαθρο για να υποστηρίξει τη δράση του mGluR1. Εντούτοις, ο mGluR1 ενεργοποιείται με $\mu\text{mol L-}\gamma\text{-γλουταμινικού/L}$, ενώ η ποσότητα ελεύθερου L-γλουταμινικού άλατος από τη διατροφή είναι της τάξεως των $\text{mmol L-}\gamma\text{-γλουταμινικού / L}$, το οποίο είναι εντός του εύρους κορεσμού του υποδοχέα. (Masu et al., 1991)

Ο mGluR1 είναι μέρος της οικογένειας C των GPCRs. Έχει έναν τομέα με 7 διαμεμβρανικές έλικες (7TM) που είναι υπεύθυνος για την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης G και ένα μεγάλο εξωκυτταρικό αμινοτελικό (NTD) όπου γίνεται η σύνδεση του προσδέτη. (Hermans and Challiss, 2001, Pin et al., 2003) Η εντομοπαγίδας της Αφροδίτης (VFT) του NTD είναι δομικά παρόμοια με τις περιπλασματικές πρωτεΐνες σύνδεσης (PBPs, Periplasmic Binding Proteins)

βακτηρίων, (O'Hara et al., 1993) και συνδέεται με αμινοξέα, κατιόντα, ακόμα και με ορισμένα πεπτίδια. (Wang et al., 2006) Οι περισσότεροι χημειοϋποδοχείς που είναι ικανοί να διακρίνουν ένα ευρύ φάσμα χημικών σημάτων ανήκουν σε αυτήν την οικογένεια μαζί με τους mGluRs και είναι: ο υποδοχέας GABA_B, ο υποδοχέας ανίχνευσης ασβεστίου και οι T1rs γευστικοί υποδοχείς. (San Gabriel et al., 2009a) Αυτό θα μπορούσε να εξηγήσει την παρουσία του mGluR1 στον γευστικό ιστό και τη δυνατότητά του να συμμετέχει στην αντίληψη του L-γλουταμινικού. Η κρυσταλλική δομή του mGluR1 υποδεικνύει ότι το σημείο σύνδεσης του προσδέτη σχετίζεται με τη VFT δομή εντός του NTD (Kunishima et al., 2000) και ότι η ενεργοποίησή του εξαρτάται από το σχηματισμό μιας ενεργούς διαμόρφωσης με το ομοδιμερές της εντομοπαγίδας της Αφροδίτης, το οποίο συνδέεται με δισουλφιδικό δεσμό. (Kubo and Tateyama, 2005) Όπως και στην περίπτωση των mGluR4, οι mGluR1 υποδοχείς που εντοπίστηκαν σε γευστικούς κάλυκες εμφανίζουν κοινές μεταγωγικές οδούς με την umami γεύση και διαθέτουν ένα βραχύ αμινοτελικό άκρο, από το οποίο λείπει μεγάλο μέρος της δομής VFT, με αποτέλεσμα να διαφέρουν από τους αντίστοιχους υποδοχείς που εντοπίζονται στον εγκέφαλο. (San Gabriel et al., 2009a)

4.3 Οι τελεστές και η μεταγωγή της umami γεύσης

Το ετεροδιμερές T1R1 / T1R3 συνδέεται με μια ετερομερή G πρωτεΐνη, όπου η υπομονάδα Gβγ φαίνεται να μεσολαβεί στο μεγαλύτερο μέρος της μεταγωγικής οδού. Η δέσμευση του προσδέτη ενεργοποιεί το σύμπλοκο Gβ3γ13, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C β2 (PLCβ2), (Huang et al., 1999) η οποία επάγει τη σύνθεση τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP3) και διακυλογλυκερόλης. Η ινοσιτόλη ενεργοποιεί τον IP3 υποδοχέα τύπου III (IP3R3) (Clapp et al., 2001), με αποτέλεσμα την απελευθέρωση Ca²⁺ από ενδοκυτταρικές αποθήκες και την Ca²⁺-εξαρτώμενη ενεργοποίηση των TRPM5, τα οποία είναι κανάλια παροδικού ρεύματος κατιόντων. (Zhang et al., 2007) Οι δίαυλοι TRPM5 αναλαμβάνουν την εκπόλωση των γευστικών κυττάρων, η οποία επάγει τη δημιουργία δυναμικού δράσης και την απελευθέρωση ATP, που ενεργοποιεί iGluR πουρινοϋποδοχείς σε γευστικές προσαγωγές νευρικές ίνες. (Huang et al., 2007, Romanov et al., 2007) Αποδεικτικά στοιχεία της εμπλοκής αυτής της οδού στη μεταγωγή της γεύσης umami προέρχονται από διάφορες μελέτες. Πρώτον, όλοι αυτοί οι τελεστές συνεκφράζονται με το ετεροδιμερές T1R1 / T1R3 στα γευστικά κύτταρα τύπου II. (Zhang et al., 2003) Δεύτερον, η απενεργοποίηση των PLCβ2, IP₃R3 και TRPM5 οδηγεί σε εξασθένηση της απόκρισης σε ερεθίσματα της umami γεύσης, με τρόπο παρόμοιο με

εκείνον που προκαλεί η απενεργοποίηση T1R3. (Hisatsune et al., 2007, Damak et al., 2006, Damak et al., 2003) Τρίτον, μελέτες έδειξαν ότι οι φαρμακολογικοί αναστολείς της PLCβ2 και της Ca^{2+} -ΑΤΡασης, οι οποίες διατηρούν τις ενδοκυτταρικές αποθήκες ασβεστίου, ουσιαστικά εξαλείφουν τις αποκρίσεις στο γλουταμινικό και τα νουκλεοτίδια που εφαρμόζονται επιλεκτικά στο γευστικό πόρο. (Maruyama et al., 2006)

Η υπομονάδα Ga που μεσολαβεί στη μεταγωγή της umami γεύσης ποικίλλει ανάλογα με το υπό εξέταση σημείο της στοματικής κοιλότητας. Στις μυκητοειδείς γευστικές θηλές, καθώς και στις γευστικές θηλές της υπερώας, ο T1R1/T1R3 συνεκφράζεται σχεδόν εξ ολοκλήρου με την α-γευστίνη, ενώ στις περιχαρακωμένες και φυλλοειδείς γευστικές θηλές ο υποδοχέας αυτός συνεκφράζεται με τη διαφορετική, και μέχρι σήμερα άγνωστη, Ga-γευστίνη. (Kim et al., 2003, Stone et al., 2007) Η Ga-γευστίνη σχετίζεται με την Ga-μεταγωγίνη (Ga-transducin), η οποία επίσης εκφράζεται σε γευστικούς κάλυκες. Τόσο η α-μεταγωγίνη όσο και η α-γευστίνη ενεργοποιούν φωσφοδιεστεράσες (PDEs), με αποτέλεσμα τη μείωση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης cAMP. Η απενεργοποίηση είτε της α-γευστίνης είτε της α-μεταγωγίνης επηρεάζει την ανίχνευση της γεύσης του umami, γεγονός που υποδηλώνει ότι, τόσο η Ga-γευστίνη όσο και η Ga-μεταγωγίνη, συμμετέχουν στη μεταγωγή του umami. (He et al., 2004) Φυσιολογικές μελέτες υποστηρίζουν επίσης την ύπαρξη ενός ρόλου του cAMP στην γεύση του umami. Επειδή η ενεργοποίηση των PDEs καταστέλλει τις συγκεντρώσεις cAMP, το cAMP θα πρέπει να ανταγωνίζεται τις αποκρίσεις σε ερεθίσματα umami ουσιών. Αυτό έχει επιβεβαιωθεί και από μελέτες μυκητωδών γευστικών θηλών σε αρουραίους, όπου αποκρίσεις στο γλουταμινικό, το GMP και τη συνεργιστική απόκριση των δύο, καταστέλλονται από cAMP. (Lin et al., 2003)

Επιπλέον, βιοχημικές μελέτες έχουν δείξει ότι το γλουταμινικό μειώνει τις συγκεντρώσεις cAMP σε γευστικούς κάλυκες και ότι η απόκριση αυτή ενισχύεται από 5'-νουκλεοτίδια. (Abaffy et al., 2003, Trubey et al., 2006) Αυτά τα τελευταία πειράματα διεξήχθησαν σε περιχαρακωμένες γευστικές θηλές αρουραίου, γεγονός που υποδηλώνει ότι το cAMP ρυθμίζει την σηματοδότηση της umami γεύσης στο οπίσθιο τμήμα της γλώσσας. Γενικά, ο ρόλος του cAMP στη μεταγωγή της συγκεκριμένης γεύσης παραμένει ασαφής. CNG δίαυλοι (Cyclic nucleotide-gated ion channels) έχουν εντοπιστεί σε γευστικούς κάλυκες θηλαστικών (Misaka et al., 1997), αλλά φυσιολογικές μελέτες απέτυχαν να δείξουν μεταβολές της αγωγιμότητας σε απόκριση της διεύθυνσης cAMP αναλόγων εντός των γευστικών κυττάρων. Είναι πιο πιθανό ότι το cAMP διαμορφώνει την αποτελεσματικότητα της σηματοδότησης Ca^{2+} . Τόσο ο IP3R3 υποδοχέας (Giovannucci et al., 2000) όσο και η PLCβ2 (Kinnamon, 2009) ρυθμίζονται σε άλλους ιστούς με φωσφορυλίωση εξαρτώμενη από cAMP, και φαίνεται ότι, και στις δύο περιπτώσεις, η φωσφορυλίωση μειώνει την ποσότητα Ca^{2+} που απελευθερώνεται από τις ενδοκυτταρικές

αποθήκες. Ωστόσο, περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για να καθοριστεί εάν μειώσεις στη συγκέντρωση cAMP, μεσολαβούμενες από α-γευσίνη ή α-μεταγωγίνη ρυθμίζουν τη σηματοδότηση του Ca^{2+} στους γευστικούς κάλυκες. (Fernstrom, 2009)

4.4 Οι προσδέτες των υποδοχέων της γεύσης umami

Οι GPCRs της οικογένειας C διαθέτουν πολλαπλές τοποθεσίες δέσμευσης προσδετών, ως αποτέλεσμα της ιδιαίτερα περίπλοκης δομής και του μηχανισμού ενεργοποίησής τους. Αυτές οι θέσεις δέσμευσης διαιρούνται σε δύο κατηγορίες: τις ορθοστερικές και τις αλλοστερικές. (Chun, 2012) Οι θέσεις σύνδεσης των ενδογενών προσδετών, ή ορθοστερικές θέσεις, βρίσκονται στην περιοχή VFT. Η πρόσδεση ανταγωνιστών ή αγωνιστών, στον έναν ή και στους δύο λοβούς των VFT υπομονάδων, επιφέρει μεγάλες χωροταξικές αλλαγές στα διμερή VFT με τέτοιο τρόπο ώστε οι δύο λοβοί να κλείνουν γύρω από τον νευροδιαβιβαστή. Η δέσμευση ενός αγωνιστή σταθεροποιεί την κλειστή, ενεργή διαμόρφωση, (Bessis et al., 2002) ενώ η δέσμευση ανταγωνιστών σταθεροποιεί μια ανοικτή, ανενεργή διαμόρφωση. (Tsuchiya et al., 2002, Muto et al., 2007) Τέλος, η σύνδεση μερικών (ή ατελών) αγωνιστών καταλήγει σε ένα μερικό ή πλήρες, αλλά ασταθές, κλείσιμο του τομέα VFT. (Bessis et al., 2002, Frauli et al., 2007) Από την άλλη πλευρά, οι αλλοστερικές τοποθεσίες είναι τοπογραφικά διακριτές από τις ορθοστερικές σε οποιονδήποτε δεδομένο υποδοχέα. Η σύνδεση των αλλοστερικών ρυθμιστών αλλάζει τη διαμόρφωση του υποδοχέα και, συνεπώς, τη συγγένεια και/ή την αποτελεσματικότητα των ορθοστερικών προσδετών. Σε γενικές γραμμές, οι θετικοί αλλοστερικοί τροποποιητές (PAMs) διευκολύνουν τη δράση των ορθοστερικών αγωνιστών, ενώ οι αρνητικοί αλλοστερικοί τροποποιητές (NAMs) εμποδίζουν την ενεργοποίηση των ορθοστερικών αγωνιστών, σταθεροποιώντας τον διαμεμβρανικό τομέα (7TM) σε μια αδρανή διαμόρφωση. (Chun, 2012)

Όπως αναφέρθηκε, οι εκφραζόμενοι υποδοχείς της γεύσης umami μπορούν να διαχωρισθούν σε δύο κατηγορίες, με βάση την ανταπόκρισή τους στο γλουταμικό. Ο υποδοχέας T1R1/T1R3 και οι γευστικοί υποδοχείς mGluR1 και mGluR4 ανταποκρίνονται σε συγκέντρωση γλουταμινικού της τάξης των mM, ενώ οι εγκεφαλικές εκδοχές των mGluR1 και mGluR4 έχουν την ικανότητα απόκρισης σε μικρομοριακές συγκεντρώσεις γλουταμινικού. (Monastyrskaya et al., 1999, Conn and Pin, 1997) Έτσι, υπάρχει η πιθανότητα ότι οι υποδοχείς mGluR του εγκεφάλου, με μεγαλύτερη ευαισθησία στο γλουταμινικό από τους γευστικούς υποδοχείς mGluR4, T1R1/T1R3 και mGluR1, μπορεί επίσης να εμπλέκονται στην αντίληψη της γεύσης umami. (Nakashima et al., 2012) Οι κύριες ενώσεις που έχουν συσχετιστεί με τη γεύση του umami, πέρα από το

γλουταμινικό οξύ, είναι η 5'-μονοφωσφορική αδενοσίνη (AMP), η 5'-μονοφωσφορική γουανοσίνη (GMP) και η 5'-μονοφωσφορική ινoσίνη (IMP). Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια, έχουν διεξαχθεί διάφορες μελέτες με σκοπό την ανακάλυψη και άλλων μορίων που πιθανόν να συνδέονται με τους γευστικούς υποδοχείς του umami, λειτουργώντας ως ενισχυτικά γεύσης. (Beksan et al., 2003)

Διερεύνηση των δομικών χαρακτηριστικών ενώσεων που δρουν ως ενισχυτικά γεύσης οδήγησε στην πρόταση ότι η ύπαρξη δύο αρνητικών φορτίων με απόσταση 3-9, ή κατά προτίμηση 4-6 άτομα άνθρακα είναι το απαραίτητο δομικό μοτίβο που οδηγεί σε βελτίωση της γεύσης. (Beksan et al., 2003) Εκτός από το L-γλουταμινικό οξύ, το L-ασπαρτικό οξύ πληροί επίσης αυτές τις προϋποθέσεις, καθώς και τα δικαρβοξυλικά οξέα ηλεκτρικό οξύ και τρυγικό οξύ, τα οποία έχουν την απαραίτητη δομή και παράλληλα προκαλούν μια ασθενή γεύση umami. Πράγματι, υδατικά διαλύματα ηλεκτρικού νατρίου φάνηκε να παρουσιάζουν γευστικές ιδιότητες παρόμοιες με εκείνα του γλουταμινικού νατρίου (Velisek, 1978), ενώ το L-ασπαρτικό οξύ ταυτοποιήθηκε *in vivo* ως προσδέτης του T1R1/T1R3 στον άνθρωπο, παρουσία IMP. (Bachmanov and Beauchamp, 2007b) Αντίστοιχες μελέτες κατέδειξαν την ένωση L-AP4 (L-2-amino-4-phosphonobutyric acid) ως αγωνιστή τόσο του mGluR4 όσο και του T1R1/T1R3 υποδοχέα της umami γεύσης, παρουσία IMP. (Bachmanov and Beauchamp, 2007b, Kurihara and Kashiwayanagi, 2000) Επιπλέον, ορισμένα υδρόφιλα δι-, τρι- και τετραπεπτίδια που περιέχουν πολικές πλευρικές αλυσίδες, όπως Glu-Asp, Glu-Glu, Asp-Glu, Thr- Glu, Asp-Glu-Ser, Glu-Gly-Ser και Asp-Asp-Asp-Asp, έχει περιγραφεί ότι προκαλούν ένα γευστικό αποτέλεσμα παρόμοιο με εκείνο του MSG. (Arai, 1972b, Nogushi, 1975) Ο ρόλος των συγκεκριμένων πεπτιδίων ως ενώσεις της umami γεύσης είναι, εντούτοις, αμφιλεγόμενος και όχι ευρέως αποδεκτός από την επιστημονική κοινότητα. (Beksan et al., 2003)

4.5 Τα γονίδια της γεύσης umami

Πρόσφατα γενετικά δεδομένα σχετικά με τη χρωμοσωμική θέση των γονιδίων που κωδικοποιούν τους πρωτεϊνικούς υποδοχείς της umami γεύσης, καταδεικνύουν την ύπαρξή τους στα χρωμοσώματα 1 και 6. Πιο συγκεκριμένα, το *T1R1* γονίδιο του ανθρώπου εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1, στη θέση 1p36.31. (Liao and Schultz, 2003) Αποτελείται από περίπου 24.500 ζεύγη βάσεων και διαθέτει 6 εξόνια (Bjarnadottir et al., 2005), τα οποία όπως συναντώνται στο γονίδιο από το κωδικόνιο έναρξης προς το κωδικόνιο λήξης του, αποτελούνται από 190, 306, 761, 212, 120 και 931 ζεύγη βάσεων αντίστοιχα (NCBI database). Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί

την TAS1R1 πρωτεΐνη, η οποία αποτελείται από 841 αμινοξέα και περιέχει 7 διαμεμβρανικούς τομείς, χαρακτηριστικούς των συζευγμένων με G-πρωτεΐνες υποδοχέων. (Bjarnadottir et al., 2005) Το *T1R3* γονίδιο του ανθρώπου εντοπίζεται επίσης στο χρωμόσωμα 1, αλλά σε διαφορετική θέση, την 1p36.33. (Max et al., 2001) Το συγκεκριμένο γονίδιο αποτελείται από μόλις 3997 ζεύγη βάσεων και διαθέτει και αυτό 6 εξόνια, τα οποία διαμορφώνονται από 190, 300, 782, 203, 120 και 958 ζεύγη βάσεων το καθένα, όπως συναντώνται από την έναρξη προς τη λήξη της κωδικοποιητικής αλληλουχίας του γονιδίου (NCBI database). Το ανθρώπινο *TAS1R3* γονίδιο κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη 852 περίπου αμινοξέων με χαρακτηριστικά αντίστοιχα της TAS1R1 πρωτεΐνης. (Bjarnadottir et al., 2005) Το γονίδιο του μεταβοτροπικού υποδοχέα του γλουταμινικού mGluR1, σύμφωνα με την πλειοψηφία των γενετικών δεδομένων εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6, και συγκεκριμένα στη θέση 6q24.3. (Stephan et al., 1996) Αποτελείται από 409.965 ζεύγη βάσεων και περιέχει 8 εξόνια (Bjarnadottir et al., 2005) 699, 249, 235, 246, 168, 126, 930 και 66 βάσεων στην κωδικοποιητική του αλληλουχία (NCBI database). Το mGluR1 γονίδιο έχει 4 διαφορετικές ισομορφές, τις mGluR1a, mGluR1b, mGluR1c και mGluR1d, καθεμία από τις οποίες κωδικοποιεί πρωτεΐνες 1.195, 906, 908 και 887 αμινοξέων αντίστοιχα. (Makoff et al., 1997) Τέλος, το γονίδιο του μεταβοτροπικού υποδοχέα του γλουταμινικού mGluR4 εντοπίζεται επίσης στο χρωμόσωμα 6, στη θέση 6p21.31. Το γονίδιο αυτό απαρτίζεται από 136.980 ζεύγη βάσεων και διαθέτει 12 εξόνια αποτελούμενα κατά μέσο όρο από 600 ζεύγη βάσεων το καθένα, με διακύμανση από 126 έως 4227 ζεύγη βάσεων (NCBI database). Η mGluR4 πρωτεΐνη που κωδικοποιεί αποτελείται από 912 αμινοξέα στον άνθρωπο και εμφανίζει περίπου 90% ομοιότητα με την αντίστοιχη πρωτεΐνη που εκφράζεται στα ποντίκια. (Makoff et al., 1996)

Αρκετές μελέτες έχουν αφιερωθεί στην αναζήτηση απαντήσεων σχετικά με το εάν εμφανίζονται μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) σε ανθρώπινα γονίδια *T1R1* και *T1R3* και αν αυτοί οι πολυμορφισμοί είναι υπεύθυνοι για διαφορές που έχουν εντοπιστεί στην αντίληψη της γεύσης umami. (Lugaz et al., 2002) Η πλειοψηφία των μη-συνώνυμων SNPs (nsSNPs) εντοπίστηκαν στην υπομονάδα T1R1, η οποία αποτελεί μέρος του ετεροδιμερούς T1R1/T1R3 υποδοχέα αντίληψης της umami γεύσης. Από 18 θέσεις μετάλλαξης που αναγνωρίστηκαν (Kim et al., 2006), δύο βρέθηκαν στο μεγάλο εξωκυτταρικό αμινοτελικό άκρο. Για την ανθρώπινη υπομονάδα T1R3, 11 μη-συνώνυμες σημειακές μεταλλάξεις ταυτοποιήθηκαν με τις ίδιες μελέτες. Σε αντίθεση με τον T1R1, οι παρατηρούμενοι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί στον T1R3 υποδοχέα είναι πιο ομοιόμορφα καταναμημένα μεταξύ των εξωκυτταρικών (7 nsSNPs) και των διαμεμβρανικών (4 nsSNPs) περιοχών.

Σε μία μελέτη των Shigemura και συνεργατών, ο μη-συνώνυμος πολυμορφισμός στη θέση 372 της πρωτεϊνικής αλυσίδας του T1R1 αντιστοιχούσε σε σημαντικές διαφορές στην αντίληψη του L-γλουταμινικού μονονατρίου καθώς και σε μείγματα του L-γλουταμινικού μονονατρίου με 5'-μονοφωσφορική ινοσίνη (IMP). (Shigemura et al., 2009) Λειτουργικός χαρακτηρισμός των παραλλαγών T1R1-372A και T1R1-372T με ετερόλογη έκφραση αποκάλυψε διαφορά στη μεταξύ τους ευαισθησία, με την παραλλαγή T1R1-372T να είναι πιο ευαίσθητη. Στο ίδιο σύνολο πειραμάτων, αναλύθηκε η θέση μετάλλαξης R757C του T1R3. Σε αυτή την περίπτωση, η παραλλαγή T1R3-757R ήταν πιο ευαίσθητη από την T1R3-757C για το L-γλουταμινικό μονονάτριο, καθώς και για το μείγμα του με την 5'-μονοφωσφορική ινοσίνη. Τα *in vitro* δεδομένα σχετικά με τη θέση 757 του T1R3 επιβεβαιώθηκαν και από ψυχοφυσικά πειράματα σε ανθρώπους. (Shigemura et al., 2009)

Σε μια ανεξάρτητη μελέτη, όπου συμμετείχαν 142 άτομα γαλλικής καταγωγής, πραγματοποιήθηκε ανάλυση του γενετικού υποβάθρου των συμμετεχόντων και εξέταση του βαθμού ευαισθησίας τους στο γλουταμινικό. Παρόλο που υπήρξε προφανής συσχέτιση μεταξύ μη-συνώνυμων θέσεων στα T1R1 (A110V, A372T) και T1R3 (R757C) γονίδια και μεμονωμένων διαφορών στην αντίληψη του L-γλουταμινικού, η παρατηρούμενη διακύμανση μπορούσε να εξηγηθεί μόνο εν μέρει. (Raliou et al., 2009) Θα πρέπει να σημειωθεί ότι δύο από τις τρεις θέσεις που προσδιορίστηκαν στην παρούσα μελέτη είναι ίδιες με αυτές που χαρακτηρίστηκαν από τον Shigemura και τους συνεργάτες του. Το εύρημα ότι το T1R1-372T ήταν συχνότερο σε 'tasters' και ότι το T1R3-757C συσχετίζεται με τον φαινότυπο 'nontaster' βρίσκεται επίσης σε συμφωνία με τα δεδομένα που παρουσιάστηκαν στην προαναφερθείσα μελέτη. (Shigemura et al., 2009) Ωστόσο, πρέπει να αναφερθεί ότι μια παρόμοια ανάλυση που πραγματοποιήθηκε από τους Chen και συνεργάτες σε 242 άτομα έδειξε ότι τα πιο σπάνια αλληλόμορφα εκ των τριών μη-συνώνυμων μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών του T1R3 γονιδίου (T1R3-5T, T1R3-247H και T1R3-757C) έχουν ως αποτέλεσμα υψηλότερη ευαισθησία στο umami για ορισμένες συγκεντρώσεις L-γλουταμινικού μονοκαλίου. (Chen et al., 2009) Όσον αφορά τη θέση 757, αυτό το συμπέρασμα έρχεται σε αντίθεση με τις μελέτες που αναφέρθηκαν προηγουμένως (Shigemura et al., 2009, Raliou et al., 2009) και απαιτεί περεταίρω διερεύνηση. Τέλος, ο Chen και οι συνεργάτες του αναγνώρισαν δύο ακόμη πολυμορφισμούς σε 'tasters', τους C329T στο *TAS1R1* γονίδιο και C2269T στο *TAS1R3*, καθώς και τον G1114A πολυμορφισμό στο *TAS1R1* γονίδιο των 'nontasters'. (Chen et al., 2009, Loper et al., 2015)

4.6 Εξωστοματική έκφραση των υποδοχέων της umami γεύσης

Γονίδια που κωδικοποιούν γευστικούς υποδοχείς T1Rs και μόρια μεταγωγής της γευστικής πληροφορίας (πρωτεΐνες G, TRPM5 και PLC-2) της umami γεύσης, εκφράζονται όχι μόνο σε κύτταρα τύπου II αλλά και σε διάφορους κυτταρικούς τύπους που εντοπίζονται σε μια ποικιλία ιστών και οργάνων, συμπεριλαμβανομένου του εντέρου, της καρδιάς και του εγκεφάλου. Παρόλο που οι ρόλοι τους σε αυτούς τους ιστούς έχουν μόνο εν μέρει διευκρινιστεί, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι διάφορες χημικές ενώσεις ανιχνεύονται από T1Rs, οι οποίοι, σε συνδυασμό με τη δράση σηματοδοτικών μορίων, διατηρούν λειτουργίες παρόμοιες με εκείνες που έχουν όταν εκφράζονται σε κύτταρα γευστικών υποδοχέων. (Yamamoto and Ishimaru, 2013)

4.6.1 Η έκφραση του T1R1/T1R3 υποδοχέα στον εγκέφαλο

Ένας από τους λιγότερο αναμενόμενους ιστούς, όπου εντοπίζεται η έκφραση γονιδίων των γευστικών υποδοχέων, είναι ο εγκέφαλος. Ο εγκέφαλος είναι ένα εξαιρετικά ευάλωτο όργανο προστατευόμενο από την επαφή με το άμεσο περιβάλλον και μόνο επιλεκτικά προσβάσιμο στις ουσίες που υπάρχουν στην κυκλοφορία του αίματος από τον προστατευτικό αιματοεγκεφαλικό φραγμό. (Ribatti et al., 2006) Θα μπορούσε λοιπόν να θεωρηθεί ότι ο εγκέφαλος είναι το τελευταίο μέρος όπου θα περίμενε κανείς να εντοπίσει υποδοχείς, οι οποίοι στη στοματική κοιλότητα είναι υπεύθυνοι για την ανίχνευση γευστικών ερεθισμάτων. Παρόλα αυτά, πρόσφατες πειραματικές μελέτες καταδεικνύουν την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν τις υπομονάδες του υποδοχέα της umami γεύσης στον εγκέφαλο τρωκτικών.

Η πρώτη αναφορά πραγματοποιήθηκε από τον Ren και τους συνεργάτες του, οι οποίοι χρησιμοποίησαν της μεθόδους της RT-PCR, του *in situ* υβριδισμού και της ανοσοϊστοχημικής ανίχνευσης για τον εντοπισμό της υπομονάδας Tas1r3 σε διακριτές περιοχές του εγκεφάλου ποντικού. Έτσι, παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη έκφρασή της στον ιπόκαμπο, στον υποθάλαμο, στον εγκεφαλικό φλοιό και στον παρακοιλιακό πυρήνα του θαλάμου. (Ren et al., 2009) Επιπλέον, πειράματα *in vivo* πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας υπεργλυκαιμικά ποντίκια ob/ob τα οποία είχαν στερηθεί τροφής, και ποντίκια που είχαν τραφεί κατά βούληση στην ομάδα ελέγχου. Τα πειράματα αυτά έδειξαν ότι το Tas1r1 γονίδιο, ειδικό για τον υποδοχέα της γεύσης umami είναι εκείνο του οποίου η έκφραση επάγεται τόσο σε υποσιτισμένα, όσο και σε υπεργλυκαιμικά ποντίκια, όπως υποδεικνύεται από το αυξημένο πλήθος των αντίστοιχων

mRNAs. Αυτή η επίδραση περιορίστηκε στον υποθαλαμικό ιστό ενώ δεν παρατηρήθηκε στον ιστό του εγκεφαλικού φλοιού, γεγονός που υποδηλώνει μια τροποποίηση των ρυθμιστικών κυκλωμάτων πείνας/κορεσμού που εντοπίζονται στον υποθάλαμο. (Behrens, 2014)

4.6.2 Ο T1R1/T1R3 υποδοχέας στη γαστρεντερική οδό

Η ικανότητα των θρεπτικών συστατικών που βρίσκονται εντός του αυλού του γαστρεντερικού σωλήνα να επηρεάζουν την κινητικότητά του έχει γίνει γνωστή εδώ και αρκετά χρόνια. (Farre and Tack, 2013) Ωστόσο, ορισμένοι από τους υποδοχείς που είναι υπεύθυνοι για την ανίχνευση αυτών των συστατικών έχουν ανακαλυφθεί μόλις πρόσφατα και είναι οι ίδιοι με εκείνους που ανιχνεύουν τα γευστικά ερεθίσματα στον επιθηλιακό ιστό της γλώσσας. Πολλές μελέτες καταδεικνύουν την παρουσία γευστικών υποδοχέων και μορίων που σχετίζονται με τη μετάδοση ενδοκυτταρικών σημάτων στη γαστρεντερική οδό. Ειδικότερα, οι δύο υπομονάδες του υποδοχέα της umami γεύσης εντοπίστηκαν στο βλεννογόνο του στομάχου ποντικών, και στη συνέχεια ανθρώπων.

Επιπλέον, με τη χρήση ιστολογικών τεχνικών, ανακαλύφθηκε ότι η υπομονάδα TAS1R1 του υποδοχέα της umami γεύσης εντοπίζεται κυρίως στον ειλεό του λεπτού εντέρου. (Behrens, 2014) Πράγματι, η έκφραση της υπομονάδας του υποδοχέα γεύσης umami δείχθηκε ως επί το πλείστον στο εγγύς λεπτό έντερο ποντικού, στο βλεννογόνο χιτώνα και σε όλα τα επίπεδα κατά μήκος του άξονα των κρυπών των εντερικών λαχνών. (Bezencon et al., 2007, Mace et al., 2009) Αντίστοιχα δεδομένα ελήφθησαν και από μελέτες σε ανθρώπους. Σε μία μελέτη, η έκφραση του γονιδίου *TAS1R3* βρέθηκε ότι είναι περίπου 10 φορές πιο συχνή σε σχέση με εκείνη του *TAS1R2* στον ιστό του λεπτού εντέρου. (Young et al., 2009) Μια άλλη μελέτη αναφέρει ότι η συχνότητα έκφρασης του *TAS1R3* γονιδίου είναι έως και 1.500 φορές μεγαλύτερη σε σύγκριση με του *TAS1R2* στους ίδιους ιστούς. (Bezencon et al., 2007) Στην ίδια αναφορά, εκτιμήθηκε ότι το *TAS1R3* γονίδιο μεταφράζεται σε μικρότερο βαθμό στο παχύ έντερο, σε σύγκριση με το λεπτό έντερο. Η παρουσία των υπομονάδων TAS1R στον άνθρωπο έχει επίσης επιβεβαιωθεί σε επίπεδο πρωτεϊκής έκφρασης χρησιμοποιώντας ειδικά αντισώματα. (Jang et al., 2007)

Ωστόσο, υπάρχουν λιγότερα στοιχεία σχετικά με την ύπαρξη αυτών των υποδοχέων στο παχύ έντερο, και συγκεκριμένα, στο κατión. (Young et al., 2009, Rozengurt and Sternini, 2007) Ενώ η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών πραγματοποιείται σχεδόν εξ ολοκλήρου στο λεπτό έντερο, αμινοξέα που προέρχονται από τη διατροφή, νεκρά κύτταρα του βλεννογόνου, ανενεργά ένζυμα του αυλού και αμινοξέα που παράγονται από βακτήρια υπάρχουν στο εσωτερικό του

αυλού του κατιόντος παχέος εντέρου. (Scott et al., 2013) Ένας υποδοχέας για τα ενδοαυλιακά αμινοξέα είναι ο T1R1/T1R3 της γεύσης umami, που ενεργοποιείται από ορισμένα L-αμινοξέα (LAA), συμπεριλαμβανομένου του γλουταμινικού μονονατρίου (MSG), ενός βασικού προσδέτη για την αντίληψη της umami γεύσης. Πιθανοί υποδοχείς για τα αμινοξέα του αυλού είναι και οι μεταβοτροπικοί υποδοχείς του γλουταμινικού. (Kendig et al., 2014)

Όπως αναφέρθηκε, ενώ οι υποδοχείς του umami σε τρωκτικά ενεργοποιούνται από ένα ευρύ φάσμα L-αμινοξέων, η γεύση umami στους ανθρώπους είναι ειδική για το MSG, πράγμα που το καθιστά έναν εξαιρετικό προσδέτη για την ενεργοποίηση του υποδοχέα T1R1/T1R3. (Zhao et al., 2003) Επιπλέον, η 5'-μονοφωσφορική ινοσίνη (IMP) ενισχύει την ενεργοποίηση του T1R1/T1R3 αλλά δεν εμφανίζει την ίδια ιδιότητα για άλλους υποδοχείς της umami γεύσης, όπως είναι οι μεταβοτροπικοί υποδοχείς του γλουταμινικού. Ως εκ τούτου, το IMP μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να καθορίσει φαρμακολογικά εάν οι υποδοχείς T1R1/T1R3 εμπλέκονται στις μεταβολές της κινητικότητας του GI, όπως συνέβη στο πλαίσιο ανίχνευσης της umami γεύσης. Ενώ υπάρχουν αρκετά δεδομένα για τη ρύθμιση της γαστρικής κένωσης και της κινητικότητας του λεπτού εντέρου από το περιεχόμενο του αυλού τους, σχετικά λίγα από αυτά αναφέρονται στην επίδραση των θρεπτικών συστατικών στην κινητικότητα του κατιόντος εντέρου. (Kendig et al., 2014) Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι τα L-αμινοξέα ενεργοποιούν T1R1/T1R3 υποδοχείς στο άνω λεπτό έντερο και οδηγούν στην απελευθέρωση χολοκυστοκινίνης, μέσω ενός μηχανισμού που θα αναλυθεί στη συνέχεια. (Daly et al., 2013) Μελέτες παρουσιάζουν επίσης την ύπαρξη των υποδοχέων T1R1/T1R3 σε κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου ανθρώπων, αρουραίων και ποντικών. Η εφαρμογή του προσδέτη MSG στον εντερικό αυλό, φαίνεται να ενεργοποιεί το περισταλτικό αντανεκλαστικό και να διεγείρει αισθητήριες μεταγωγικές οδούς, όπως αποδεικνύεται από την απελευθέρωση του αισθητηριακού νευροδιαβιβαστή CGRP (calcitonin gene-related peptide) σε παχύ έντερο αρουραίου. Το αποτέλεσμα αυτό γίνεται με τη μεσολάβηση των υποδοχέων T1R1/T1R3, ενώ το IMP αυξάνει τις αντανεκλαστικές περισταλτικές αποκρίσεις και την απελευθέρωση CGRP. Επιπλέον, σε ποντίκια από τα οποία έλειπε ο T1R3 υποδοχέας, το MSG δεν είχε καμία επίδραση στην κινητικότητα του εντέρου τους. (Kendig et al., 2014)

4.6.2.α Ο T1R1 / T1R3 υποδοχέας διεγείρει την έκκριση χολοκυστοκινίνης

Η χολοκυστοκινίνη (CCK) είναι ένα γαστρεντερικό πεπτίδιο, το οποίο εκκρίνεται από ενδοκρινικά κύτταρα στο εγγύς τμήμα του λεπτού εντέρου, κατά την λήψη ενός γεύματος. Η CCK διαδραματίζει διάφορους ρόλους σε πεπτικές διαδικασίες, όπως η επιβράδυνση της

γαστρικής κένωσης, η ρύθμιση της εντερικής κινητικότητας, καθώς και η διέγερση παγκρεατικών εκκρίσεων και εκκρίσεων της χοληδόχου κύστης. (White et al., 2000) Αναστέλλει επίσης την πρόσληψη τροφής κατά έναν τρόπο που υποδεικνύει τη συμβολή της στο αίσθημα του κορεσμού. (Moran, 2009) Η πλειοψηφία των θεραπευτικών συστατικών που διεγείρουν την απελευθέρωση χολοκυστοκινίνης είναι λίπη και πρωτεΐνες, συγκεκριμένα προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών, πεπτίδια και αμινοξέα. Αμινοξέα, ιδιαίτερα η L-φαινυλαλανίνη, σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις (10-50 mmol/l) (Hira et al., 2008) είναι γνωστό ότι οδηγούν σε αύξηση των επιπέδων χολοκυστοκινίνης στο πλάσμα και μείωση της πρόσληψης τροφής σε ανθρώπους, πιθήκους, σκύλους και τρωκτικά. (Daly et al., 2013) Η L-λευκίνη, η οποία είναι ένα διακλαδισμένης αλύσου αμινοξύ, έχει αποδειχθεί ότι επάγει την απελευθέρωση χολοκυστοκινίνης σε γάτες. (Backus et al., 1997)

Τα τελευταία χρόνια, υπάρχουν όλο και περισσότερα αποδεικτικά στοιχεία ότι τα θρεπτικά συστατικά του εντερικού αυλού ανιχνεύονται απευθείας από ενδοκρινικά κύτταρα του εντέρου. Το 1991, ο Fujita, σημειώνοντας ανατομικές ομοιότητες μεταξύ των ενδοκρινικών κυττάρων στο έντερο και των γευστικών κυττάρων στη γλώσσα, παρατήρησε κοινά χαρακτηριστικά στις λειτουργίες των δύο αυτών κυτταρικών τύπων. (Fujita, 1991) Πιο πρόσφατα, γευστικοί υποδοχείς, οι οποίοι εκφράζονται στα κύτταρα του επιθηλιακού ιστού της γλώσσας και ανιχνεύουν γευστικά ερεθίσματα, αποδείχθηκε ότι εκφράζονται σε εντερικά ενδοκρινικά κύτταρα. (Kendig et al., 2014)

Όπως αναφέρθηκε, η παρουσία του T1R1/T1R3 υποδοχέα της umami γεύσης έχει εντοπιστεί από διάφορες μελέτες σε σημεία του λεπτού εντέρου, και ιδιαίτερα στον ειλεό. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι τα ενδοκρινικά κύτταρα STC-1 του εντέρου ποντικών έχουν την ικανότητα να απελευθερώνουν χολοκυστοκινίνη σε απόκριση της διέγερσής τους από αμινοξέα, μια διεργασία που μεσολαβείται από τον T1R1/T1R3 υποδοχέα. (Behrens, 2014) Στη συγκεκριμένη μελέτη, επαληθεύτηκε αρχικά η έκφραση των CCK, T1R1, T1R3 και α-γευστίνης στο εγγύς λεπτό έντερο, καθώς και η συνύπαρξή τους στα ίδια ενδοκρινικά κύτταρα, ενώ στη συνέχεια εξετάστηκε η απόκριση του ιστού σε L-αμινοξέα μέσω της επαγωγής απελευθέρωσης CCK. Τμήματα λεπτού εντέρου ποντικών εκτέθηκαν στα L-αμινοξέα Phe, Leu, Glu και Trp. Σε απόκριση στην φαινυλαλανίνη, τη λευκίνη, και το γλουταμινικό οξύ, το εντερικό επιθήλιο απελευθέρωσε χολοκυστοκινίνη και η απόκριση αυτή ενισχύθηκε από την προσθήκη IMP. Ωστόσο, η έκκριση CCK που προκλήθηκε από την τρυπτοφάνη δεν επηρεάστηκε από το IMP. Ως εκ τούτου, τα δεδομένα έδειξαν ότι, στον εντερικό ιστό ποντικών, ο T1R1/T1R3 εκφράζεται σε ενδοκρινικά κύτταρα I και λειτουργεί ως υποδοχέας για L-αμινοξέα, επάγοντας την απελευθέρωση χολοκυστοκινίνης. (Daly et al., 2013) Αντίστοιχες μελέτες προς το παρόν δεν

έχουν πραγματοποιηθεί στον άνθρωπο. Ωστόσο ο προσδιορισμός του ρόλου του T1R1/T1R3 στο έντερο του ανθρώπου θα εμφάνιζε ιδιαίτερο ενδιαφέρον, έχοντας υπόψη την επιλεκτικότητα της απόκρισης του γευστικού αυτού υποδοχέα στο ερέθισμα της umami γεύσης, όταν αυτό εφαρμόζεται σε ανθρώπινη γλώσσα. (Li et al., 2002)

4.6.3 Ο ρόλος του T1R1/T1R3 υποδοχέα στο αναπαραγωγικό σύστημα

Προκειμένου η γονιμοποίηση να είναι επιτυχής, τα σπερματοζωάρια των θηλαστικών πρέπει να βρουν το δρόμο τους στην αναπαραγωγική οδό του θήλεος και να συντηχθούν με το ωάριο. Η ιδέα ότι τα σπερματοζωάρια καθοδηγούνται από χημικά σήματα είναι λογική, και πράγματι, η χημειοτακτική καθοδήγηση των σπερματοζωαρίων έχει αποδειχθεί σε ασπόνδυλα και σπονδυλωτά ζώα, συμπεριλαμβανομένων των θηλαστικών. (Yoshida and Yoshida, 2011) Μεταξύ των πρώτων χημειοϋποδοχέων που θεωρήθηκε ότι θα μπορούσαν να εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία, ήταν οι οσφρητικοί υποδοχείς (OR), αν και ο ακριβής ρόλος τους στο αναπαραγωγικό σύστημα των θηλαστικών δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός. (Kaupp et al., 2008)

Παρόλο που η έκφραση των γονιδίων γευστικών υποδοχέων σε όρχεις ποντικού και ανθρώπου αναγνωρίστηκε πριν από αρκετό καιρό, λεπτομερείς αναλύσεις της έκφρασής τους και πιθανοί λειτουργικοί ρόλοι τους εντοπίζονται σε πιο πρόσφατες μελέτες. (Li, 2013) Το πρώτο μόριο που ανιχνεύθηκε σε αναπαραγωγικό ιστό αρσενικού ατόμου, το οποίο σχετίζεται με τη μεταγωγή της γεύσης, ήταν η υπομονάδα Ga, α-γευστίνη. Μάλιστα, ανακαλύφθηκε ότι η έκφραση της α-γευστίνης πραγματοποιείται ήδη από τη διαφοροποίηση των σπερματίδων και διατηρείται σε ώριμα σπερματοζωάρια. (Fehr et al., 2007) Επιπλέον, και άλλα στοιχεία του καταρράκτη αντιδράσεων (signaling cascade) που εμπλέκεται στην μεταγωγή σήματος των GPCRs της γεύσης όπως Gγ13, φωσφολιπάση Cβ2 και το δυναμικό κανάλι TRPM5, έχουν ταυτοποιηθεί σε σπερματοκύτταρα ποντικών. (Li and Zhou, 2012) Τέλος, ανιχνεύθηκε η έκφραση των 3 *Tas1r* και των 35 *Tas2r* γονιδίων σε όρχεις ποντικών. (Behrens, 2014)

Η *Tas1r3* υπομονάδα του υποδοχέα της umami γεύσης εντοπίστηκε στο κυρτό μέρος του κεφαλιού και στην ουρά του σπερματοζωαρίου. (Meyer et al., 2012) Χρησιμοποιώντας γενετικά τροποποιημένα ποντίκια, τα οποία εξέφραζαν μια σεσημασμένη πρωτεΐνη-δείκτη υπό τον έλεγχο του υποκινητή του *Tas1r1* γονιδίου, παρατηρήθηκε αλληλοεπικάλυψη της έκφρασης, υποδεικνύοντας την παρουσία και των δύο υπομονάδων του υποδοχέα της umami. Αυτό επιβεβαιώθηκε με πειράματα ανοσοφθορισμού με προσθήκη διπλής φθορίζουσας χρώσεως και

σε ανθρώπινα σπερματοζωάρια. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι, το σπέρμα που προέρχεται από ποντίκια με έλλειψη του *Tas1r1* γονιδίου εμφάνισε διαφορές στο ενδοκυτταρικό ιόν ασβεστίου καθώς και στα επίπεδα κυκλικών AMP, υποδηλώνοντας ένα ρόλο του υποδοχέα της γεύσης umami στη λειτουργία του σπέρματος. Επιπλέον, πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η ταυτόχρονη απουσία του *TAS1R3* γονιδίου και της α-γευστίνης σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια είχε ως αποτέλεσμα τη στειρότητα στα αρσενικά, επιβεβαιώνοντας τη σημαντική συμβολή των μορίων σηματοδότησης της γεύσης στη φυσιολογική γονιμότητα. (Meyer et al., 2012)

4.6.4 Η έκφραση του T1R1/T1R3 υποδοχέα στον καρδιακό μυ

Μία από τις πιο πρόσφατες προσθήκες στη λίστα των εξωστοματικών ιστών που εκφράζουν γευστικούς υποδοχείς, είναι η καρδιά. Με αναλύσεις qRT-PCR ολόκληρου του cDNA καρδιάς νεογνών αρουραίων, εντοπίστηκε η έκφραση των δύο γονιδίων που κωδικοποιούν τις υπομονάδες του υποδοχέα της umami γεύσης, *Tas1r1* και *Tas1r3*, όπως και 7 γονίδια του υποδοχέα της πικρής γεύσης, στον καρδιακό μυ. (Foster et al., 2013) Χρησιμοποιώντας πρωτογενείς κυτταρικές καλλιέργειες που προέρχονται από καρδιές νεογνών αρουραίων, επιβεβαιώθηκε επίσης η έκφραση μορίων που σχετίζονται με τη μεταγωγή της γεύσης, όπως η α-γευστίνη, η φωσφολιπάση Cβ2 και το TRPM5 σε κύτταρα του καρδιακού μυός. Όσον αφορά τον εντοπισμό mRNA γευστικών υποδοχέων εντός του χρωμοσώματος, η έκφραση *Tas1r* γονιδίων εντοπίστηκε σε μικρά υποσύνολα καρδιακών κυττάρων με *in situ* υβριδισμό. (Behrens, 2014) Τα δύο μέλη της *Tas1* οικογένειας υποδοχέων, *Tas1r1* και *Tas1r3*, φάνηκε να εκφράζονται στον καρδιακό μυ των τρωκτικών σε επίπεδα που μπορούσαν να συγκριθούν με εκείνα της αγγιοτενσίνης II τύπου 1a (*Agtr1a*), η οποία αποτελεί έναν σημαντικό καρδιαγγειακό GCPR. Επιπλέον, η έκφραση των γευστικών υποδοχέων μελετήθηκε σε καρδιές τρωκτικών τα οποία βρίσκονταν σε διάφορα ηλικιακά στάδια, από νεογνά έως και 19 μηνών. Η έκφραση του *Tas1r1* φάνηκε να αυξάνεται σημαντικά όσο αυξανόταν η ηλικία των τρωκτικών, ενώ η έκφραση του *Tas1r3* παρέμεινε σταθερή καθ'όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Τέλος, μια σειρά *in vivo* και *in vitro* πειραμάτων, με δεδομένο το ρόλο των *Tas1* GCPRs, πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης της αστίας στην έκφραση γευστικών υποδοχέων σε καλλιέργεια καρδιομυοκυττάρων αρουραίων. Σε αντίθεση με τις προσδοκίες των ερευνητών, τα επίπεδα έκφρασης των *T1r1* και *T1r3* παρέμειναν σταθερά στα μυοκύτταρα, έπειτα από 24 ώρες στέρησης θρεπτικών συστατικών (γλυκόζης και αμινοξέων). Τα παραπάνω δεδομένα υποδεικνύουν τη συμμετοχή του T1R1/T1R3 υποδοχέα της umami γεύσης στην ανίχνευση

αμινοξέων στον καρδιακό μυ και στην ευρύτερη ρύθμιση της μεταβολικής του λειτουργίας.
(Foster et al., 2013)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο : ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΤΙΛΗΨΗ ΤΗΣ UMAMI ΓΕΥΣΗΣ

5.1 Εισαγωγή: Το συνεργιστικό φαινόμενο

Στις αρχές του 1900, το γλουταμινικό μονονάτριο αναγνωρίστηκε ως ο παράγοντας που προσέδιδε στα φύκη kombu και *Laminaria japonica* την ικανότητα γευστικής ενίσχυσης, ενώ αρκετά χρόνια αργότερα ένας άλλος ενισχυτής γεύσης, η 5'-ινοσίνη (IMP) εντοπίστηκε σε αφυδατωμένη παλαμίδα. (Ikeda, 1909) Στη δεκαετία του 1960, ο A. Kuninaka διαπίστωσε ότι η 5'-γουανοσίνη (GMP) είχε επίσης ενισχυτική επίδραση στην αίσθηση της γεύσης, και ότι υπήρξε μια αξιοσημείωτη συνέργεια μεταξύ του γλουταμινικού και των 5'-νουκλεοτιδίων. (Kuninaka, 1966) Παρατήρησε ακόμη ότι η συγκεκριμένη ένταση του συνεργιστικού φαινομένου δεν εμφανίζεται μεταξύ άλλων γευστικών ερεθισμάτων και ότι είναι χαρακτηριστική μόνο για την umami γεύση. Ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες σχετικά με τη συνέργεια μεταξύ του γλουταμινικού και των 5'-νουκλεοτιδίων διεξήχθησαν αρχικά τόσο σε γάτες όσο και σε αρουραίους. (Yoshii et al., 1986) Ο πρωταρχικός στόχος αυτών των μελετών ήταν ο προσδιορισμός του τύπου των νευρικών ινών στις οποίες εμφανίζεται η συνέργεια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι συνέργεια εμφανίζεται στις γευστικές νευρικές ίνες που είναι ευαίσθητες στο NaCl και τη σακχαρόζη. (Sato, 1967) Μεταγενέστερες μελέτες σε αρουραίους, εντόπισαν συνέργεια μεταξύ 5'-μονοφωσφορικής ινοσίνης και διάφορων αμινοξέων, συμπεριλαμβανομένου του γλουταμινικού. Συγκεκριμένα, η απόκριση του νεύρου της χορδής του τυμπάνου (chorda tympani) στο γλουταμινικό σε συνδυασμό με IMP φάνηκε να είναι ενισχυμένη κατά περίπου 1,7 φορές. Ωστόσο, η έκταση του συνεργιστικού φαινομένου στους αρουραίους είναι αρκετά μικρότερη από αυτή στον άνθρωπο. (Yoshii et al., 1986)

Αρκετές θεωρίες έχουν διαμορφωθεί με σκοπό την εξήγηση του φαινομένου της γευστικής ενίσχυσης. Οι περισσότερες από αυτές είναι αλληλένδετες και όλες επικαλούνται συνδυασμένες αλλοστερικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνικών υποδοχέων και μορίων-ενισχυτών γεύσης. Συγκεκριμένα, έχει προταθεί ότι η λειτουργία του GMP είναι να αποκαλύπτει το σημείο πρόσδεσης στον υποδοχέα τόσο για το L-γλουταμινικό ιόν όσο και για άλλα χημικά ερεθίσματα, καθιστώντας το πιο διαθέσιμο για τη σύνδεση του ειδικού προσδέτη. (Cairolì et al., 2008) Είναι γνωστό ότι οι θερμοδυναμικές παράμετροι και οι παράμετροι διαμόρφωσης έχουν καίρια σημασία στην περιγραφή της δομής και της σταθερότητας συμπλεγμάτων νουκλεοτιδίων/πρωτεϊνών (ενζύμων). Για παράδειγμα, διαπιστώθηκε ότι η ενεργοποίηση της

γλυκογονικής φωσφορυλάσης b από νουκλεοτίδια πουρίνης, απαιτεί τα τελευταία να είναι αντι-διαμορφομερή. (Chachaty and Forchioni, 1978) Λαμβάνοντας υπόψη αυτές τις εκτιμήσεις, πραγματοποιήθηκαν θεωρητικοί υπολογισμοί με σκοπό την εξακρίβωση των διαμορφωτικών προτιμήσεων και της σχετικής ενέργειας των IMP και GMP. Οι υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν υποθέτοντας ότι το μονονουκλεοτίδιο υπάρχει ως ανιόν τόσο σε αέρια φάση όσο και σε υδατικό διάλυμα, προκειμένου να αναγνωριστούν τα εγγενή χαρακτηριστικά του μορίου. Πράγματι, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η anti-διαμόρφωση ευνοείται ενεργειακά σε όλα τα πουρινικά ριβονουκλεοτίδια και στις δυο φάσεις τους, με εξαίρεση το GMP *en vacuo*, αναδεικνύοντάς την ως πιθανή διαμόρφωση των νουκλεοτιδίων όταν αλληλεπιδρούν με τον πρωτεϊνικό υποδοχέα (συνέργεια). (Cairolì et al., 2008)

Εμπειρικά, η συνέργεια χρησιμοποιήθηκε στη μαγειρική πολύ πριν από την επίσημη ανακάλυψη του φαινομένου από τον Kuninaka. Για παράδειγμα, στην Ιαπωνία, κατά την προετοιμασία του dashi, τα φύκη kombu, τα οποία περιέχουν γλουταμινικό και ασπαρτικό, καθώς και η αποξηραμένη παλαμίδα που είναι πλούσια σε 5'-ινωσίνη, χρησιμοποιούνται συνδυαστικά. (Kurihara, 2015) Στην Κίνα, το κοτόπουλο που περιέχει 5'-μονοφωσφορική ινωσίνη και λαχανικά που περιέχουν γλουταμινικό όπως το κρεμμύδι και τζίντζερ μαγειρεύονται μαζί. Τέλος, στην Ευρώπη και την Αμερική, το βόειο κρέας, το οποίο περιέχει IMP χρησιμοποιείται μαζί με λαχανικά που περιέχουν γλουταμινικό όπως το καρότο, το σέλινο ή η ντομάτα. (Kurihara, 2015)

5.2 Η επίδραση της συγκέντρωσης του κυτοσολικού ασβεστίου στο συνεργιστικό φαινόμενο

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα κύτταρα γευστικών υποδοχέων (TRCs) αποκρίνονται με μία αύξηση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης ασβεστίου, όταν διεγείρονται από γλυκά (Rebello and Medler, 2010), πικρά (Ogura et al., 2002) και umami ερεθίσματα (Narukawa et al., 2006), καθώς και από μείγματα που περιέχουν ερεθίσματα γλυκιάς και πικρής γεύσης. (Huang and Roper, 2010) Μια πρόσφατη μελέτη διερεύνησε τις επιδράσεις της μεταβολής της $[Ca^{2+}]$ του κυτοσολίου των TRCs σε αποκρίσεις της χορδής του τυμπάνου (CT) αρουραίων στα ερεθίσματα αυτά. Οι υπό εξέταση αποκρίσεις του CT νεύρου διακρίνονταν σε φασικές (αποκρίσεις σε μεταβολές της έντασης του ερεθίσματος) και τονικές (αποκρίσεις σε σταθερό επίπεδο έντασης ερεθίσματος). Η ρύθμιση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης ασβεστίου πραγματοποιήθηκε με τοπική εφαρμογή ιονομυκίνης + Ca^{2+} (αύξηση $[Ca^{2+}]$) ή του χηλικού παράγοντα BAPTA/AM (μείωση $[Ca^{2+}]$), στην επιφάνεια της γλώσσας αρουραίων. (Desimone et al., 2012) Τα δεδομένα

που παρουσιάστηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη υποδηλώνουν ότι μεταβολές στην ενδοκυτταρική συγκέντρωση ασβεστίου των TRCs σε δύο κυτοσολικές επιμέρους περιοχές, δηλαδή σε μια περιοχή ευαίσθητη σε ιονομυκίνη και BAPTA και σε μια περιοχή ευαίσθητη στην τριφωσφορική ινοσιτόλη και τη θανιγαργίνη, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των αποκρίσεων των γευστικών νεύρων σε ερεθίσματα της πικρής, γλυκιάς και umami γεύσης. Η αύξηση της συγκέντρωσης του κυτοσολικού ασβεστίου στη δεύτερη περιοχή θεωρήθηκε πιθανό ότι εξαρτάται από τις ενδοκυτταρικές αποθήκες Ca^{2+} . Επίσης, αλλαγές στη συγκέντρωση Ca^{2+} της κυτοσολικής περιοχής φάνηκε να ρυθμίζουν τους υποδοχείς γεύσης και τα σηματοδοτικά μόρια-μεσολαβητές ή τους διαύλους ιόντων που εμπλέκονται στο μηχανισμό μεταγωγής της γεύσης. Οι μεταβολές αυτές εμπλέκονταν και στη νευρωνική προσαρμογή ή σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαφορετικών γεύσεων σε μείγματα. (Desimone et al., 2012)

Ειδικότερα για την umami γεύση, φάνηκε ότι η μεταβολή των επιπέδων της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης Ca^{2+} των κυττάρων των γευστικών υποδοχέων ($\text{TRC } [\text{Ca}^{2+}]_i$) δεν προκαλεί αλλαγές στη φασική ή την τονική απόκριση της χορδής του τυμπάνου στο γλουταμινικό. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι οι CT αποκρίσεις στα ερεθίσματα της umami γεύσης είναι ανεξάρτητες από αλλαγές στην $\text{TRC } [\text{Ca}^{2+}]_i$. Η συγκεκριμένη μελέτη έδειξε επίσης ότι η μονοφωσφορική ινοσίνη ενίσχυσε τόσο τις φασικές όσο και τις τονικές αποκρίσεις του CT νεύρου στο γλουταμινικό, έπειτα από κατεργασία της γλώσσας αρουραίων με ιονομυκίνη + Ca^{2+} . Ωστόσο η ενίσχυση αυτή παρεμποδίστηκε μετά από κατεργασία με την ένωση BAPTA. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η συνεργιστική επίδραση του IMP στην απόκριση του CT στο γλουταμινικό εξαρτάται από την αύξηση της κυτοσολικής $[\text{Ca}^{2+}]_i$. (Desimone et al., 2012)

Μια άλλη μελέτη, με σκοπό τη διερεύνηση των ενδοκυτταρικών μηχανισμών αύξησης Ca^{2+} στην οδό μεταγωγής της umami γεύσης, εξέτασε τις αποκρίσεις στο umami κάτω από συνθήκες παντελούς έλλειψης ασβεστίου, τόσο στο εξωκυτταρικό όσο και στο ενδοκυτταρικό περιβάλλον των TRCs. Στις συνθήκες αυτές, αρκετά κύτταρα γευστικών υποδοχέων έχασαν την ικανότητά τους να αποκρίνονται στην umami γεύση, υποδηλώνοντας ότι η μεταγωγή της συγκεκριμένης γεύσης γενικά απαιτεί την εισροή Ca^{2+} από εξωκυτταρικές πηγές και ενδοκυτταρικές αποθήκες. (Narukawa et al., 2006) Στην ίδια μελέτη, διαπιστώθηκε ότι η εισροή του Ca^{2+} από εξωκυτταρικές πηγές είναι απαραίτητη για την εκδήλωση του συνεργιστικού φαινομένου, το οποίο είναι χαρακτηριστικό της umami γεύσης. Το συμπέρασμα αυτό διεξήχθη έπειτα από την παρατήρηση των επιδράσεων των συνθηκών ενδοκυτταρικής και εξωκυτταρικής εξάντλησης Ca^{2+} στη συνεργιστική δράση των MSG + IMP, οι οποίες διέφεραν δραστικά μεταξύ τους. Για την ακρίβεια, περίπου το 90% των TRCs που αποκρίνονταν στο MSG + IMP έχασαν αυτή τους την ικανότητα έπειτα από την απομάκρυνση του εξωκυτταρικού ασβεστίου, ενώ μόλις το 15%

των ίδιων υποδοχέων έχασε τη λειτουργικότητά του ως απόκριση στην εξάντληση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} . Το γεγονός αυτό καταδεικνύει ότι το συνεργιστικό φαινόμενο εξαρτάται πολύ περισσότερο από την παρουσία Ca^{2+} εξωκυτταρικής προέλευσης. (Narukawa et al., 2006)

5.3 Η επίδραση της θερμοκρασίας στη γεύση του umami

Η επίδραση της θερμοκρασίας στην αίσθηση της γεύσης, δεν έχει γίνει μέχρι και σήμερα πλήρως κατανοητή, γεγονός που γίνεται φανερό από τα αντικρουόμενα δεδομένα στη βιβλιογραφία, τα οποία αντανakλούν τόσο τεχνικές επιπλοκές όσο και μεγάλη μεταβλητότητα της γευστικής αντίληψης μεταξύ των ατόμων. (McBurney et al., 1973) Ψυχοφυσικές μελέτες έχουν διεξαχθεί στον άνθρωπο με στόχο την ποσοτικοποίηση των υποκειμενικών γευστικών εμπειριών. Γενικά, έχει διαπιστωθεί ότι η θερμοκρασία ρυθμίζει άμεσα τη μεταγωγή της γεύσης, δηλαδή δεν πρόκειται για ένα απλό άθροισμα ανεξάρτητων γευστικών και θερμικών εισροών. Είναι αξιοσημείωτο ότι οι επιδράσεις της θερμοκρασίας μπορεί να μην είναι γενικευμένες για μια συγκεκριμένη γεύση, αλλά να περιορίζονται σε συγκεκριμένες ενώσεις. (Talavera et al., 2007)

Ειδικότερα για τη γεύση του umami, η επίδραση της θερμοκρασίας στην αντίληψή του έχει μελετηθεί μόνο σε επίπεδο γευστικών νευρικών αποκρίσεων. Πιο συγκεκριμένα, αναφέρθηκε ότι το μέγεθος των αποκρίσεων στο MSG του νεύρου της χορδής του τυμπάνου σε σκύλους, κορυφώνεται στους 10-15°C. Ωστόσο, το μέγεθος των αποκρίσεων στο συνεργιστικό μείγμα MSG και 5'-μονοφωσφορικής γουανοσίνης φτάνει σε μέγιστο σημείο στους 30°C. (Nakamura and Kurihara, 1991) Η εξάρτηση των γευστικών νευρικών αποκρίσεων θηλαστικών από την θερμοκρασία, η οποία έχει καταγραφεί με τη μορφή ολοκληρωμένων αποκρίσεων προσαγωγών νεύρων (χορδή του τυμπάνου και γλωσσοφαρυγγικό νεύρο), φαίνεται να ανακεφαλαιώνει τα κύρια χαρακτηριστικά που παρατηρούνται σε ψυχοφυσικές δοκιμασίες σε ανθρώπους. Η εξάρτηση του μεγέθους των αποκρίσεων από τη θερμοκρασία παρουσιάζει σχήμα καμπάνας με κορυφή στους 20-30°C, ενώ η θερμική επίδραση εξασθενεί σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ερεθισμάτων. Αυτό υποδεικνύει ότι η βασική θερμο-εξαρτώμενη διαδικασία λαμβάνει χώρα πριν από τη μετάδοση της γευστικής νευρικής απόκρισης. (Yamashita and Sato, 1965)

Από την άλλη πλευρά, αρκετές μελέτες έχουν διεξαχθεί με σκοπό τη διευκρίνιση της επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας σε τροφές πλούσιες σε ουσίες της umami γεύσης, όπως το χοιρινό κρέας. Ειδικότερα, μια μελέτη παρουσίασε τις συγκεντρώσεις των ενώσεων της umami γεύσης (γλουταμινικό, AMP, IMP) σε χοιρινό κρέας και στο ζωμό του, τα οποία είχαν μαγειρευτεί με τη

sous vide μέθοδο. Οι συγκεντρώσεις των ενώσεων αυτών στο μαγειρεμένο χοιρινό κρέας και το ζωμό του αποδείχθηκε ότι επηρεάζονται από τη θερμοκρασία της επεξεργασίας (60-70-80°C), καθώς και από τη διάρκεια αυτής (0-60-120 λεπτά). Η συγκέντρωση του γλουταμινικού στο χοιρινό εμφάνισε μια στατιστικά σημαντική αύξηση της τάξεως των 0,2μmol/g για μεταβολή της θερμοκρασίας κατά 10°C, ωστόσο δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική αλλαγή της συγκέντρωσής του σε διαφορετικούς χρόνους μαγειρέματος. Για το AMP, παρατηρήθηκε αύξηση της τάξεως των 0,1μmol/g μεταξύ 0-60min και 60-120min σταθερής θερμικής επεξεργασίας, ενώ για το IMP δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική επίδραση της θερμοκρασίας στη συγκέντρωσή του. (Rotola-Pukkila et al., 2015)

Σε μια προγενέστερη μελέτη, η συνολική ποσότητα γλουταμινικού και ελεύθερων αμινοξέων παρέμεινε αμετάβλητη κατά τη διάρκεια 180 λεπτών σταθερής θερμικής επεξεργασίας χοιρινού κρέατος στους 95°C, με/χωρίς προσθήκη NaCl. Αυτό που φάνηκε είναι ότι οι παραπάνω ενώσεις της umami γεύσης μετακινήθηκαν από το εσωτερικό προς το εξωτερικό του μυϊκού ιστού του κρέατος. Η συνολική συγκέντρωση του IMP αυξήθηκε κατά την αρχική φάση της θερμικής επεξεργασίας, αλλά παρέμεινε αμετάβλητη μετά από περίπου 10 λεπτά μαγειρέματος. Η κινητικότητα του IMP ήταν παρόμοια με εκείνη του γλουταμινικού και των υπόλοιπων αμινοξέων στον ίδιο χρόνο επεξεργασίας. Τα ευρήματα αυτά είναι σύμφωνα με τα αποτελέσματα της προαναφερθείσας μελέτης, καθώς φαίνεται ότι η διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας δεν διαδραματίζει τόσο σημαντικό ρόλο όσο η έντασή της στην αύξηση της συγκέντρωσης των ενώσεων της umami γεύσης. (Sasaki et al., 2007)

5.4 Η επίδραση της όσφρησης στην umami γεύση

Είναι γνωστό ότι το γλουταμινικό δεν δρα συνεργικά με τις υπόλοιπες ποιότητες γεύσης (γλυκό, αλμυρό, πικρό και όξινο), ενώ όταν παρουσιάζεται μόνο ως ερέθισμα γεύσης, δεν είναι ιδιαίτερα ευχάριστο. (Yamaguchi, 1979, Beauchamp and Pearson, 1991) Οι McCabe και Rolls κατάφεραν να δείξουν ότι, όταν γλουταμινικό δίνεται σε συνδυασμό με μια συγγενή, ευχάριστη οσμή (λαχανικό), η προκύπτουσα γεύση μπορεί να είναι πολύ πιο ευχάριστη. (McCabe and Rolls, 2007) Στη συνέχεια, διερευνήθηκαν οι μηχανισμοί του εγκεφάλου που αποτελούν τη βάση αυτού του αποτελέσματος. Προκειμένου ο συνδυασμός της οσμής και της γεύσης να είναι αποτελεσματικός, γευστικά και οσφρητικά σήματα πρέπει να συνυπάρχουν. Από μελέτες σε πρωτεύοντα πλυν του ανθρώπου, είναι γνωστό ότι ο πρωτοταγής γευστικός φλοιός περιέχει νευρώνες που ανταποκρίνονται στη γεύση και την υφή της τροφής αλλά όχι στην οσμή της.

(Verhagen et al., 2004) Τόσο ο πρωτοταγής γευστικός φλοιός όσο και ο οσφρητικός φλοιός μεταδίδουν σήματα προς τον κογχομετωπιαίο φλοιό, όπου υπάρχουν νευρώνες που αποκρίνονται σε γευστικά και οσφρητικά ερεθίσματα ταυτόχρονα. (Rolls and Baylis, 1994) Μελέτες στον άνθρωπο με σκοπό τον εντοπισμό περιοχών του εγκεφάλου όπου τα γευστικά και οσφρητικά ερεθίσματα συνυπάρχουν έχουν φανερώσει περιοχές του κογχομετωπιαίου φλοιού και γειτονικές περιοχές της νήσου του εγκεφάλου που μπορούν να ενεργοποιηθούν τόσο από τη γεύση της σακχαρώδους όσο και από την οσμή φράουλας. (de Araujo et al., 2003)

Οι McCabe και Rolls χρησιμοποίησαν ένα σύνολο ερεθισμάτων σχεδιασμένων με τέτοιο τρόπο ώστε να επιτρέπουν στη γεύση umami (με κατώφλι 0.1 mol MSG/L και 0.005 mol IMP/L) να ελεγχθεί μόνη ή σε συνδυασμό με μια συμπληρωματική, ευχάριστη οσμή (οσμή λαχανικών) και να πραγματοποιηθούν οι ανάλογες συγκρίσεις. Προκειμένου να διευκρινιστεί αν τα γευστικά και οσφρητικά ερεθίσματα είναι όντως αρμονικά μεταξύ τους, η γεύση umami παρουσιάστηκε επίσης σε συνδυασμό με μία αταίριαστη οσμή από ρούμι. Τα ερεθίσματα χορηγήθηκαν ενδοστοματικά σε ένα άγευστο διάλυμα. Ένα άλλο μέρος του σχεδιασμού της μελέτης περιελάμβανε τη βαθμολόγηση του αισθητηριακού αποτελέσματος των διαλυμάτων ως προς την αρμονία και την πληρότητα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το γλουταμινικό μονονάτριο θεωρήθηκε αρκετά πιο εύγευστο από άτομα που το δοκίμασαν σε συνδυασμό με την οσμή λαχανικών, από ότι όταν το δοκίμασαν απομονωμένο από αυτή. (McCabe and Rolls, 2007)

Κύριος στόχος της έρευνας των McCabe και Rolls ήταν να διευκρινιστεί αν ο συνδυασμός της γεύσης του MSG με μία συμβατή οσμή, όπως εκείνη των λαχανικών, ενδέχεται να διεγείρει επιλεκτικά συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου. Η διερεύνηση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια σκιαγραφικού υλικού και έδειξε σημαντική δραστηριότητα στον έσω κογχομετωπιαίο φλοιό, η οποία επεκτείνεται έως τον πρόσθιο φλοιό του προσαγωγίου. Ωστόσο, αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι το φαινόμενο αυτό δεν παρατηρήθηκε στο νησιδιακό φλοιό του εγκεφάλου. Πιθανολογείται μάλιστα ότι το γλουταμινικό έχει την ιδιότητα γευστικής ενίσχυσης λόγω του τρόπου με τον οποίο μπορεί να συνδυαστεί αρμονικά με οσμές, σε περιοχές του εγκεφαλικού φλοιού όπου τα μεταγωγικά μονοπάτια της γεύσης και της όσφρησης συγκλίνουν, μακριά από τους αισθητηριακούς υποδοχείς. (Rolls, 2009)

5.5 Η επίδραση άλλων γεύσεων στην αντίληψη του umami

Τα περισσότερα προϊόντα διατροφής περιέχουν ένα μείγμα διάφορων γευστικών ενώσεων. Τα ζώα έχουν την ικανότητα να ενσωματώνουν και να ενοποιούν πληροφορίες σχετικά με κάθε

ξεχωριστή γεύση, η οποία καθορίζει τη διατροφική τους συμπεριφορά. Πολλές έρευνες επικεντρώθηκαν στην περιγραφή των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των πέντε βασικών γευστικών ποιοτήτων. (Keast et al., 2003, Tokita and Boughter, 2012) Ωστόσο, η πλειοψηφία τους περιορίζεται σε παρατηρήσεις ψυχοφυσικών μεθόδων, ενώ οι λεπτομερείς μοριακοί και κυτταρικοί μηχανισμοί που συμμετέχουν δεν έχουν διερευνηθεί πλήρως. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις συμβαίνουν, όχι μόνο σε επίπεδο της νευρωνικής μεταγωγής, αλλά και σε επίπεδο γευστικού υποδοχέα, (Kim et al., 2015) όπου είναι πιθανό να οφείλονται στην ύπαρξη πολλαπλών σημείων δέσμευσης προσδετών στους γευστικούς υποδοχείς. Για παράδειγμα, μια πρόσφατη μελέτη αποκάλυψε ότι η δέσμευση της αμιλορίδης στους υποδοχείς της γλυκιάς γεύσης, οδήγησε σε αναστολή των αποκρίσεών τους. Στα πλαίσια της διερεύνησης των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των βασικών γεύσεων, ανακαλύφθηκε ότι σε μέτριες/υψηλές συγκεντρώσεις γλουταμινικού νατρίου (MSG), η γλυκιά και η πικρή γεύση καταστέλλονται. (Kemp, 1994) Αντιθέτως, ο M. H. Woskow ανέφερε ότι τα 5'-ριβονουκλεοτίδια τα οποία εμφανίζουν umami γεύση, ενισχύουν τη γλυκύτητα και την αλμυρότητα σε μέτριες συγκεντρώσεις, ενώ η οξύτητα και η πίκρα καταστέλλονται από αυτά. (Shim et al., 2015)

5.5.1 Αλληλεπιδράσεις μεταξύ πικρών και umami ενώσεων

Πέντε βασικές γεύσεις μπορούν να εντοπιστούν από το ανθρώπινο γευστικό σύστημα. Μια σημαντική ποσότητα γευστικών ενώσεων στα τρόφιμα είναι ικανή να διεγείρει διαφορετικές μεταγωγικές οδούς, όπως οι γευστικοί υποδοχείς, οι συζευγμένοι με G πρωτεΐνες υποδοχείς (GPCRs) και οι διάλυτοι ιόντων, και να οδηγήσει σε μία γευστική απόκριση. (Keast et al., 2003) Παρόλο που κάθε γευστικό ερέθισμα έχει μια συγκεκριμένη γεύση, η ταυτόχρονη διέγερση από πολλαπλά γευστικά ερεθίσματα, η συγκέντρωση του ίδιου του ερεθίσματος και άλλοι παράγοντες ενισχύουν ή καταστέλλουν τη γεύση των τροφίμων.

Πιο συγκεκριμένα, ένας αριθμός ψυχοφυσικών μελετών έδειξε ότι η umami γεύση έχει την ικανότητα να αλληλεπιδρά με την πικρή γεύση, και μάλιστα να την καταστέλλει. (Tokita and Boughter, 2012) Η καταστολή της πικρής γεύσης είναι ιδιαίτερα σημαντική, δεδομένου ότι η πίκρα έχει αρνητικό αντίκτυπο στην πρόσληψη τροφής. Έχει επίσης αναφερθεί ότι το γλουταμινικό μονονάτριο σε μέτριες/υψηλές συγκεντρώσεις, καθώς και μείγματά του με μονοφωσφορική αδενοσίνη ή άλατα νατρίου 5'-ριβονουκλεοτιδίων αναστέλλουν την πικρή γεύση. (Kemp, 1994) Ακόμη, ο γλουταμινικό μονοκάλιο (MPG) σε συνδυασμό με 5'-μονοφωσφορική ινοσίνη (IMP) φαίνεται να καταστέλλει την απόκριση C57BL/6J ποντικών στην υδροχλωρική κινίνη, σύμφωνα με την καταγεγραμμένη δραστηριότητα των γευστικών

νευρώνων τους. (Tokita and Boughter, 2012) Πέρα από τα αμινοξέα, έχει διαπιστωθεί ότι και τα πεπτίδια του umami συμβάλλουν στην εξασθένηση της πικρής γεύσης. Τα ενεργά όξινα ολιγοπεπτίδια του umami, τα οποία περιέχουν γλουταμυλο-πεπτίδια, συμπεριλαμβανομένων των Glu-Asp, Glu-Glu, Glu-Ser και Glu-Glu-Glu, καταστέλλουν τις πικρές γεύσεις των υδρολυμάτων πρωτεϊνών. (Arai, 1972a) Οι περισσότερες από τις γευστικές αλληλεπιδράσεις, όπως και η καταστολή της πικρής από την umami γεύση, έχουν ταυτοποιηθεί μέσω της αισθητηριακής αξιολόγησης από ανθρώπους και έχουν εντοπιστεί στη χορδή του τυμπάνου (CT) και στον παραβραχιακό πυρήνα (PbN). (Formaker et al., 2004, Yamamoto et al., 1991, Sako et al., 2003)

5.5.2 Η αλληλεπίδραση μεταξύ γλυκιάς και umami γεύσης

Όπως αναφέρθηκε, υπάρχουν λίγα και αντικρουόμενα δεδομένα σχετικά με την επίδραση του umami στη γλυκιά γεύση. Μια πιο πρόσφατη μελέτη διερεύνησε τη σχέση μεταξύ των ενώσεων umami και του γλυκού υποδοχέα T1R2/T1R3. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το γλουταμινικό μονονάτριο και κάποια γλουταμυλο-πεπτίδια ανέστειλαν τις αποκρίσεις των υποδοχέων της γλυκιάς γεύσης. (Shim et al., 2015) Η μειωμένη απόκριση των κυττάρων των υποδοχέων του γλυκού που προκλήθηκαν από τις umami ενώσεις εξαρτώνταν από τον τύπο του αγωνιστή. Πράγματι, η ενεργοποίηση των συγκεκριμένων υποδοχέων με σακχαρόζη ή ακεσουλφάμη K εξασθένησε από ενώσεις του umami, ενώ δεν ανιχνεύθηκε αντίστοιχη αναστολή έπειτα από ενεργοποίηση με κυκλαμικό ή ασπαρτάμη. Οι προσδέτες οι οποίοι παρεμποδίστηκαν από umami ενώσεις είχαν ένα κοινό τόπο ενεργοποίησης: τον εξωκυτταρικό τομέα (ECD) του T1R2. Η ενεργοποίηση των υποδοχέων της γλυκιάς γεύσης με ασπαρτάμη δεν παρεμποδίστηκε, αν και η ασπαρτάμη επάγει το σύμπλεγμα γλυκών υποδοχέων επίσης μέσω του ECD του T1R2. Αυτό το αποτέλεσμα μπορεί να εξηγηθεί βάσει των πορισμάτων μιας πρόσφατης μελέτης. (Masuda et al., 2012) Ειδικότερα, ο K. Masuda και οι συνεργάτες του ανέλυσαν τους τρόπους σύνδεσης μεταξύ ανθρώπινων υποδοχέων του γλυκού και γλυκών ενώσεων και καθόρισαν τα αμινοξικά κατάλοιπα (amino acid residues) του T1R2 που χρησιμοποιούνται στη σύνδεση αγωνιστών. Στη μελέτη αυτή, οι γλυκές ενώσεις ομαδοποιήθηκαν σύμφωνα με τα αμινοξικά κατάλοιπα hT1R2 που απαιτούνται για την αναγνώρισή τους. Η ακεσουλφάμη K χρειαζόταν τα κατάλοιπα R383, D142 και E382 του hT1R2 για την ενεργοποίηση των υποδοχέων της γλυκιάς γεύσης, ενώ η αναγνώριση της ασπαρτάμης απαιτούσε τα κατάλοιπα E302 και S144 του hT1R2. Επειδή η ενεργοποίηση του γλυκού υποδοχέα με ακεσουλφάμη K αναστάλθηκε από τις ενώσεις του umami, ενώ η ενεργοποίηση με

ασπαρτάμη δεν επηρεάστηκε, θεωρήθηκε πιθανό ότι η αλλοστερική κατασταλτική δράση των ενώσεων του umami μπορεί να επηρεάσει μόνο τα αμινοξικά κατάλοιπα R383 και D142 του ECD του hT1R2. (Masuda et al., 2012)

Τόσο ο hT1R1 όσο και ο hT1R2 ανήκουν στους υποδοχείς συζευγμένους με G-πρωτεΐνες της κατηγορίας C, με αποτέλεσμα να μοιράζονται ορισμένα καλά διατηρημένα δομικά χαρακτηριστικά. (Kniazeff et al., 2011) Είναι γνωστό ότι κάθε ένας από αυτούς τους υποδοχείς διαθέτει μια μεγάλη εξωκυτταρική εντομοπαγίδα της Αφροδίτης (VFT) που συνδέεται με μια μικρή εξωκυτταρική περιοχή πλούσια σε κυστεΐνη (CRD) και έναν διαμεμβρανικό τομέα (TMD). Η VFT δομή αποτελείται από δύο λοβούς και η θέση δέσμευσης του προσδέτη βρίσκεται σε μία μεταξύ τους περιοχή. (Xu et al., 2004) Ο hT1R1 παρουσιάζει ομολογία αλληλουχίας αμινοξέων με τον hT1R2. (Hoon et al., 1999) Με βάση το πολύ γνωστό γεγονός ότι το MSG αλληλεπιδρά με τη VFT περιοχή του hT1R1, αυτή η δομική ομοιότητα καθιστά πιθανή την επίδραση του MSG στην hT1R2 υπομονάδα του υποδοχέα της γλυκιάς γεύσης. Μια εναλλακτική υπόθεση είναι ότι χημικές αλληλεπιδράσεις εμφανίζονται στο μείγμα, πριν αυτό έρθει σε επαφή με τους γευστικούς υποδοχείς. Ωστόσο, αυτό είναι μάλλον απίθανο, καθώς δύο δομικά διαφορετικοί τύποι δοκιμασμένου αγωνιστή έδειξαν ένα κοινό ανασταλτικό αποτέλεσμα. (Shim et al., 2015)

5.5.3 Η αλληλεπίδραση μεταξύ αλμυρής και umami γεύσης

Ελάχιστα δεδομένα είναι διαθέσιμα για την επίδραση της αλμυρής στην umami γεύση. Γενικά, επικρατεί η άποψη ότι οι ουσίες umami σε συνδυασμό με το άλας (χλωριούχο νάτριο) και άλλες αλμυρές ενώσεις βελτιώνουν τη γεύση πολλών τροφίμων και τα καθιστούν πιο εύληπτα. (Yamaguchi and Ninomiya, 2000) Με βάση αυτή την αντίληψη, θεωρήθηκε ότι umami ουσίες θα μπορούσαν να αντικαταστήσουν μέρος του προστιθέμενου άλατος, διατηρώντας παράλληλα την ευχάριστη γεύση του φαγητού. Οι Yamaguchi και Takahashi το 1984, χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο ιαπωνικής σούπας, ανέφεραν ότι η γευστικότητα θα μπορούσε να διατηρηθεί έπειτα από μείωση της περιεκτικότητας σε NaCl, με την προσθήκη γλουταμινικού μονονατρίου (MSG). (Yamaguchi, 1984b) Παρόμοια αποτελέσματα ελήφθησαν χρησιμοποιώντας ζωμό κοτόπουλου. (Chi, 1992) Σε μια σειρά μελετών με διαφορετικά μενού, η Yamaguchi έδειξε ότι μια μείωση 30% στο προστιθέμενο νάτριο χωρίς ταυτόχρονη προσθήκη umami ουσιών, οδήγησε σε σημαντική υποβάθμιση του γευστικού αποτελέσματος. Από την άλλη πλευρά, η προσθήκη ενώσεων της umami γεύσης αύξησε σημαντικά την ποιότητα της γεύσης και μείωσε την επιθυμία για αλμυρότητα. (Yamaguchi, 1987) Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι η

υπερβολική ποσότητα προστιθέμενου MSG και άλλων ουσιών της γεύσης umami θα μπορούσε να επιφέρει τα αντίθετα αποτελέσματα, επομένως η πρόσληψη γλουταμινικού μονονατρίου φαίνεται να είναι αυτοπεριοριστική. (Yamaguchi, 1984a)

5.6 Το γήρας και η αντίληψη της umami γεύσης

Ένας σημαντικός αριθμός μελετών έχει δείξει ότι η ευαισθησία της αίσθησης της γεύσης μειώνεται με την πάροδο των χρόνων. Πράγματι, έχει διαπιστωθεί ότι, σε σύγκριση με τους νέους, τα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας αντιμετωπίζουν μεγαλύτερη δυσκολία στην ανίχνευση γευστικών ουσιών διαλυμένων σε νερό, ή τείνουν να τις αντιλαμβάνονται ως λιγότερο έντονες. (Mojet et al., 2003, Murphy, 1993) Παρόλα αυτά, όταν αντίστοιχες γευστικές ουσίες διαλυθούν εντός άλλων τροφών, οι επιρροές της γήρανσης πάνω στην αίσθηση της γεύσης γίνονται περισσότερο αντιφατικές, γεγονός που πιθανώς οφείλεται στην "καταστολή μείγματος". (de Graaf et al., 1994) Κατά το φαινόμενο αυτό, σε μίγματα που περιέχουν συστατικά με διαφορετικές γεύσεις, τα μεμονωμένα συστατικά αναγνωρίζονται, αλλά συνήθως είναι λιγότερο ανιχνεύσιμα σε σχέση με την αντιλαμβανόμενη γεύση των συστατικών αν καταναλώνονταν ξεχωριστά. (Bartoshuk, 1975)

Εκτός από την ίδια τη διαδικασία γήρανσης, πολλοί άλλοι παράγοντες μπορεί να συμβάλλουν στην εξασθένηση της γεύσης στους ηλικιωμένους. Η φαρμακευτική αγωγή, ιδιαίτερα οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φαρμάκων, προκαλούν σημαντικές αλλαγές στην αίσθηση της όσφρησης σε ηλικιωμένους. (Schiffman, 2009) Μέσα στο ευρύ φάσμα των φαρμάκων που σχετίζονται με διαταραχές της γεύσης, περιλαμβάνονται αντιμικροβιακά φάρμακα όπως η αμπικιλίνη και η πενταμιδίνη, καθώς επίσης και φάρμακα του καρδιαγγειακού συστήματος, όπως η καπτοπρίλη που χρησιμοποιείται στη θεραπεία της υπέρτασης. Τα φάρμακα μπορούν να αλλοιώσουν την οξύτητα της γεύσης επηρεάζοντας τη λειτουργία των γευστικών υποδοχέων ή των σχετικών νευρώνων. (Doty et al., 2008) Η σχετιζόμενη με την ηλικία έκπτωση της φυσιολογικής λειτουργίας της στοματικής κοιλότητας επηρεάζει επίσης σε μεγάλο βαθμό την ευαισθησία της γεύσης. Επιπλέον, οι συστηματικές ασθένειες, οι διατροφικές ανεπάρκειες και ο τρόπος ζωής επηρεάζει αρνητικά την αίσθηση της γεύσης. (Song, 2016) Τέλος, η αλλοίωση της γεύσης λόγω ηλικίας είναι πιθανό να σχετίζεται με τη μειωμένη όρεξη, η οποία οδηγεί σε ανεπαρκή πρόσληψη τροφής και, κατ'επέκταση σε κακή διατροφική κατάσταση. (Olde Rikkert and Rigaud, 2003) Αυτή η κατάσταση μπορεί με τη σειρά της να προκαλέσει περαιτέρω βλάβες στην αισθητηριακή λειτουργία της γεύσης. (Mattes, 2002)

Σύμφωνα με τα ελάχιστα διαθέσιμα στοιχεία, μια μείωση της ευαισθησίας της γεύσης σε ηλικιωμένους εντοπίζεται επίσης και για το umami. Οι Schiffman και συνεργάτες (1991) διαπίστωσαν ότι, σε σύγκριση με τα νεαρά άτομα που συμμετείχαν στη συγκεκριμένη μελέτη (ηλικίας 26 ± 5 ετών), ηλικιωμένοι συμμετέχοντες (ηλικίας 87 ± 4 έτη) αξιολόγησαν την ένταση του γλουταμινικού μονονατρίου ως αρκετά πιο ασθενή. (Schiffman et al., 1991) Σε μια μεταγενέστερη μελέτη των Sasano και συνεργατών (2015), υποδεικνύεται επίσης η σχετιζόμενη με την ηλικία μείωση της αντίληψης της γεύσης umami, ενώ παράλληλα τονίζεται η κλινική σημασία της ανίχνευσής της από ηλικιωμένους. (Sasano, 2015) Ειδικότερα, η απώλεια της γεύσης του umami φαίνεται να προκαλεί επιδείνωση της συνολικής υγείας, εξαιτίας του ρόλου που διαδραματίζει στην ενίσχυση της όρεξης, στην πρόσληψη τροφή και κατ' επέκταση στη διατήρηση του σωματικού βάρους. Επίσης, ένας εξίσου σημαντικός ρόλος της umami γεύσης είναι η επαγωγή της έκκρισης σιέλου, ο οποίος επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τις λειτουργίες της στοματικής κοιλότητας, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας γευστικής ανίχνευσης. (Sasano, 2015)

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η ανασκόπηση της μέχρι σήμερα διαθέσιμης βιβλιογραφίας σχετικά με τη γεύση του umami. Το umami ανακαλύφθηκε το 1907 από τον καθηγητή Kikunae Ikeda, ο οποίος πραγματοποίησε μια σειρά πειραμάτων σε φύκη konbu προκειμένου να ταυτοποιήσει τον παράγοντα που προσέδιδε τη μοναδική αυτή γεύση. Ο Ikeda ολοκλήρωσε το έργο του το 1908, δηλαδή μόλις ένα έτος μετά την έναρξή του, και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η γεύση umami προέρχεται από το άλας ενός οξέος με τύπο $C_5H_9NO_4$, το οποίο και ταυτοποίησε ως γλουταμινικό οξύ. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι, παρόλο που το umami αναγνωρίστηκε ως ξεχωριστή γεύση στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, παρέμεινε μη αποδεκτό από τη δυτική επιστημονική κοινότητα για περίπου έναν αιώνα. Σε διεθνές συμπόσιο που πραγματοποιήθηκε στη Χαβάη (1985), ο όρος umami αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά ως ο επιστημονικός όρος για να περιγράψει τη γεύση του γλουταμινικού και των νουκλεοτιδίων. Η παρουσίαση ψυχοφυσικών δεδομένων πάνω στη γεύση umami από τη Δρ. Shizuko Yamaguchi αποτέλεσε ένα σημαντικό βήμα ώστε να εισαχθεί η έννοια της γεύσης αυτής στην επιστημονική κοινότητα. Δώδεκα χρόνια αργότερα, το 1997, στο 12ο ISOT (International Symposium on Olfaction and Taste) που πραγματοποιήθηκε στο Σαν Ντιέγκο, παρουσιάστηκε πληθώρα νέων στοιχείων πάνω στη γεύση umami. Όλο και περισσότερα ευρήματα καταδείκνυαν ότι το umami αποτελεί μια ξεχωριστή, βασική γεύση. Ειδικότερα, φάνηκε ότι κανένας από τους συνδυασμούς των υπόλοιπων βασικών γεύσεων (γλυκό, πικρό, αλμυρό, όξινο) που πραγματοποιήθηκαν σε πειραματικές μελέτες δεν μπορούσε να αναπαράξει τη συγκεκριμένη γεύση. Στη συνέχεια, ψυχοφυσικές και ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες κατέδειξαν την ανεξαρτησία της umami γεύσης από τις υπόλοιπες βασικές γεύσεις. Έπειτα, το 2000, με τη χρήση των μεθόδων της μοριακής βιολογίας, ανακαλύφθηκε ο mGluR4 υποδοχέας του γλουταμινικού στον εγκέφαλο, ο οποίος είναι ένας μεταβοτροπικός, συζευγμένος με G-πρωτεΐνες υποδοχέας. Ένα χρόνο αργότερα, οι γευστικοί υποδοχείς T1R1/T1R3 που ανιχνεύουν το umami, εντοπίστηκαν στη γλώσσα από τον βιολόγο Charles Zuker στα εργαστήρια του Πανεπιστημίου της Καλιφόρνιας, μετά από βιολογικές έρευνες. Με βάση αυτά τα δεδομένα, το umami αναγνωρίστηκε ως η πέμπτη βασική γεύση.

Αν και η ανακάλυψη του υποδοχέα της γεύσης umami το 2001 εδραίωσε το umami ως πέμπτη βασική γεύση, από μαγειρικής άποψης, η γεύση του umami δεν είναι καινούρια. Τα πλούσια σε γλουταμινικό μονονάτριο υλικά είναι, εδώ και πολλά χρόνια, ιδιαίτερα δημοφιλή σε ασιατικές χώρες, όχι μόνο για τη γεύση τους αυτή καθ' εαυτή, αλλά και για την ιδιότητά τους ως ενισχυτικά γεύσης. Σάλτσες ψαριού που έχουν υποστεί ζύμωση, παστά ψάρια ή μικρές γαρίδες

και ζυμωμένα προϊόντα φασολιών αποτελούν χαρακτηριστικά της ασιατικής κουζίνας εδώ και αρκετούς αιώνες. Εκτός από αυτά τα ζυμωμένα προϊόντα, συμπυκνωμένα εκχυλίσματα ψαριών, οστρακοειδών, φασολιών κλπ., έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί ως παραδοσιακά καρυκεύματα, αντιπροσωπευτικά της γεύσης umami. Μάλιστα, μια από τις παλαιότερες συνταγές που έχει καταγραφεί στην ανατολική Ασία, είναι εκείνη για την προετοιμασία παστών φασολιών και σάλτσας από φασόλια (chi και jiang αντίστοιχα), η οποία βρίσκεται στο "Chimin Yaoshu", ένα κινέζικο βιβλίο που αναφέρεται στη γεωργία της εποχής και γράφτηκε από τον Chia Ssu-Hsieh τον 6ο αιώνα. Παρόλο που τα πλούσια σε umami ουσίες τρόφιμα θεωρούνται χαρακτηριστικά της ασιατικής κουζίνας, αρχαιολογικές μελέτες έχουν φανερώσει ότι η συγκεκριμένη γεύση καθόριζε, παράλληλα, μεγάλο μέρος της αρχαίας ρωμαϊκής κουζίνας, από το 2^ο π.Χ. αιώνα. Ειδικότερα, φαίνεται ότι οι Ρωμαίοι χρησιμοποιούσαν αρκετά συχνά ως καρυκεύματα σάλτσες μικρών ψαριών, όπως ο γαύρος, οι οποίες ήταν πλούσιες σε umami ουσίες. Πράγματι, η garum ήταν η πιο δημοφιλής σάλτσα κατά τη ρωμαϊκή εποχή και παραγόταν από υδρόλυση ολόκληρων γαύρων ή των εντοσθίων τους παρουσία άλατος, μέσω φυσικής ζύμωσης για διάστημα αρκετών μηνών.

Σχετικά με τον εξελικτικό ρόλο του umami, έχει φανεί ότι η γεύση αυτή είναι χαρακτηριστική πηγών πρωτεΐνης. Το umami δεν γίνεται αντιληπτό σε νωπό κρέας, ενώ το παλαιωμένο ή μαγειρεμένο κρέας εμφανίζει αρκετά έντονα τη γεύση αυτή. Πιθανολογείται ότι αυτός είναι και ο λόγος που οι άνθρωποι ανέπτυξαν προτίμηση για το γλουταμινικό, τα ριβονουκλεοτίδια και τη γεύση umami: η αναγνώριση του μαγειρεμένου κρέατος ως πηγή εύπεπτων πρωτεϊνών. Η συγκεκριμένη κατηγορία τροφίμων εμφάνιζε σημαντικά πλεονεκτήματα για την επιβίωση του ανθρώπινου είδους. Η διεργασία της ζύμωσης εξασφάλιζε, όχι μόνο την άμεση πρόσβαση σε μακρο και μικροθρεπτικά συστατικά, αλλά και την πρόσληψη προβιοτικών βακτηρίων, τα οποία συνέβαλλαν στη διατήρηση μιας συνολικά καλής υγείας και την αποφυγή γαστρεντερικών λοιμώξεων.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι δεν έχουν εντοπιστεί σημάδια θετικής επιλογής στα *TAS1R* γονίδια της umami γεύσης στην οικογένεια Hominidae (Ανθρωπίδες). Αυτό πιθανολογείται ότι συνέβη αφενός επειδή η διατροφή των ανθρωπίδων εμφάνιζε αρκετή ποικιλία, επομένως δεν εξαρτώνταν από μια μόνο γεύση και αφετέρου επειδή, λόγω του σχετικά μεγάλου σωματικού μεγέθους τους, διέθεταν ήδη αρκετά οξεία αίσθηση της γεύσης. Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε άλλα θηλαστικά, έχουν φανερώσει μερική έως και πλήρη απώλεια της umami γεύσης. Πιο συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι μια σειρά μεταλλάξεων στο *Tas1r1* γονίδιο του γιγαντιαίου πάντα ευθύνεται για την αλλαγή στη διατροφή του, από κατανάλωση κρέατος σε κατανάλωση μπαμπού. Ομοίως για τις νυχτερίδες έχει βρεθεί ότι τα

Tas1r1 και *Tas1r3* γονίδια της umami γεύσης έχουν μετατραπεί σε ψευδογονίδια, είναι δηλαδή μη λειτουργικά. Επιπλέον, πειραματικές μελέτες σε πτερυγιόποδα και θαλάσσια κήτη καταδεικνύουν μερική ή και πλήρη απώλεια της umami γεύσης, η οποία οφείλεται στη διαβίωση τους σε υδάτινο περιβάλλον και προκύπτει από την αδρανοποίηση του *Tas1r1* γονιδίου. Τέλος, εντοπίστηκε η δράση θετικής φυσικής επιλογής τόσο στο γονίδιο *Tas1r1* της οικογένειας των Κερκοπιθηκίδων, όσο και στο γονίδιο *Tas1r3* του γένους *Macaca*, η οποία πιθανολογείται ότι επηρέασε τον τρόπο που αντιλαμβάνονται την umami γεύση.

Όσον αφορά την ανίχνευση του umami, διάφοροι υποδοχείς συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες, που είναι πιθανό να λειτουργούν ως υποδοχείς της γεύσης umami, έχουν αναγνωριστεί μοριακά σε γευστικά κύτταρα. Μεταξύ αυτών, περιλαμβάνεται ο ετεροδιμερής υποδοχέας T1R1/T1R3 και οι μεταβοτροπικοί υποδοχείς του γλουταμινικού mGluR1 και mGluR4. Ο υποδοχέας της umami γεύσης, ο οποίος είναι καλύτερα κατανοητός μέχρι στιγμής, είναι ο ετεροδιμερής T1R1 / T1R3. Και οι τρεις υποδοχείς που προαναφέρθηκαν ανήκουν στην οικογένεια C των συζευγμένων με G-πρωτεΐνες υποδοχέων (GPCRs) και έχουν τρεις διακριτές περιοχές: μια μεγάλη εξωκυτταρική περιοχή, μια περιοχή αποτελούμενη από επτά διαμεμβρανικές έλικες και μια κυτταροπλασματική περιοχή. Η εξωκυτταρική περιοχή διαιρείται περαιτέρω στην περιοχή σύνδεσης του προσδέτη, η οποία συχνά ονομάζεται και 'εντομοπαγίδα της Αφροδίτης', και στον πλούσιο σε κυστεΐνη τομέα, ο οποίος παρεμβάλλεται μεταξύ του σημείου πρόσδεσης και των διαμεμβρανικών τομέων. Σχετικά με τη μεταγωγή της umami γεύσης, το ετεροδιμερές T1R1 / T1R3 συνδέεται με μια ετερομερή G πρωτεΐνη, όπου η υπομονάδα Gβγ φαίνεται να μεσολαβεί στο μεγαλύτερο μέρος της μεταγωγικής οδού. Η δέσμευση του προσδέτη ενεργοποιεί το σύμπλοκο Gβ3γ13, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C β2 (PLCβ2), η οποία επάγει τη σύνθεση τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP3) και διακυλογλυκερόλης. Η ινοσιτόλη ενεργοποιεί τον IP3 υποδοχέα τύπου III (IP3R3), με αποτέλεσμα την απελευθέρωση Ca^{2+} από ενδοκυτταρικές αποθήκες και την Ca^{2+} -εξαρτώμενη ενεργοποίηση των TRPM5, τα οποία είναι κανάλια παροδικού ρεύματος κατιόντων. Οι διάυλοι TRPM5 αναλαμβάνουν την εκπόλωση των γευστικών κυττάρων, η οποία επάγει τη δημιουργία δυναμικού δράσης και την απελευθέρωση ATP, που ενεργοποιεί iGluR πουρινού υποδοχείς σε γευστικές προσαγωγές νευρικές ίνες.

Πρόσφατα γενετικά δεδομένα σχετικά με τη χρωμοσωμική θέση των γονιδίων που κωδικοποιούν τους πρωτεϊνικούς υποδοχείς της umami γεύσης, καταδεικνύουν την ύπαρξή τους στα χρωμοσώματα 1 και 6. Πιο συγκεκριμένα, το *T1R1* γονίδιο του ανθρώπου εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1, στη θέση 1p36.31. Αποτελείται από περίπου 24.500 ζεύγη βάσεων, διαθέτει 6 εξόνια και κωδικοποιεί την TAS1R1 πρωτεΐνη, η οποία αποτελείται από 841 αμινοξέα. Το *T1R3*

γονίδιο του ανθρώπου εντοπίζεται επίσης στο χρωμόσωμα 1, αλλά σε διαφορετική θέση, την 1p36.33. Το συγκεκριμένο γονίδιο αποτελείται από μόλις 3997 ζεύγη βάσεων, διαθέτει και αυτό 6 εξόνια και κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη 852 περίπου αμινοξέων με χαρακτηριστικά αντίστοιχα της TAS1R1 πρωτεΐνης. Το γονίδιο του μεταβοτροπικού υποδοχέα του γλουταμινικού mGluR1, σύμφωνα με την πλειοψηφία των γενετικών δεδομένων εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6, και συγκεκριμένα στη θέση 6q24.3. Αποτελείται από 409.965 ζεύγη βάσεων, περιέχει 8 και έχει 4 διαφορετικές ισομορφές, τις mGluR1a, mGluR1b, mGluR1c και mGluR1d, καθεμία από τις οποίες κωδικοποιεί πρωτεΐνες 1.195, 906, 908 και 887 αμινοξέων αντίστοιχα. Τέλος, το γονίδιο του μεταβοτροπικού υποδοχέα του γλουταμινικού mGluR4 εντοπίζεται επίσης στο χρωμόσωμα 6, στη θέση 6p21.31. Το γονίδιο αυτό απαρτίζεται από 136.980 ζεύγη βάσεων, διαθέτει 12 εξόνια κωδικοποιεί πρωτεΐνη που αποτελείται από 912 αμινοξέα.

Αρκετές μελέτες έχουν αφιερωθεί στην αναζήτηση απαντήσεων σχετικά με το εάν εμφανίζονται μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) σε ανθρώπινα γονίδια *T1R1* και *T1R3* και αν αυτοί οι πολυμορφισμοί είναι υπεύθυνοι για διαφορές που έχουν εντοπιστεί στην αντίληψη της γεύσης umami. (Lugaz et al., 2002) Η πλειοψηφία των μη-συνώνυμων SNPs (nsSNPs) εντοπίστηκαν στην υπομονάδα T1R1, η οποία αποτελεί μέρος του ετεροδιμερούς T1R1/T1R3 υποδοχέα ανίχνευσης της umami γεύσης. Ειδικότερα, έχει εντοπιστεί ένας μη-συνώνυμος πολυμορφισμός στη θέση 372 της πρωτεϊνικής αλυσίδας του T1R1, ο οποίος αντιστοιχεί σε σημαντικές διαφορές στην αντίληψη του L-γλουταμινικού μονονατρίου καθώς και σε μείγματα του L-γλουταμινικού μονονατρίου με 5'-μονοφωσφορική ινοσίνη (IMP). Λειτουργικός χαρακτηρισμός των παραλλαγών T1R1-372A και T1R1-372T με ετερόλογη έκφραση έχει αποκαλύψει επίσης διαφορά στη μεταξύ τους ευαισθησία, με την παραλλαγή T1R1-372T να είναι πιο ευαίσθητη. Στο ίδιο σύνολο πειραμάτων, αναλύθηκε η θέση μετάλλαξης R757C του *T1R3*. Σε αυτή την περίπτωση, η παραλλαγή T1R3-757R ήταν πιο ευαίσθητη από την T1R3-757C για το L-γλουταμινικό μονονάτριο, καθώς και για το μείγμα του με την 5'-μονοφωσφορική ινοσίνη. Τα in vitro δεδομένα σχετικά με τη θέση 757 του *T1R3* επιβεβαιώθηκαν και από ψυχοφυσικά πειράματα σε ανθρώπους. Δύο ακόμη πιθανοί πολυμορφισμοί είναι οι C329T στο *TAS1R1* γονίδιο των 'tasters' και C2269T στο *TAS1R3*, καθώς και ο G1114A στο *TAS1R1* γονίδιο των 'nontasters'.

Γονίδια που κωδικοποιούν γευστικούς υποδοχείς T1Rs και μόρια μεταγωγής της γευστικής πληροφορίας (πρωτεΐνες G, TRPM5 και PLC-2) της umami γεύσης, εκφράζονται όχι μόνο σε κύτταρα τύπου II αλλά και σε διάφορους κυτταρικούς τύπους που εντοπίζονται σε μια ποικιλία ιστών και οργάνων. Πιο συγκεκριμένα, έχει ταυτοποιηθεί η έκφραση των T1R1 και T1R3 υπομονάδων σε περιοχές του εγκεφάλου, στη γαστρεντερική οδό, στην αναπαραγωγική οδό

καθώς επίσης και στον καρδιακό μυ. Η έκφραση αυτή έχει διαπιστωθεί πειραματικά κυρίως σε τρωκτικά, ενώ ένα μικρό μόνο μέρος των δεδομένων προκύπτει από μελέτες στον άνθρωπο. Παρόλο που οι ρόλοι των γευστικών υποδοχέων σε αυτούς τους ιστούς έχουν μόνο εν μέρει διευκρινιστεί, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι διάφορες χημικές ενώσεις ανιχνεύονται από T1Rs, οι οποίοι, σε συνδυασμό με τη δράση σηματοδοτικών μορίων, διατηρούν λειτουργίες παρόμοιες με εκείνες που έχουν όταν εκφράζονται σε κύτταρα γευστικών υποδοχέων.

Τέλος, έχει φανεί ότι αρκετοί παράγοντες είναι υπεύθυνοι για τον τρόπο αντίληψης της umami γεύσης. Ένας από αυτούς είναι η ενδοκυτταρική συγκέντρωση ασβεστίου, η οποία επηρεάζει τη συνεργιστική δράση των 5'-νουκλεοτιδίων με το γλουταμινικό, επιδρώντας στην αντιλαμβανόμενη ένταση της umami γεύσης. Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι η θερμοκρασία ρυθμίζει άμεσα τη μεταγωγή της γεύσης, ενώ αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι οι επιδράσεις της μπορεί να μην είναι γενικευμένες για μια συγκεκριμένη γεύση, αλλά να περιορίζονται σε συγκεκριμένες ενώσεις. Από την άλλη πλευρά, αρκετές μελέτες που έχουν διεξαχθεί με σκοπό τη διευκρίνιση της επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας σε τροφές πλούσιες σε ουσίες της umami γεύσης, έχουν δείξει ότι η διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας δεν διαδραματίζει τόσο σημαντικό ρόλο όσο η έντασή της στην αύξηση της συγκέντρωσης των ενώσεων αυτών. Άλλοι παράγοντες που φαίνεται να επηρεάζουν την αντίληψη της συγκεκριμένης γεύσης είναι η αίσθηση της όσφρησης, καθώς και η αλληλεπίδραση με άλλες γεύσης. Συγκεκριμένα, έχει φανεί ότι ο συνδυασμός ενώσεων της umami γεύσης με συμβατές, ευχάριστες οσμές ενισχύει την αντίληψη της γεύσης αυτής, ενώ στα πλαίσια της διερεύνησης των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των βασικών γεύσεων, ανακαλύφθηκε ότι σε μέτριες/υψηλές συγκεντρώσεις γλουταμινικού νατρίου (MSG), η γλυκιά, η πικρή και η όξινη γεύση καταστέλλονται, ενώ η αλμυρή γεύση ενισχύεται. Τέλος, ένας σημαντικός αριθμός μελετών έχει δείξει ότι η ευαισθησία της αίσθησης της γεύσης, και κατ'επέκταση η αντίληψη του umami, μειώνεται με την πάροδο των χρόνων, γεγονός που οφείλεται τόσο στη φυσιολογική διαδικασία της γήρανσης, όσο και σε άλλους παράγοντες όπως η λήψη φαρμάκων και η κακή διατροφική κατάσταση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. ABAFFY, T., TRUBEY, K. R. & CHAUDHARI, N. 2003. Adenylyl cyclase expression and modulation of cAMP in rat taste cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 284, C1420-8.
2. ABEGG, C. T., B. 2002. Macaque evolution and dispersal in insular south-east Asia. *Biol J Linn Soc*, 75:555–576.
3. APICIUS, GROCOCK, C. W. & GRAINGER, S. 2006. *Apicius : a critical edition with an introduction and an English translation of the Latin recipe text Apicius*, Totnes England, Prospect.
4. ARAI, S. Y., M.; FUJIMAKI, M 1972a. Glutamyl oligopeptides as factors responsible for tastes of a proteinase-modified soybean protein. *Agric. Biol. Chem.* 36: 1253–1256.
5. ARAI, S. Y., M.; FUJIMAKI, M. 1972b. Glutamyl oligopeptides as factors responsible for tastes of a proteinase-modified soybean protein. *Agric. Biol. Chem.* 36, 1253-1256.
6. ARNASON, U., GULLBERG, A., JANKE, A. & KULLBERG, M. 2007. Mitogenomic analyses of caniform relationships. *Mol Phylogenet Evol*, 45, 863-74.
7. ARNASON, U., GULLBERG, A., JANKE, A., KULLBERG, M., LEHMAN, N., PETROV, E. A. & VAINOLA, R. 2006. Pinniped phylogeny and a new hypothesis for their origin and dispersal. *Mol Phylogenet Evol*, 41, 345-54.
8. BACHMANOV, A. A. & BEAUCHAMP, G. K. 2007a. Taste receptor genes. *Annu Rev Nutr*, 27, 389-414.
9. BACHMANOV, A. A. & BEAUCHAMP, G. K. 2007b. Taste receptor genes. *Annu. Rev. Nutr.*, 27, 389-414.
10. BACHMANOV, A. A., BOSAK, N. P., LIN, C., MATSUMOTO, I., OHMOTO, M., REED, D. R. & NELSON, T. M. 2014. Genetics of taste receptors. *Curr Pharm Des*, 20, 2669-83.
11. BACHMANOV, A. A., LI, X., REED, D. R., OHMEN, J. D., LI, S., CHEN, Z., TORDOFF, M. G., DE JONG, P. J., WU, C., WEST, D. B., CHATTERJEE, A., ROSS, D. A. & BEAUCHAMP, G. K. 2001. Positional cloning of the mouse saccharin preference (Sac) locus. *Chem Senses*, 26, 925-33.
12. BACKUS, R. C., HOWARD, K. A. & ROGERS, Q. R. 1997. The potency of dietary amino acids in elevating plasma cholecystokinin immunoreactivity in cats is related to amino acid hydrophobicity. *Regul Pept*, 72, 31-40.
13. BAEYENS, F., VANSTEENWEGEN, D., DE HOUWER, J. & CROMBEZ, G. 1996. Observational conditioning of food valence in humans. *Appetite*, 27, 235-50.
14. BAHLMAN JW, K. D. 2006. Use of olfaction during prey location by the common vampire bat. *Biotropica* 39:147–149
15. BARRETT, K. E. 2010. *Ganong's Review Of Medical Physiology*.
16. BARTEL, D. L., SULLIVAN, S. L., LAVOIE, E. G., SEVIGNY, J. & FINGER, T. E. 2006. Nucleoside triphosphate diphosphohydrolase-2 is the ecto-ATPase of type I cells in taste buds. *J Comp Neurol*, 497, 1-12.
17. BARTOSHUK, L. M. 1975. Taste mixtures: is mixture suppression related to compression? *Physiol Behav*, 14, 643-9.
18. BAYLIS, L. L. & ROLLS, E. T. 1991. Responses of neurons in the primate taste cortex to glutamate. *Physiol Behav*, 49, 973-9.
19. BEAUCHAMP, G. K. 2009. Sensory and receptor responses to umami: an overview of pioneering work. *Am J Clin Nutr*, 90, 723S-727S.
20. BEAUCHAMP, G. K. & PEARSON, P. 1991. Human development and umami taste. *Physiol Behav*, 49, 1009-12.
21. BEHRENS, M. 2014. Taste Receptor Gene Expression Outside the Gustatory System. *Topics in Medicinal Chemistry*.
22. BEHRENS, M. & MEYERHOF, W. 2011. Gustatory and extragustatory functions of mammalian taste receptors. *Physiol Behav*, 105, 4-13.

23. BEHRENS, M., MEYERHOF, W., HELLFRITSCH, C. & HOFMANN, T. 2011. Sweet and umami taste: natural products, their chemosensory targets, and beyond. *Angew Chem Int Ed Engl*, 50, 2220-42.
24. BEKKER-NIELSEN, T. 2005. *Ancient fishing and fish processing in the Black Sea region*, Aarhus, Aarhus University Press ; [Oxford : Lavis Marketing].
25. BEKSAN, E., SCHIEBERLE, P., ROBERT, F., BLANK, I., FAY, L. B., SCHLICHTERLE-CERNY, H. & HOFMANN, T. 2003. Synthesis and sensory characterization of novel umami-tasting glutamate glycoconjugates. *J Agric Food Chem*, 51, 5428-36.
26. BERTA, A., SUMICH, J. L. & KOVACS, K. M. 2006. *Marine mammals : evolutionary biology*, Boston ; London, Elsevier/Academic Press.
27. BESSIS, A. S., RONDARD, P., GAVEN, F., BRABET, I., TRIBALLEAU, N., PREZEAU, L., ACHER, F. & PIN, J. P. 2002. Closure of the Venus flytrap module of mGlu8 receptor and the activation process: Insights from mutations converting antagonists into agonists. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99, 11097-102.
28. BEZENCON, C., LE COUTRE, J. & DAMAK, S. 2007. Taste-signaling proteins are coexpressed in solitary intestinal epithelial cells. *Chem Senses*, 32, 41-9.
29. BININDA-EMONDS 2004. Phylogenetic position of the giant panda. In: LINDBURG D, B. K. (ed.) *Giant panda: biology and conservation*. Berkeley (CA): University of California Press.
30. BJARNADOTTIR, T. K., FREDRIKSSON, R. & SCHIOTH, H. B. 2005. The gene repertoire and the common evolutionary history of glutamate, pheromone (V2R), taste(1) and other related G protein-coupled receptors. *Gene*, 362, 70-84.
31. BOCKAERT, J. & PIN, J. P. 1999. Molecular tinkering of G protein-coupled receptors: an evolutionary success. *EMBO J*, 18, 1723-9.
32. BOUDREAU, J. C. & AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. DIVISION OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY. 1979. *Food taste chemistry : based on a symposium sponsored by the Division of Agricultural and Food Chemistry at the ACS/CSJ Chemical Congress, Honolulu, Hawaii, April 2-6, 1979*, Washington, D.C., American Chemical Society.
33. BRESLIN, P. A. 2013. An evolutionary perspective on food and human taste. *Curr Biol*, 23, R409-18.
34. BREZA, J. M. & CONTRERAS, R. J. 2012. Anion size modulates salt taste in rats. *J Neurophysiol*, 107, 1632-48.
35. BREZA, J. M., NIKONOV, A. A. & CONTRERAS, R. J. 2010. Response latency to lingual taste stimulation distinguishes neuron types within the geniculate ganglion. *J Neurophysiol*, 103, 1771-84.
36. BUCK, L. & AXEL, R. 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell*, 65, 175-87.
37. CAICEDO, A., JAFRI, M. S. & ROPER, S. D. 2000. In situ Ca²⁺ imaging reveals neurotransmitter receptors for glutamate in taste receptor cells. *J Neurosci*, 20, 7978-85.
38. CAIROLI, P., PIERACCINI, S., SIRONI, M., MORELLI, C. F., SPERANZA, G. & MANITTO, P. 2008. Studies on umami taste. Synthesis of new guanosine 5'-phosphate derivatives and their synergistic effect with monosodium glutamate. *J Agric Food Chem*, 56, 1043-50.
39. CASTIGLIONI, A. J., REMIS, N. N., FLORES, E. N. & GARCIA-ANOVEROS, J. 2011. Expression and vesicular localization of mouse Trpm13 in stria vascularis, hair cells, and vomeronasal and olfactory receptor neurons. *J Comp Neurol*, 519, 1095-114.
40. CATERINA, M. J., SCHUMACHER, M. A., TOMINAGA, M., ROSEN, T. A., LEVINE, J. D. & JULIUS, D. 1997. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389, 816-24.
41. CHACHATY, C. & FORCHIONI, A. 1978. Conformations of purine ribosyl 5'-nucleotides bound to glycogen phosphorylase b. Nuclear-magnetic-resonance and electron-spin-resonance investigations of the effect of substrates. *Eur J Biochem*, 82, 363-72.
42. CHANDRASHEKAR, J., KUHN, C., OKA, Y., YARMOLINSKY, D. A., HUMMLER, E., RYBA, N. J. & ZUKER, C. S. 2010. The cells and peripheral representation of sodium taste in mice. *Nature*, 464, 297-301.

43. CHANDRASHEKAR, J., MUELLER, K. L., HOON, M. A., ADLER, E., FENG, L., GUO, W., ZUKER, C. S. & RYBA, N. J. 2000. T2Rs function as bitter taste receptors. *Cell*, 100, 703-11.
44. CHANDRASHEKAR, J., YARMOLINSKY, D., VON BUCHHOLTZ, L., OKA, Y., SLY, W., RYBA, N. J. & ZUKER, C. S. 2009. The taste of carbonation. *Science*, 326, 443-5.
45. CHANG, J. H., SHIM, Y. Y., CHA, S. K. & CHEE, K. M. 2010a. Probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *J Appl Microbiol*, 109, 220-30.
46. CHANG, R. B., WATERS, H. & LIMAN, E. R. 2010b. A proton current drives action potentials in genetically identified sour taste cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107, 22320-5.
47. CHAUDHARI, N., LANDIN, A. M. & ROPER, S. D. 2000. A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor. *Nat Neurosci*, 3, 113-9.
48. CHAUDHARI, N. & ROPER, S. D. 2010. The cell biology of taste. *J Cell Biol*, 190, 285-96.
49. CHEN, Q. Y., ALARCON, S., THARP, A., AHMED, O. M., ESTRELLA, N. L., GREENE, T. A., RUCKER, J. & BRESLIN, P. A. 2009. Perceptual variation in umami taste and polymorphisms in TAS1R taste receptor genes. *Am J Clin Nutr*, 90, 770S-779S.
50. CHI, S. P. C., T. C. 1992. Predicting optimum monosodium glutamate and sodium chloride concentrations in chicken broth as affected by spice addition. *J. Food Process. Preserv.* 16: 313–326.
51. CHUN, L. 2012. Structure and ligand recognition of class C GPCRs. *Acta Pharmacologica Sinica* 33: 312–323.
52. CLAPP, T. R., STONE, L. M., MARGOLSKEE, R. F. & KINNAMON, S. C. 2001. Immunocytochemical evidence for co-expression of Type III IP3 receptor with signaling components of bitter taste transduction. *BMC Neurosci*, 2, 6.
53. CONIGRAVE, A. D. & BROWN, E. M. 2006. Taste receptors in the gastrointestinal tract. II. L-amino acid sensing by calcium-sensing receptors: implications for GI physiology. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 291, G753-61.
54. CONN, P. J. & PIN, J. P. 1997. Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 37, 205-37.
55. CURTIS, R. I. 2009. Umami and the foods of classical antiquity. *Am J Clin Nutr*, 90, 712S-718S.
56. D'ARMS, J. H. 2004. The culinary reality of Roman upper-class convivia: integrating texts and images.
57. DALBY, A. 2003. *Food in the ancient world, from A to Z*, London ; New York, Routledge.
58. DALY, K., AL-RAMMAHI, M., MORAN, A., MARCELLO, M., NINOMIYA, Y. & SHIRAZI-BEECHEY, S. P. 2013. Sensing of amino acids by the gut-expressed taste receptor T1R1-T1R3 stimulates CCK secretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 304, G271-82.
59. DAMAK, S., RONG, M., YASUMATSU, K., KOKRASHVILI, Z., PEREZ, C. A., SHIGEMURA, N., YOSHIDA, R., MOSINGER, B., JR., GLENDINNING, J. I., NINOMIYA, Y. & MARGOLSKEE, R. F. 2006. Trpm5 null mice respond to bitter, sweet, and umami compounds. *Chem Senses*, 31, 253-64.
60. DAMAK, S., RONG, M., YASUMATSU, K., KOKRASHVILI, Z., VARADARAJAN, V., ZOU, S., JIANG, P., NINOMIYA, Y. & MARGOLSKEE, R. F. 2003. Detection of sweet and umami taste in the absence of taste receptor T1r3. *Science*, 301, 850-3.
61. DE ARAUJO, I. E., ROLLS, E. T., KRINGELBACH, M. L., MCGLONE, F. & PHILLIPS, N. 2003. Taste-olfactory convergence, and the representation of the pleasantness of flavour, in the human brain. *Eur J Neurosci*, 18, 2059-68.
62. DE GRAAF, C., POLET, P. & VAN STAVEREN, W. A. 1994. Sensory perception and pleasantness of food flavors in elderly subjects. *J Gerontol*, 49, P93-9.
63. DE RIJKE, E., RUISCH, B., BAKKER, J., VISSER, J., LEENEN, J., HAIBER, S., DE KLERK, A., WINKEL, C. & KONIG, T. 2007. LC-MS study to reduce ion suppression and to identify N-lactoylguanosine 5'-monophosphate in bonito: a new umami molecule? *J Agric Food Chem*, 55, 6417-23.
64. DEFAZIO, R. A., DVORYANCHIKOV, G., MARUYAMA, Y., KIM, J. W., PEREIRA, E., ROPER, S. D. & CHAUDHARI, N. 2006. Separate populations of receptor cells and presynaptic cells in mouse taste buds. *J Neurosci*, 26, 3971-80.

65. DELAY, E. R., HERNANDEZ, N. P., BROMLEY, K. & MARGOLSKEE, R. F. 2006. Sucrose and monosodium glutamate taste thresholds and discrimination ability of T1R3 knockout mice. *Chem Senses*, 31, 351-7.
66. DELSON, E. 1975. Evolutionary history of the Cercopithecidae. *Contrib. Primat*, vol. 5, pp. 167-217.
67. DESIMONE, J. A., PHAN, T. H., REN, Z., MUMMALANENI, S. & LYALL, V. 2012. Changes in taste receptor cell $[Ca^{2+}]_i$ modulate chorda tympani responses to bitter, sweet, and umami taste stimuli. *J Neurophysiol*, 108, 3221-32.
68. DEVOTO, A., PIFFANELLI, P., NILSSON, I., WALLIN, E., PANSTRUGA, R., VON HEIJNE, G. & SCHULZE-LEFERT, P. 1999. Topology, subcellular localization, and sequence diversity of the Mlo family in plants. *J Biol Chem*, 274, 34993-5004.
69. DOTSON, C. D., GERAEDTS, M. C. & MUNGER, S. D. 2013. Peptide regulators of peripheral taste function. *Semin Cell Dev Biol*, 24, 232-9.
70. DOTY, R. L., SHAH, M. & BROMLEY, S. M. 2008. Drug-induced taste disorders. *Drug Saf*, 31, 199-215.
71. DUNKEL, A. & HOFMANN, T. 2009. Sensory-directed identification of beta-alanyl dipeptides as contributors to the thick-sour and white-meaty orosensation induced by chicken broth. *J Agric Food Chem*, 57, 9867-77.
72. DVORYANCHIKOV, G., SINCLAIR, M. S., PEREA-MARTINEZ, I., WANG, T. & CHAUDHARI, N. 2009. Inward rectifier channel, ROMK, is localized to the apical tips of glial-like cells in mouse taste buds. *J Comp Neurol*, 517, 1-14.
73. DVORYANCHIKOV, G., TOMCHIK, S. M. & CHAUDHARI, N. 2007. Biogenic amine synthesis and uptake in rodent taste buds. *J Comp Neurol*, 505, 302-13.
74. ELLIOTT, E. J. & SIMON, S. A. 1990. The anion in salt taste: a possible role for paracellular pathways. *Brain Res*, 535, 9-17.
75. ERDOGAN, S., VILLAR ARIAS, S. & PEREZ, W. 2015. Morphology of the lingual surface of South American fur seal (*Arctocephalus australis*) and sea lion (*Otaria flavescens*). *Microsc Res Tech*, 78, 140-7.
76. FARBMAN, A. I. 1965. Fine Structure of the Taste Bud. *J Ultrastruct Res*, 12, 328-50.
77. FARRE, R. & TACK, J. 2013. Food and symptom generation in functional gastrointestinal disorders: physiological aspects. *Am J Gastroenterol*, 108, 698-706.
78. FEHR, J., MEYER, D., WIDMAYER, P., BORTH, H. C., ACKERMANN, F., WILHELM, B., GUDERMANN, T. & BOEKHOFF, I. 2007. Expression of the G-protein alpha-subunit gustducin in mammalian spermatozoa. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, 193, 21-34.
79. FENG, P., ZHENG, J., ROSSITER, S. J., WANG, D. & ZHAO, H. 2014. Massive losses of taste receptor genes in toothed and baleen whales. *Genome Biol Evol*, 6, 1254-65.
80. FERNSTROM, J. D. 2009. Introduction to the symposium. The roles of glutamate in taste, gastrointestinal function, metabolism, and physiology. *Am J Clin Nutr*, 90, 705S-706S.
81. FISCHER, A., GILAD, Y., MAN, O. & PAABO, S. 2005. Evolution of bitter taste receptors in humans and apes. *Mol Biol Evol*, 22, 432-6.
82. FOODEN, J. 1982. Ecogeographic segregation of macaque species. *Primates*, 23:574-579.
83. FORMAKER, B. K., STAPLETON, J. R., ROPER, S. D. & FRANK, M. E. 2004. Responses of the rat chorda tympani nerve to glutamate-sucrose mixtures. *Chem Senses*, 29, 473-82.
84. FOSTER, S. R., PORRELLO, E. R., PURDUE, B., CHAN, H. W., VOIGT, A., FRENZEL, S., HANNAN, R. D., MORITZ, K. M., SIMMONS, D. G., MOLENAAR, P., ROURA, E., BOEHM, U., MEYERHOF, W. & THOMAS, W. G. 2013. Expression, regulation and putative nutrient-sensing function of taste GPCRs in the heart. *PLoS One*, 8, e64579.
85. FRANK, M. E., LUNDY, R. F., JR. & CONTRERAS, R. J. 2008. Cracking taste codes by tapping into sensory neuron impulse traffic. *Prog Neurobiol*, 86, 245-63.
86. FRAULI, M., HUBERT, N., SCHANN, S., TRIBALLEAU, N., BERTRAND, H. O., ACHER, F., NEUVILLE, P., PIN, J. P. & PREZEAU, L. 2007. Amino-pyrrolidine tricarboxylic acids give new insight into group III metabotropic glutamate receptor activation mechanism. *Mol Pharmacol*, 71, 704-12.

87. FRØST, O. G. M. L. D. G. C. M. B. 2017. Flavour of fermented fish, insect, game, and pea sauces: Garum revisited. *International Journal of Gastronomy and Food Science*.
88. FUJITA, T. 1991. Taste cells in the gut and on the tongue. Their common, paraneuronal features. *Physiol Behav*, 49, 883-5.
89. FUKUSHIMA, D. 1985. Fermented vegetable protein and related foods of Japan and China. *Food Reviews International*, 1, 149-209.
90. GATESY, J., GEISLER, J. H., CHANG, J., BUELL, C., BERTA, A., MEREDITH, R. W., SPRINGER, M. S. & MCGOWEN, M. R. 2013. A phylogenetic blueprint for a modern whale. *Mol Phylogenet Evol*, 66, 479-506.
91. GIOVANNUCCI, D. R., GROBLEWSKI, G. E., SNEYD, J. & YULE, D. I. 2000. Targeted phosphorylation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors selectively inhibits localized Ca²⁺ release and shapes oscillatory Ca²⁺ signals. *J Biol Chem*, 275, 33704-11.
92. GO, Y., SATTA, Y., TAKENAKA, O. & TAKAHATA, N. 2005. Lineage-specific loss of function of bitter taste receptor genes in humans and nonhuman primates. *Genetics*, 170, 313-26.
93. GRACHEVA, E. O., CORDERO-MORALES, J. F., GONZALEZ-CARCACIA, J. A., INGOLIA, N. T., MANNO, C., ARANGUREN, C. I., WEISSMAN, J. S. & JULIUS, D. 2011. Ganglion-specific splicing of TRPV1 underlies infrared sensation in vampire bats. *Nature*, 476, 88-91.
94. GRAVINA, S. A., YEP, G. L. & KHAN, M. 2013. Human biology of taste. *Ann Saudi Med*, 33, 217-22.
95. GUYTON, A. C. 2006. *Textbook of medical physiology*.
96. HE, W., YASUMATSU, K., VARADARAJAN, V., YAMADA, A., LEM, J., NINOMIYA, Y., MARGOLSKEE, R. F. & DAMAK, S. 2004. Umami taste responses are mediated by alpha-transducin and alpha-gustducin. *J Neurosci*, 24, 7674-80.
97. HERMANS, E. & CHALLISS, R. A. 2001. Structural, signalling and regulatory properties of the group I metabotropic glutamate receptors: prototypic family C G-protein-coupled receptors. *Biochem J*, 359, 465-84.
98. HIRA, T., NAKAJIMA, S., ETO, Y. & HARA, H. 2008. Calcium-sensing receptor mediates phenylalanine-induced cholecystokinin secretion in enteroendocrine STC-1 cells. *FEBS J*, 275, 4620-6.
99. HISATSUNE, C., YASUMATSU, K., TAKAHASHI-IWANAGA, H., OGAWA, N., KURODA, Y., YOSHIDA, R., NINOMIYA, Y. & MIKOSHIBA, K. 2007. Abnormal taste perception in mice lacking the type 3 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *J Biol Chem*, 282, 37225-31.
100. HLADIK CM, S. B. 1997. Taste perception and feeding behavior in nonhuman primates and human populations. *Evol Anthropol*.
101. HOLLENSTEIN, K., DE GRAAF, C., BORTOLATO, A., WANG, M. W., MARSHALL, F. H. & STEVENS, R. C. 2014. Insights into the structure of class B GPCRs. *Trends Pharmacol Sci*, 35, 12-22.
102. HOON, M. A., ADLER, E., LINDEMEIER, J., BATTEY, J. F., RYBA, N. J. & ZUKER, C. S. 1999. Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell*, 96, 541-51.
103. HUANG, A. L., CHEN, X., HOON, M. A., CHANDRASHEKAR, J., GUO, W., TRANKNER, D., RYBA, N. J. & ZUKER, C. S. 2006. The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature*, 442, 934-8.
104. HUANG, L., SHANKER, Y. G., DUBAUSKAITE, J., ZHENG, J. Z., YAN, W., ROSENZWEIG, S., SPIELMAN, A. I., MAX, M. & MARGOLSKEE, R. F. 1999. Ggamma13 colocalizes with gustducin in taste receptor cells and mediates IP₃ responses to bitter denatonium. *Nat Neurosci*, 2, 1055-62.
105. HUANG, Y. A. & ROPER, S. D. 2010. Intracellular Ca²⁺ and TRPM5-mediated membrane depolarization produce ATP secretion from taste receptor cells. *J Physiol*, 588, 2343-50.
106. HUANG, Y. J., MARUYAMA, Y., DVORYANCHIKOV, G., PEREIRA, E., CHAUDHARI, N. & ROPER, S. D. 2007. The role of pannexin 1 hemichannels in ATP release and cell-cell communication in mouse taste buds. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 6436-41.
107. HUNT RM, J., BARNES LG 1994. Basicranial evidence for ursid affinity of the oldest pinnipeds. *Proc San Diego Soc Nat Hist* 29:57-67.
108. IKEDA, K. 1908. On a new seasoning. *Journal of the Tokyo Chemical Society*, 30, 820-836.
109. IKEDA, K. 1909. On a new seasoning. *J. Tokyo Chem. Soc.*, 30: 820-836.

110. IORDANIS, T. T. K. 2013. The taste of Umami, recent data and its importance in diet. *Otorhinolaryngologia - Head and Neck Surgery*, 22-25.
111. IWASAKI, S. 2002. Evolution of the structure and function of the vertebrate tongue. *J Anat*, 201, 1-13.
112. IWATSUKI, K., ICHIKAWA, R., UEMATSU, A., KITAMURA, A., UNEYAMA, H. & TORII, K. 2012. Detecting sweet and umami tastes in the gastrointestinal tract. *Acta Physiol (Oxf)*, 204, 169-77.
113. JANG, H. J., KOKRASHVILI, Z., THEODORAKIS, M. J., CARLSON, O. D., KIM, B. J., ZHOU, J., KIM, H. H., XU, X., CHAN, S. L., JUHASZOVA, M., BERNIER, M., MOSINGER, B., MARGOLSKEE, R. F. & EGAN, J. M. 2007. Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 15069-74.
114. JASHEMSKI, W. F. 1973. Large vineyard discovered in ancient pompeii. *Science*, 180, 821-30.
115. JIANG, P., JI, Q., LIU, Z., SNYDER, L. A., BENARD, L. M., MARGOLSKEE, R. F. & MAX, M. 2004. The cysteine-rich region of T1R3 determines responses to intensely sweet proteins. *J Biol Chem*, 279, 45068-75.
116. JIANG, P., JOSUE, J., LI, X., GLASER, D., LI, W., BRAND, J. G., MARGOLSKEE, R. F., REED, D. R. & BEAUCHAMP, G. K. 2012. Major taste loss in carnivorous mammals. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109, 4956-61.
117. JIN, C., CIOCHON, R. L., DONG, W., HUNT, R. M., JR., LIU, J., JAEGER, M. & ZHU, Q. 2007. The first skull of the earliest giant panda. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 10932-7.
118. JONES, G. & TEELING, E. C. 2006. The evolution of echolocation in bats. *Trends Ecol Evol*, 21, 149-56.
119. KAUPP, U. B., KASHIKAR, N. D. & WEYAND, I. 2008. Mechanisms of sperm chemotaxis. *Annu Rev Physiol*, 70, 93-117.
120. KAWAMURA, Y. J. E. & KARE, M. R. E. 1987. *Umani : a basic taste : physiology biochemistry nutrition food science*, New York, Marcel Dekker.
121. KEAST, R. S., BOURNAZEL, M. M. & BRESLIN, P. A. 2003. A psychophysical investigation of binary bitter-compound interactions. *Chem Senses*, 28, 301-13.
122. KELLENBERGER, S. & SCHILD, L. 2002. Epithelial sodium channel/degenerin family of ion channels: a variety of functions for a shared structure. *Physiol Rev*, 82, 735-67.
123. KEMP, S. B., G. 1994. Flavor modification by sodium chloride and monosodium glutamate. *J. Food Sci.* 59: 682-686.
124. KENDIG, D. M., HURST, N. R., BRADLEY, Z. L., MAHAVADI, S., KUEMMERLE, J. F., LYALL, V., DESIMONE, J., MURTHY, K. S. & GRIDER, J. R. 2014. Activation of the umami taste receptor (T1R1/T1R3) initiates the peristaltic reflex and pellet propulsion in the distal colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 307, G1100-7.
125. KIM, M. J., SON, H. J., KIM, Y., MISAKA, T. & RHYU, M. R. 2015. Umami-bitter interactions: the suppression of bitterness by umami peptides via human bitter taste receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 456, 586-90.
126. KIM, M. R., KUSAKABE, Y., MIURA, H., SHINDO, Y., NINOMIYA, Y. & HINO, A. 2003. Regional expression patterns of taste receptors and gustducin in the mouse tongue. *Biochem Biophys Res Commun*, 312, 500-6.
127. KIM, U. K., WOODING, S., RIAZ, N., JORDE, L. B. & DRAYNA, D. 2006. Variation in the human TAS1R taste receptor genes. *Chem Senses*, 31, 599-611.
128. KINNAMON, S. C. 2009. Umami taste transduction mechanisms. *Am J Clin Nutr*, 90, 753S-755S.
129. KINNAMON, S. C. & VANDENBEUCH, A. 2009. Receptors and transduction of umami taste stimuli. *Ann N Y Acad Sci*, 1170, 55-9.
130. KLEIMAN DG, G. V., MCDADE MC 2004. Grzimek's Animal Life Encyclopedia, Mammals (III), Volume 14. 2nd edition. Michigan: The Gale Group, Inc.
131. KNIAZEFF, J., PREZEAU, L., RONDARD, P., PIN, J. P. & GOUDET, C. 2011. Dimers and beyond: The functional puzzles of class C GPCRs. *Pharmacol Ther*, 130, 9-25.
132. KOMATA, Y. 1990. Umami taste of seafoods. *Food Rev Int* 6:457-487.
133. KOZUKUE E, K. N., KUROSAKI T 1983. Organic acid, sugar and amino acid composition of bamboo shoots. *J Food Sci.* 48:935-938.

134. KRAUSE, J., UNGER, T., NOCON, A., MALASPINAS, A. S., KOLOKOTRONIS, S. O., STILLER, M., SOIBELZON, L., SPRIGGS, H., DEAR, P. H., BRIGGS, A. W., BRAY, S. C., O'BRIEN, S. J., RABEDER, G., MATHEUS, P., COOPER, A., SLATKIN, M., PAABO, S. & HOFREITER, M. 2008. Mitochondrial genomes reveal an explosive radiation of extinct and extant bears near the Miocene-Pliocene boundary. *BMC Evol Biol*, 8, 220.
135. KUBALE, V. 2010. Taste perception: from anatomical to molecular level. *Slov Vet Res* 2010; 47 (3): 107-27.
136. KUBO, Y. & TATEYAMA, M. 2005. Towards a view of functioning dimeric metabotropic receptors. *Curr Opin Neurobiol*, 15, 289-95.
137. KUNINAKA, A. 1966. Recent studies of 5'-nucleotides as new flavor enhancers. *Flavor Chemistry, Am. Chem. Soc., Washington, DC, pp. 261-274.*
138. KUNISHIMA, N., SHIMADA, Y., TSUJI, Y., SATO, T., YAMAMOTO, M., KUMASAKA, T., NAKANISHI, S., JINGAMI, H. & MORIKAWA, K. 2000. Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor. *Nature*, 407, 971-7.
139. KURIHARA, K. 2009. Glutamate: from discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami). *Am J Clin Nutr*, 90, 719S-722S.
140. KURIHARA, K. 2015. Umami the Fifth Basic Taste: History of Studies on Receptor Mechanisms and Role as a Food Flavor. *Biomed Res Int*, 2015, 189402.
141. KURIHARA, K. & KASHIWAYANAGI, M. 2000. Physiological studies on umami taste. *J Nutr*, 130, 931S-4S.
142. LAFFITTE, A., NEIERS, F. & BRIAND, L. 2014. Functional roles of the sweet taste receptor in oral and extraoral tissues. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 17, 379-85.
143. LAWTON, D. M., FURNESS, D. N., LINDEMANN, B. & HACKNEY, C. M. 2000. Localization of the glutamate-aspartate transporter, GLAST, in rat taste buds. *Eur J Neurosci*, 12, 3163-71.
144. LI, F. 2013. Taste perception: from the tongue to the testis. *Mol Hum Reprod*, 19, 349-60.
145. LI, F. & ZHOU, M. 2012. Depletion of bitter taste transduction leads to massive spermatid loss in transgenic mice. *Mol Hum Reprod*, 18, 289-97.
146. LI, R., FAN, W., TIAN, G., ZHU, H., HE, L., CAI, J., HUANG, Q., CAI, Q., LI, B., BAI, Y., ZHANG, Z., ZHANG, Y., WANG, W., LI, J., WEI, F., LI, H., JIAN, M., LI, J., ZHANG, Z., NIELSEN, R., LI, D., GU, W., YANG, Z., XUAN, Z., RYDER, O. A., LEUNG, F. C., ZHOU, Y., CAO, J., SUN, X., FU, Y., FANG, X., GUO, X., WANG, B., HOU, R., SHEN, F., MU, B., NI, P., LIN, R., QIAN, W., WANG, G., YU, C., NIE, W., WANG, J., WU, Z., LIANG, H., MIN, J., WU, Q., CHENG, S., RUAN, J., WANG, M., SHI, Z., WEN, M., LIU, B., REN, X., ZHENG, H., DONG, D., COOK, K., SHAN, G., ZHANG, H., KOSIOL, C., XIE, X., LU, Z., ZHENG, H., LI, Y., STEINER, C. C., LAM, T. T., LIN, S., ZHANG, Q., LI, G., TIAN, J., GONG, T., LIU, H., ZHANG, D., FANG, L., YE, C., ZHANG, J., HU, W., XU, A., REN, Y., ZHANG, G., BRUFORD, M. W., LI, Q., MA, L., GUO, Y., AN, N., HU, Y., ZHENG, Y., SHI, Y., LI, Z., LIU, Q., CHEN, Y., ZHAO, J., QU, N., ZHAO, S., TIAN, F., WANG, X., WANG, H., XU, L., LIU, X., VINAR, T., et al. 2010. The sequence and de novo assembly of the giant panda genome. *Nature*, 463, 311-7.
147. LI, X., LI, W., WANG, H., CAO, J., MAHASHI, K., HUANG, L., BACHMANOV, A. A., REED, D. R., LEGRAND-DEFRETIN, V., BEAUCHAMP, G. K. & BRAND, J. G. 2005. Pseudogenization of a sweet-receptor gene accounts for cats' indifference toward sugar. *PLoS Genet*, 1, 27-35.
148. LI, X., STASZEWSKI, L., XU, H., DURICK, K., ZOLLER, M. & ADLER, E. 2002. Human receptors for sweet and umami taste. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99, 4692-6.
149. LI, X. J., BLACKSHAW, S. & SNYDER, S. H. 1994. Expression and localization of amiloride-sensitive sodium channel indicate a role for non-taste cells in taste perception. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91, 1814-8.
150. LIAO, J. & SCHULTZ, P. G. 2003. Three sweet receptor genes are clustered in human chromosome 1. *Mamm Genome*, 14, 291-301.
151. LIMAN, E. R., ZHANG, Y. V. & MONTELL, C. 2014. Peripheral coding of taste. *Neuron*, 81, 984-1000.
152. LIN, W., BURKS, C. A., HANSEN, D. R., KINNAMON, S. C. & GILBERTSON, T. A. 2004. Taste receptor cells express pH-sensitive leak K⁺ channels. *J Neurophysiol*, 92, 2909-19.

153. LIN, W., OGURA, T. & KINNAMON, S. C. 2003. Responses to di-sodium guanosine 5'-monophosphate and monosodium L-glutamate in taste receptor cells of rat fungiform papillae. *J Neurophysiol*, 89, 1434-9.
154. LINDEMANN, B. 1997. Sodium taste. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 6, 425-9.
155. LINDEMANN, B. 2001. Receptors and transduction in taste. *Nature*, 413, 219-25.
156. LINDEMANN, B., OGIWARA, Y. & NINOMIYA, Y. 2002. The discovery of umami. *Chem Senses*, 27, 843-4.
157. LIU, G., WALTER, L., TANG, S., TAN, X., SHI, F., PAN, H., ROOS, C., LIU, Z. & LI, M. 2014. Differentiated adaptive evolution, episodic relaxation of selective constraints, and pseudogenization of umami and sweet taste genes TAS1Rs in catarrhine primates. *Front Zool*, 11, 79.
158. LIU, Y., ROSSITER, S. J., HAN, X., COTTON, J. A. & ZHANG, S. 2010. Cetaceans on a molecular fast track to ultrasonic hearing. *Curr Biol*, 20, 1834-9.
159. LOPER, H. B., LA SALA, M., DOTSON, C. & STEINLE, N. 2015. Taste perception, associated hormonal modulation, and nutrient intake. *Nutr Rev*, 73, 83-91.
160. LOPEZ CASCALES, J. J., OLIVEIRA COSTA, S. D., DE GROOT, B. L. & WALTERS, D. E. 2010. Binding of glutamate to the umami receptor. *Biophys Chem*, 152, 139-44.
161. LUGAZ, O., PILLIAS, A. M. & FAURION, A. 2002. A new specific ageusia: some humans cannot taste L-glutamate. *Chem Senses*, 27, 105-15.
162. LYALL, V., HECK, G. L., VINNIKOVA, A. K., GHOSH, S., PHAN, T. H., ALAM, R. I., RUSSELL, O. F., MALIK, S. A., BIGBEE, J. W. & DESIMONE, J. A. 2004. The mammalian amiloride-insensitive non-specific salt taste receptor is a vanilloid receptor-1 variant. *J Physiol*, 558, 147-59.
163. MACE, O. J., LISTER, N., MORGAN, E., SHEPHERD, E., AFFLECK, J., HELLIWELL, P., BRONK, J. R., KELLETT, G. L., MEREDITH, D., BOYD, R., PIERI, M., BAILEY, P. D., PETTCREW, R. & FOLEY, D. 2009. An energy supply network of nutrient absorption coordinated by calcium and T1R taste receptors in rat small intestine. *J Physiol*, 587, 195-210.
164. MACKINNON, M. R. 2004. *Production and consumption of animals in Roman Italy : integrating the zooarchaeological and textual evidence*, Portsmouth, R.I., Journal of Roman Archaeology.
165. MAEHASHI, K. & HUANG, L. 2009. Bitter peptides and bitter taste receptors. *Cell Mol Life Sci*, 66, 1661-71.
166. MAEHASHI, K., MATSUZAKI, M., YAMAMOTO, Y. & UDAKA, S. 1999. Isolation of peptides from an enzymatic hydrolysate of food proteins and characterization of their taste properties. *Biosci Biotechnol Biochem*, 63, 555-9.
167. MAKOFF, A., LELCHUK, R., OXER, M., HARRINGTON, K. & EMSON, P. 1996. Molecular characterization and localization of human metabotropic glutamate receptor type 4. *Brain Res Mol Brain Res*, 37, 239-48.
168. MAKOFF, A. J., PHILLIPS, T., PILLING, C. & EMSON, P. 1997. Expression of a novel splice variant of human mGluR1 in the cerebellum. *Neuroreport*, 8, 2943-7.
169. MARCIA C. WENDELN, J. R. R. 2000. Nutritional values of 14 fig species and bat feeding preferences in Panama. *Biotropica*, 32:489-501.
170. MARUYAMA, Y., PEREIRA, E., MARGOLSKEE, R. F., CHAUDHARI, N. & ROPER, S. D. 2006. Umami responses in mouse taste cells indicate more than one receptor. *J Neurosci*, 26, 2227-34.
171. MASIC, U. & YEOMANS, M. R. 2014. Umami flavor enhances appetite but also increases satiety. *Am J Clin Nutr*, 100, 532-8.
172. MASU, M., TANABE, Y., TSUCHIDA, K., SHIGEMOTO, R. & NAKANISHI, S. 1991. Sequence and expression of a metabotropic glutamate receptor. *Nature*, 349, 760-5.
173. MASUDA, K., KOIZUMI, A., NAKAJIMA, K., TANAKA, T., ABE, K., MISAKA, T. & ISHIGURO, M. 2012. Characterization of the modes of binding between human sweet taste receptor and low-molecular-weight sweet compounds. *PLoS One*, 7, e35380.
174. MATTES, R. D. 1997. Physiologic responses to sensory stimulation by food: nutritional implications. *J Am Diet Assoc*, 97, 406-13.
175. MATTES, R. D. 2002. The chemical senses and nutrition in aging: challenging old assumptions. *J Am Diet Assoc*, 102, 192-6.

176. MAX, M., SHANKER, Y. G., HUANG, L., RONG, M., LIU, Z., CAMPAGNE, F., WEINSTEIN, H., DAMAK, S. & MARGOLSKEE, R. F. 2001. Tas1r3, encoding a new candidate taste receptor, is allelic to the sweet responsiveness locus Sac. *Nat Genet*, 28, 58-63.
177. MCBURNEY, D. H., COLLINGS, V. B. & GLANZ, L. M. 1973. Temperature dependence of human taste responses. *Physiol Behav*, 11, 89-94.
178. MCCABE, C. & ROLLS, E. T. 2007. Umami: a delicious flavor formed by convergence of taste and olfactory pathways in the human brain. *Eur J Neurosci*, 25, 1855-64.
179. MCCAUGHEY, S. A. 2008. The taste of sugars. *Neurosci Biobehav Rev*, 32, 1024-43.
180. MCGOWEN, M. R., GATESY, J. & WILDMAN, D. E. 2014. Molecular evolution tracks macroevolutionary transitions in Cetacea. *Trends Ecol Evol*, 29, 336-46.
181. MEDLER, K. F., MARGOLSKEE, R. F. & KINNAMON, S. C. 2003. Electrophysiological characterization of voltage-gated currents in defined taste cell types of mice. *J Neurosci*, 23, 2608-17.
182. MEYER, D., VOIGT, A., WIDMAYER, P., BORTH, H., HUEBNER, S., BREIT, A., MARSCHALL, S., DE ANGELIS, M. H., BOEHM, U., MEYERHOF, W., GUDERMANN, T. & BOEKHOFF, I. 2012. Expression of Tas1 taste receptors in mammalian spermatozoa: functional role of Tas1r1 in regulating basal Ca(2)(+) and cAMP concentrations in spermatozoa. *PLoS One*, 7, e32354.
183. MIERSON, S., OLSON, M. M. & TIETZ, A. E. 1996. Basolateral amiloride-sensitive Na⁺ transport pathway in rat tongue epithelium. *J Neurophysiol*, 76, 1297-309.
184. MISAKA, T., KUSAKABE, Y., EMORI, Y., GONOI, T., ARAI, S. & ABE, K. 1997. Taste buds have a cyclic nucleotide-activated channel, CNGgust. *J Biol Chem*, 272, 22623-9.
185. MIYANO, M. S. T. M. D. I. S. E. H. & CURTIS, T. K. R. I. 2010. Amino acids and minerals in ancient remnants of fish sauce (garum) sampled in the "Garum Shop" of Pompeii, Italy. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 442-446.
186. MOJET, J., HEIDEMA, J. & CHRIST-HAZELHOF, E. 2003. Taste perception with age: generic or specific losses in supra-threshold intensities of five taste qualities? *Chem Senses*, 28, 397-413.
187. MØLLER, A. R. 2003. *Sensory systems : anatomy and physiology*, Amsterdam ; London, Academic Press.
188. MONASTYRSKAIA, K., LUNDSTROM, K., PLAHL, D., ACUNA, G., SCHWEITZER, C., MALHERBE, P. & MUTEL, V. 1999. Effect of the umami peptides on the ligand binding and function of rat mGlu4a receptor might implicate this receptor in the monosodium glutamate taste transduction. *Br J Pharmacol*, 128, 1027-34.
189. MOON, Y. W., LEE, J. H., YOO, S. B. & JAHNG, J. W. 2010. Capsaicin receptors are colocalized with sweet/bitter receptors in the taste sensing cells of circumvallate papillae. *Genes Nutr*, 5, 251-5.
190. MORAN, T. H. 2009. Gut peptides in the control of food intake. *Int J Obes (Lond)*, 33 Suppl 1, S7-10.
191. MOURITSEN, O. G. 2012. Umami flavour as a means of regulating food intake and improving nutrition and health. *Nutr Health*, 21, 56-75.
192. MOURITSEN, O. G. 2016. Deliciousness of food and a proper balance in fatty acid composition as means to improve human health and regulate food intake. *Flavour*, 5.
193. MOURITSEN, O. G. & KHANDELIA, H. 2012. Molecular mechanism of the allosteric enhancement of the umami taste sensation. *FEBS J*, 279, 3112-20.
194. MURPHY, C. 1993. Nutrition and chemosensory perception in the elderly. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 33, 3-15.
195. MUTO, T., TSUCHIYA, D., MORIKAWA, K. & JINGAMI, H. 2007. Structures of the extracellular regions of the group II/III metabotropic glutamate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 3759-64.
196. NAKAMURA, M. & KURIHARA, K. 1991. Differential temperature dependence of taste nerve responses to various taste stimuli in dogs and rats. *Am J Physiol*, 261, R1402-8.
197. NAKASHIMA, K., EDDY, M. C., KATSUKAWA, H., DELAY, E. R. & NINOMIYA, Y. 2012. Behavioral responses to glutamate receptor agonists and antagonists implicate the involvement of brain-expressed mGluR4 and mGluR1 in taste transduction for umami in mice. *Physiol Behav*, 105, 709-19.

198. NARUKAWA, M., MORI, T. & HAYASHI, Y. 2006. Umami changes intracellular Ca²⁺ levels using intracellular and extracellular sources in mouse taste receptor cells. *Biosci Biotechnol Biochem*, 70, 2613-9.
199. NELSON, G., CHANDRASHEKAR, J., HOON, M. A., FENG, L., ZHAO, G., RYBA, N. J. & ZUKER, C. S. 2002. An amino-acid taste receptor. *Nature*, 416, 199-202.
200. NELSON, G., HOON, M. A., CHANDRASHEKAR, J., ZHANG, Y., RYBA, N. J. & ZUKER, C. S. 2001. Mammalian sweet taste receptors. *Cell*, 106, 381-90.
201. NINOMIYA, K. 2002. Umami: a universal taste. *Food Reviews International*, 18, 23-38.
202. NINOMIYA, K. 2015. Science of umami taste: adaptation to gastronomic culture. *Flavour*.
203. NOGUCHI, M., ARAI, S., YAMASHITA, M., KATO, H. & FUJIMAKI, M. 1975. Isolation and identification of acidic oligopeptides occurring in a flavor potentiating fraction from a fish protein hydrolysate. *J Agric Food Chem*, 23, 49-53.
204. NOGUSHI, M. A., S.; YAMASHITA, K.; KATO, H.; FUJIMAKI, M. 1975. Isolation and identification of acidic oligopeptides occurring in a flavor potentiating fraction from a fish protein hydrolysate. *J.Agric. Food Chem.* 23, 49-53.
205. NUMMELA S, H. S., THEWISSEN J 2006. Cranial anatomy of Pakicetidae (Cetacea, Mammalia). *J Vertebr Paleontol*, 26:746–759.
206. O'HARA, P. J., SHEPPARD, P. O., THOGERSEN, H., VENEZIA, D., HALDEMAN, B. A., MCGRANE, V., HOUAMED, K. M., THOMSEN, C., GILBERT, T. L. & MULVIHILL, E. R. 1993. The ligand-binding domain in metabotropic glutamate receptors is related to bacterial periplasmic binding proteins. *Neuron*, 11, 41-52.
207. O'LEARY MA, U. M. 1999. The time of origin of whales and the role of behavioral changes in the terrestrial-aquatic transition. *Paleobiology*, 25:534–556.
208. OGURA, T., MARGOLSKEE, R. F. & KINNAMON, S. C. 2002. Taste receptor cell responses to the bitter stimulus denatonium involve Ca²⁺ influx via store-operated channels. *J Neurophysiol*, 87, 3152-5.
209. OHKURI, T., HORIO, N., STRATFORD, J. M., FINGER, T. E. & NINOMIYA, Y. 2012. Residual chemoresponsiveness to acids in the superior laryngeal nerve in "taste-blind" (P2X2/P2X3 double-KO) mice. *Chem Senses*, 37, 523-32.
210. OKA, Y., BUTNARU, M., VON BUCHHOLTZ, L., RYBA, N. J. & ZUKER, C. S. 2013. High salt recruits aversive taste pathways. *Nature*, 494, 472-5.
211. OLDE RIKKERT, M. G. & RIGAUD, A. S. 2003. Malnutrition research: high time to change the menu. *Age Ageing*, 32, 241-3.
212. OTSUKA, S. 1998. Umami in Japan, Korea, and Southeast Asia. *Food Reviews International*, 14, 247-256.
213. OYA, M., SUZUKI, H., WATANABE, Y., SATO, M. & TSUBOI, T. 2011. Amino acid taste receptor regulates insulin secretion in pancreatic beta-cell line MIN6 cells. *Genes Cells*, 16, 608-16.
214. PARMENTIER, M. L., PREZEAU, L., BOCKAERT, J. & PIN, J. P. 2002. A model for the functioning of family 3 GPCRs. *Trends Pharmacol Sci*, 23, 268-74.
215. PASTOR, J. F., BARBOSA, M. & DE PAZ, F. J. 2008. Morphological study of the lingual papillae of the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) by scanning electron microscopy. *J Anat*, 212, 99-105.
216. PIN, J. P., GALVEZ, T. & PREZEAU, L. 2003. Evolution, structure, and activation mechanism of family 3/C G-protein-coupled receptors. *Pharmacol Ther*, 98, 325-54.
217. PIN, J. P., KNIAZEFF, J., GOUDET, C., BESSIS, A. S., LIU, J., GALVEZ, T., ACHER, F., RONDARD, P. & PREZEAU, L. 2004. The activation mechanism of class-C G-protein coupled receptors. *Biol Cell*, 96, 335-42.
218. PLAKIDOU-DYMOCK, S., DYMOCK, D. & HOOLEY, R. 1998. A higher plant seven-transmembrane receptor that influences sensitivity to cytokinins. *Curr Biol*, 8, 315-24.
219. PLINY, RACKHAM, H. & JONES, W. H. S. 1961. *Natural history*, Cambridge,, Harvard University Press.
220. POWER, M. L. & SCHULKIN, J. 2008. Anticipatory physiological regulation in feeding biology: cephalic phase responses. *Appetite*, 50, 194-206.
221. PRESCOTT, J. 2014. Umami. The Fifth Taste.

222. PYDI, S. P., BHULLAR, R. P. & CHELIKANI, P. 2014. Constitutive activity of bitter taste receptors (T2Rs). *Adv Pharmacol*, 70, 303-26.
223. RALIOU, M., WIENCIS, A., PILLIAS, A. M., PLANCHAIS, A., ELOIT, C., BOUCHER, Y., TROTIER, D., MONTMAYEUR, J. P. & FAURION, A. 2009. Nonsynonymous single nucleotide polymorphisms in human tas1r1, tas1r3, and mGluR1 and individual taste sensitivity to glutamate. *Am J Clin Nutr*, 90, 789S-799S.
224. RATCLIFFE JM, F. M., GALEF BG JR 2003. An exception to the rule: common vampire bats do not learn taste aversions. *Anim Behav*. 65:385–389.
225. REBELLO, M. R. & MEDLER, K. F. 2010. Ryanodine receptors selectively contribute to the formation of taste-evoked calcium signals in mouse taste cells. *Eur J Neurosci*, 32, 1825-35.
226. REIDENBERG, J. S. 2007. Anatomical adaptations of aquatic mammals. *Anat Rec (Hoboken)*, 290, 507-13.
227. REN, X., ZHOU, L., TERWILLIGER, R., NEWTON, S. S. & DE ARAUJO, I. E. 2009. Sweet taste signaling functions as a hypothalamic glucose sensor. *Front Integr Neurosci*, 3, 12.
228. RIBATTI, D., NICO, B., CRIVELLATO, E. & ARTICO, M. 2006. Development of the blood-brain barrier: a historical point of view. *Anat Rec B New Anat*, 289, 3-8.
229. ROLLS, E. T. 2000. The representation of umami taste in the taste cortex. *J Nutr*, 130, 960S-5S.
230. ROLLS, E. T. 2009. Functional neuroimaging of umami taste: what makes umami pleasant? *Am J Clin Nutr*, 90, 804S-813S.
231. ROLLS, E. T. & BAYLIS, L. L. 1994. Gustatory, olfactory, and visual convergence within the primate orbitofrontal cortex. *J Neurosci*, 14, 5437-52.
232. ROMANOV, R. A., ROGACHEVSKAJA, O. A., BYSTROVA, M. F., JIANG, P., MARGOLSKEE, R. F. & KOLESNIKOV, S. S. 2007. Afferent neurotransmission mediated by hemichannels in mammalian taste cells. *EMBO J*, 26, 657-67.
233. ROPER, S. D. 2007. Signal transduction and information processing in mammalian taste buds. *Pflugers Arch*, 454, 759-76.
234. ROTOLA-PUKKILA, M. K., PIHLAJAVIITA, S. T., KAIMAINEN, M. T. & HOPIA, A. I. 2015. Concentration of Umami Compounds in Pork Meat and Cooking Juice with Different Cooking Times and Temperatures. *J Food Sci*, 80, C2711-6.
235. ROTZOLL, N., DUNKEL, A. & HOFMANN, T. 2005. Activity-guided identification of (S)-malic acid 1-O-D-glucopyranoside (morelid) and gamma-aminobutyric acid as contributors to umami taste and mouth-drying oral sensation of morel mushrooms (*Morchella deliciosa* Fr.). *J Agric Food Chem*, 53, 4149-56.
236. ROZENGURT, E. & STERNINI, C. 2007. Taste receptor signaling in the mammalian gut. *Curr Opin Pharmacol*, 7, 557-62.
237. RUIZ, C., GUTKNECHT, S., DELAY, E. & KINNAMON, S. 2006. Detection of NaCl and KCl in TRPV1 knockout mice. *Chem Senses*, 31, 813-20.
238. RYBCZYNSKI, N., DAWSON, M. R. & TEDFORD, R. H. 2009. A semi-aquatic Arctic mammalian carnivore from the Miocene epoch and origin of Pinnipedia. *Nature*, 458, 1021-4.
239. SAKO, N., TOKITA, K., SUGIMURA, T. & YAMAMOTO, T. 2003. Synergistic responses of the chorda tympani to mixtures of umami and sweet substances in rats. *Chem Senses*, 28, 261-6.
240. SAN GABRIEL, A., MAEKAWA, T., UNEYAMA, H. & TORII, K. 2009a. Metabotropic glutamate receptor type 1 in taste tissue. *Am J Clin Nutr*, 90, 743S-746S.
241. SAN GABRIEL, A., NAKAMURA, E., UNEYAMA, H. & TORII, K. 2009b. Taste, visceral information and exocrine reflexes with glutamate through umami receptors. *J Med Invest*, 56 Suppl, 209-17.
242. SAN GABRIEL, A., UNEYAMA, H., YOSHIE, S. & TORII, K. 2005. Cloning and characterization of a novel mGluR1 variant from vallate papillae that functions as a receptor for L-glutamate stimuli. *Chem Senses*, 30 Suppl 1, i25-6.
243. SASAKI, K., MOTOYAMA, M. & MITSUMOTO, M. 2007. Changes in the amounts of water-soluble umami-related substances in porcine longissimus and biceps femoris muscles during moist heat cooking. *Meat Sci*, 77, 167-72.
244. SASANO, T. 2015. The important role of umami taste in oral and overall health. *Flavour*, 10.

245. SATO, M. Y., S.; OGAWA, H.; 1967. Patterns of impulses produced by MSG and 5'-ribonucleotides in taste units of the rat. *In: HAYASHI, T. (ed.) Olfaction and Taste II*. New York: Pergamon Press.
246. SCHIFFMAN, S. S. 2009. Effects of aging on the human taste system. *Ann N Y Acad Sci*, 1170, 725-9.
247. SCHIFFMAN, S. S., FREY, A. E., LUBOSKI, J. A., FOSTER, M. A. & ERICKSON, R. P. 1991. Taste of glutamate salts in young and elderly subjects: role of inosine 5'-monophosphate and ions. *Physiol Behav*, 49, 843-54.
248. SCHIFFMAN, S. S., LOCKHEAD, E. & MAES, F. W. 1983. Amiloride reduces the taste intensity of Na⁺ and Li⁺ salts and sweeteners. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 80, 6136-40.
249. SCHLICHTERLE-CERNY, H. & AMADO, R. 2002. Analysis of taste-active compounds in an enzymatic hydrolysate of deamidated wheat gluten. *J Agric Food Chem*, 50, 1515-22.
250. SCOTT, K. P., GRATZ, S. W., SHERIDAN, P. O., FLINT, H. J. & DUNCAN, S. H. 2013. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacol Res*, 69, 52-60.
251. SHI, P. & ZHANG, J. 2006. Contrasting modes of evolution between vertebrate sweet/umami receptor genes and bitter receptor genes. *Mol Biol Evol*, 23, 292-300.
252. SHIGEMOTO, R., NAKANISHI, S. & MIZUNO, N. 1992. Distribution of the mRNA for a metabotropic glutamate receptor (mGluR1) in the central nervous system: an in situ hybridization study in adult and developing rat. *J Comp Neurol*, 322, 121-35.
253. SHIGEMURA, N., SHIROSAKI, S., SANEMATSU, K., YOSHIDA, R. & NINOMIYA, Y. 2009. Genetic and molecular basis of individual differences in human umami taste perception. *PLoS One*, 4, e6717.
254. SHIM, J., SON, H. J., KIM, Y., KIM, K. H., KIM, J. T., MOON, H., KIM, M. J., MISAKA, T. & RHYU, M. R. 2015. Modulation of sweet taste by umami compounds via sweet taste receptor subunit hT1R2. *PLoS One*, 10, e0124030.
255. SIMMEN B, S. D. 1996. Diets of some French Guianan primates: food composition and food choices. *Int J Primatol*, 17:661-693.
256. SIMMONS, N. B., SEYMOUR, K. L., HABERSETZER, J. & GUNNELL, G. F. 2008. Primitive Early Eocene bat from Wyoming and the evolution of flight and echolocation. *Nature*, 451, 818-21.
257. SMITH, K. R., TREESUKOSOL, Y., PAEDAE, A. B., CONTRERAS, R. J. & SPECTOR, A. C. 2012. Contribution of the TRPV1 channel to salt taste quality in mice as assessed by conditioned taste aversion generalization and chorda tympani nerve responses. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 303, R1195-205.
258. SONG, X. 2016. Changes in orosensory perception related to aging and strategies for counteracting its influence on food preferences among older adults. *Trends in Food Science & Technology*, 49-59.
259. SPIELMAN, A. I. 1998. *Crit.Rev. Oral Biol. Med.*
260. SPONHEIMER, M. & LEE-THORP, J. A. 1999. Isotopic evidence for the diet of an early hominid, *Australopithecus africanus*. *Science*, 283, 368-70.
261. STANSKA, K. & KRZESKI, A. 2016. The umami taste: from discovery to clinical use. *Otolaryngol Pol*, 70, 10-5.
262. STEPHAN, D., BON, C., HOLZWARTH, J. A., GALVAN, M. & PRUSS, R. M. 1996. Human metabotropic glutamate receptor 1: mRNA distribution, chromosome localization and functional expression of two splice variants. *Neuropharmacology*, 35, 1649-60.
263. STONE, L. M., BARROWS, J., FINGER, T. E. & KINNAMON, S. C. 2007. Expression of T1Rs and gustducin in palatal taste buds of mice. *Chem Senses*, 32, 255-62.
264. SUZUKI, T. 2007. Cellular mechanisms in taste buds. *Bull Tokyo Dent Coll*, 48, 151-61.
265. TALAVERA, K., NINOMIYA, Y., WINKEL, C., VOETS, T. & NILIUS, B. 2007. Influence of temperature on taste perception. *Cell Mol Life Sci*, 64, 377-81.
266. THEWISSEN J, C. L., GEORGE JC, BAIJPAI S 2009. From land to water: the origin of whales, dolphins, and porpoises. *Evo Edu Outreach* 2009, 2:272-288.
267. TOELSTEDE, S. & HOFMANN, T. 2008a. Quantitative studies and taste re-engineering experiments toward the decoding of the nonvolatile sensometabolome of Gouda cheese. *J Agric Food Chem*, 56, 5299-307.

268. TOELSTEDE, S. & HOFMANN, T. 2008b. Sensomics mapping and identification of the key bitter metabolites in Gouda cheese. *J Agric Food Chem*, 56, 2795-804.
269. TOKITA, K. & BOUGHTER, J. D., JR. 2012. Sweet-bitter and umami-bitter taste interactions in single parabrachial neurons in C57BL/6J mice. *J Neurophysiol*, 108, 2179-90.
270. TOMCHIK, S. M., BERG, S., KIM, J. W., CHAUDHARI, N. & ROPER, S. D. 2007. Breadth of tuning and taste coding in mammalian taste buds. *J Neurosci*, 27, 10840-8.
271. TOMINAGA, M., CATERINA, M. J., MALMBERG, A. B., ROSEN, T. A., GILBERT, H., SKINNER, K., RAUMANN, B. E., BASBAUM, A. I. & JULIUS, D. 1998. The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron*, 21, 531-43.
272. TOSI, A. M., JM.; MELNICK DJ. 2003. Paternal, maternal, and biparental molecular markers provide unique windows onto the evolutionary history of macaque monkeys. *Evolution*, 57:1419-1435.
273. TOYONO, T., KATAOKA, S., SETA, Y., SHIGEMOTO, R. & TOYOSHIMA, K. 2007. Expression of group II metabotropic glutamate receptors in rat gustatory papillae. *Cell Tissue Res*, 328, 57-63.
274. TOYONO, T., SETA, Y., KATAOKA, S., HARADA, H., MOROTOMI, T., KAWANO, S., SHIGEMOTO, R. & TOYOSHIMA, K. 2002. Expression of the metabotropic glutamate receptor, mGluR4a, in the taste hairs of taste buds in rat gustatory papillae. *Arch Histol Cytol*, 65, 91-6.
275. TREESUKOSOL, Y., LYALL, V., HECK, G. L., DESIMONE, J. A. & SPECTOR, A. C. 2007. A psychophysical and electrophysiological analysis of salt taste in Trpv1 null mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 292, R1799-809.
276. TRUBEY, K. R., CULPEPPER, S., MARUYAMA, Y., KINNAMON, S. C. & CHAUDHARI, N. 2006. Tastants evoke cAMP signal in taste buds that is independent of calcium signaling. *Am J Physiol Cell Physiol*, 291, C237-44.
277. TSUCHIYA, D., KUNISHIMA, N., KAMIYA, N., JINGAMI, H. & MORIKAWA, K. 2002. Structural views of the ligand-binding cores of a metabotropic glutamate receptor complexed with an antagonist and both glutamate and Gd3+. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99, 2660-5.
278. UNEYAMA, H., KAWAI, M., SEKINE-HAYAKAWA, Y. & TORII, K. 2009. Contribution of umami taste substances in human salivation during meal. *J Med Invest*, 56 Suppl, 197-204.
279. VALENTI, O., CONN, P. J. & MARINO, M. J. 2002. Distinct physiological roles of the Gq-coupled metabotropic glutamate receptors Co-expressed in the same neuronal populations. *J Cell Physiol*, 191, 125-37.
280. VANDENBEUCH, A., CLAPP, T. R. & KINNAMON, S. C. 2008. Amiloride-sensitive channels in type I fungiform taste cells in mouse. *BMC Neurosci*, 9, 1.
281. VELISEK, J. D., J.; KUBELKA, V.; TRAN THI BICH THU; HAJLSLOVA, J 1978. Succinic acid in yeast autolysates and its sensory properties. *Nahrung* 22, 735-743.
282. VERHAGEN, J. V., KADOHISA, M. & ROLLS, E. T. 2004. Primate insular/opercular taste cortex: neuronal representations of the viscosity, fat texture, grittiness, temperature, and taste of foods. *J Neurophysiol*, 92, 1685-99.
283. VICKERY, H. B. 1931. The history of the discovery of the amino acids. *Chemical Reviews*, 9, 169-318.
284. WANG, M., YAO, Y., KUANG, D. & HAMPSON, D. R. 2006. Activation of family C G-protein-coupled receptors by the tripeptide glutathione. *J Biol Chem*, 281, 8864-70.
285. WERTH, A. J. 2007. Adaptations of the cetacean hyolingual apparatus for aquatic feeding and thermoregulation. *Anat Rec (Hoboken)*, 290, 546-68.
286. WHITE, W. O., SCHWARTZ, G. J. & MORAN, T. H. 2000. Role of endogenous CCK in the inhibition of gastric emptying by peptone and Intralipid in rats. *Regul Pept*, 88, 47-53.
287. WINKEL, C., DE KLERK, A., VISSER, J., DE RIJKE, E., BAKKER, J., KOENIG, T. & RENES, H. 2008. New developments in umami (enhancing) molecules. *Chem Biodivers*, 5, 1195-203.
288. WON, T. J., KIM, B., LIM, Y. T., SONG, D. S., PARK, S. Y., PARK, E. S., LEE, D. I. & HWANG, K. W. 2011. Oral administration of Lactobacillus strains from Kimchi inhibits atopic dermatitis in NC / Nga mice. *J Appl Microbiol*, 110, 1195-202.
289. XU, H., STASZEWSKI, L., TANG, H., ADLER, E., ZOLLER, M. & LI, X. 2004. Different functional roles of T1R subunits in the heteromeric taste receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101, 14258-63.

290. YAMAGUCHI, S. 1987. Fundamental properties of umami in human taste sensation. *Umami: A Basic Taste*. New York, NY: Marcel Dekker.
291. YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. 2000. Umami and food palatability. *J Nutr*, 130, 921S-6S.
292. YAMAGUCHI, S. K., A. 1979. Psychometric studies on the taste of monosodium glutamate. *Glutamic acid: advances in biochemistry and physiology*. New York: Raven Press.
293. YAMAGUCHI, S. T., C. 1984a. Hedonic function of monosodium glutamate and four basic taste substances used at various concentration levels in simple and complex systems. *Agric. Biol. Chem.* 48: 1077-1081
294. YAMAGUCHI, S. T., C. 1984b. Interactions of monosodium glutamate and sodium chloride on saltiness and palatability of a clear soup. *J. Food Sci.* 49: 82-85.
295. YAMAMOTO, K. & ISHIMARU, Y. 2013. Oral and extra-oral taste perception. *Semin Cell Dev Biol*, 24, 240-6.
296. YAMAMOTO, T., MATSUO, R., FUJIMOTO, Y., FUKUNAGA, I., MIYASAKA, A. & IMOTO, T. 1991. Electrophysiological and behavioral studies on the taste of umami substances in the rat. *Physiol Behav*, 49, 919-25.
297. YAMASHITA, S. & SATO, M. 1965. The effects of temperature on gustatory response of rats. *J Cell Physiol*, 66, 1-17.
298. YASUMATSU, K., HORIO, N., MURATA, Y., SHIROSAKI, S., OHKURI, T., YOSHIDA, R. & NINOMIYA, Y. 2009. Multiple receptors underlie glutamate taste responses in mice. *Am J Clin Nutr*, 90, 747S-752S.
299. YE, Q., HECK, G. L. & DESIMONE, J. A. 1993. Voltage dependence of the rat chorda tympani response to Na⁺ salts: implications for the functional organization of taste receptor cells. *J Neurophysiol*, 70, 167-78.
300. YOSHIDA, M. & YOSHIDA, K. 2011. Sperm chemotaxis and regulation of flagellar movement by Ca²⁺. *Mol Hum Reprod*, 17, 457-65.
301. YOSHIDA, Y. 1998. Umami taste and traditional seasonings. *Food Reviews International*, 14, 213-246.
302. YOSHII, K., YOKOUCHI, C. & KURIHARA, K. 1986. Synergistic effects of 5'-nucleotides on rat taste responses to various amino acids. *Brain Res*, 367, 45-51.
303. YOSHIMURA, K., SHINDOH, J. & KOBAYASHI, K. 2002. Scanning electron microscopy study of the tongue and lingual papillae of the California sea lion (*Zalophus californianus californianus*). *Anat Rec*, 267, 146-53.
304. YOUNG, R. L., SUTHERLAND, K., PEZOS, N., BRIERLEY, S. M., HOROWITZ, M., RAYNER, C. K. & BLACKSHAW, L. A. 2009. Expression of taste molecules in the upper gastrointestinal tract in humans with and without type 2 diabetes. *Gut*, 58, 337-46.
305. ZAFRA, M. A., MOLINA, F. & PUERTO, A. 2006. The neural/cephalic phase reflexes in the physiology of nutrition. *Neurosci Biobehav Rev*, 30, 1032-44.
306. ZAI, H., KUSANO, M., HOSAKA, H., SHIMOYAMA, Y., NAGOSHI, A., MAEDA, M., KAWAMURA, O. & MORI, M. 2009. Monosodium L-glutamate added to a high-energy, high-protein liquid diet promotes gastric emptying. *Am J Clin Nutr*, 89, 431-5.
307. ZHANG, F., KLEBANSKY, B., FINE, R. M., XU, H., PRONIN, A., LIU, H., TACHDJIAN, C. & LI, X. 2008. Molecular mechanism for the umami taste synergism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105, 20930-4.
308. ZHANG, Y., HOON, M. A., CHANDRASHEKAR, J., MUELLER, K. L., COOK, B., WU, D., ZUKER, C. S. & RYBA, N. J. 2003. Coding of sweet, bitter, and umami tastes: different receptor cells sharing similar signaling pathways. *Cell*, 112, 293-301.
309. ZHANG, Z., ZHAO, Z., MARGOLSKEE, R. & LIMAN, E. 2007. The transduction channel TRPM5 is gated by intracellular calcium in taste cells. *J Neurosci*, 27, 5777-86.
310. ZHAO, G. Q., ZHANG, Y., HOON, M. A., CHANDRASHEKAR, J., ERLNBACH, I., RYBA, N. J. & ZUKER, C. S. 2003. The receptors for mammalian sweet and umami taste. *Cell*, 115, 255-66.
311. ZHAO, H., XU, D., ZHANG, S. & ZHANG, J. 2012. Genomic and genetic evidence for the loss of umami taste in bats. *Genome Biol Evol*, 4, 73-9.

312. ZHAO, H., YANG, J. R., XU, H. & ZHANG, J. 2010a. Pseudogenization of the umami taste receptor gene *Tas1r1* in the giant panda coincided with its dietary switch to bamboo. *Mol Biol Evol*, 27, 2669-73.
313. ZHAO, H., ZHOU, Y., PINTO, C. M., CHARLES-DOMINIQUE, P., GALINDO-GONZALEZ, J., ZHANG, S. & ZHANG, J. 2010b. Evolution of the sweet taste receptor gene *Tas1r2* in bats. *Mol Biol Evol*, 27, 2642-50.
314. ZHOU, X., SUN, F., XU, S., FAN, G., ZHU, K., LIU, X., CHEN, Y., SHI, C., YANG, Y., HUANG, Z., CHEN, J., HOU, H., GUO, X., CHEN, W., CHEN, Y., WANG, X., LV, T., YANG, D., ZHOU, J., HUANG, B., WANG, Z., ZHAO, W., TIAN, R., XIONG, Z., XU, J., LIANG, X., CHEN, B., LIU, W., WANG, J., PAN, S., FANG, X., LI, M., WEI, F., XU, X., ZHOU, K., WANG, J. & YANG, G. 2013. Baiji genomes reveal low genetic variability and new insights into secondary aquatic adaptations. *Nat Commun*, 4, 2708.
315. ZHOU, X., XU, S., YANG, Y., ZHOU, K. & YANG, G. 2011. Phylogenomic analyses and improved resolution of Cetartiodactyla. *Mol Phylogenet Evol*, 61, 255-64.
316. ZHOU, Y., DONG, D., ZHANG, S. & ZHAO, H. 2009. Positive selection drives the evolution of bat bitter taste receptor genes. *Biochem Genet*, 47, 207-15.
317. ZHU, K., ZHOU, X., XU, S., SUN, D., REN, W., ZHOU, K. & YANG, G. 2014. The loss of taste genes in cetaceans. *BMC Evol Biol*, 14, 218.