



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

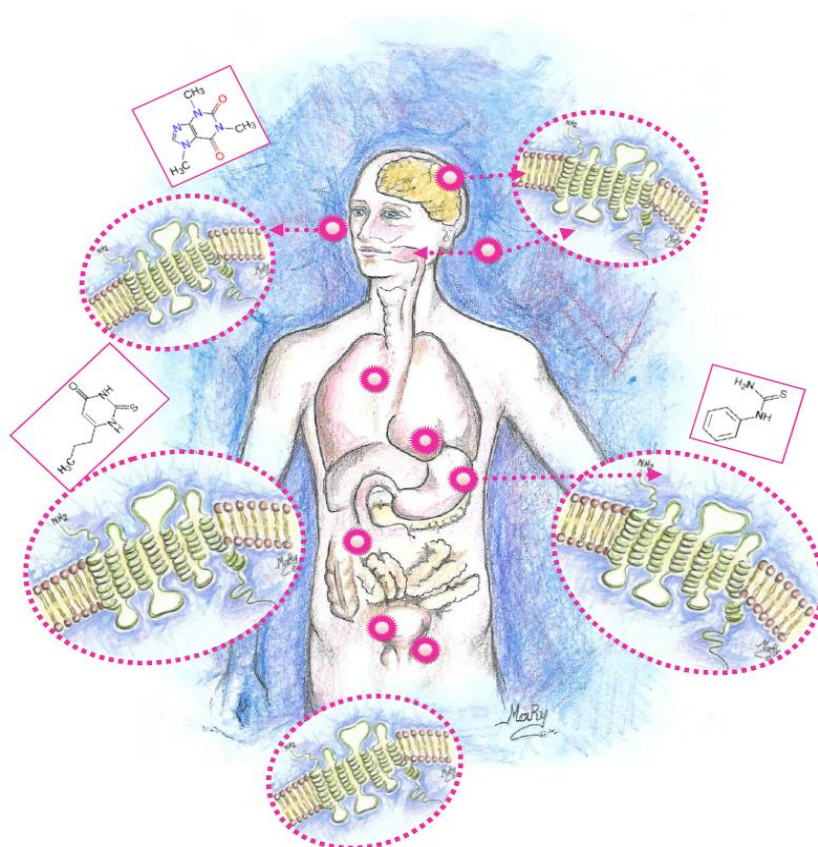
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ

Πτυχιακή εργασία

ΜΑΡΙΑ ΙΩΑΝΝΙΔΟΥ



Αθήνα, 2017



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Παπανικολάου Γεώργιος

Λέκτορας στην Παθοφυσιολογία - Γενετική του Ανθρώπου,

Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.

Νομικός Τζώρτζης

Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας

Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.

Τέντα Ρωξάνη

Επίκουρη Καθηγήτρια της Φυσιολογίας του Ανθρώπου

Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.

Η Μαρία Ιωαννίδου 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.

"Good Medicin Always Tastes Bitter"

"Good Medicin Always Tastes Bitter"

"Πικρό στο στόμα, Γλυκό στο σώμα"

"Πικρό στο στόμα, Γλυκό στο σώμα"

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Γεώργιο Παπανικολάου, για την επιλογή του να μου αναθέσει το συγκεκριμένο θέμα πτυχιακής εργασίας, την βοήθεια που μου παρείχε κατά την εκπόνηση, την εμπιστοσύνη και τις πολύτιμες συμβουλές του.

Τελειώνοντας τις σπουδές μου στο Χαροκόπειο , η πτυχιακή εργασία μου δίνει την ευκαιρία να ευχαριστήσω επίσης, όλους τους καθηγητές μου, καθώς με το υψηλό επίπεδο γνώσεων και την υποδειγματική συμπεριφορά διαμόρφωσαν ένα κλίμα άριστης συνεργασίας. Η φοίτησή μου αποτέλεσε μια ιδιαίτερα ευχάριστη και εποικοδομητική φάση ζωής.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περίληψη στα Ελληνικά	σελίδα 9
Περίληψη στα Αγγλικά	10
Κατάλογος Εικόνων	11
Κατάλογος Πινάκων	13
Κατάλογος Σχημάτων	13
Συντομογραφίες	14
Εισαγωγή	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	19
1.1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ	19
1.1.1 ΓΕΥΣΤΙΚΕΣ ΝΕΥΡΙΚΕΣ ΙΝΕΣ ΚΑΙ ΚΕΝΤΡΑ ΓΕΥΣΗΣ	19
1.1.2 ΓΕΥΣΤΙΚΟΙ ΚΑΛΥΚΕΣ	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: T2R RECEPTORS, ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ	24
2.1 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΓΕΥΣΗΣ	24
2.1.1 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ , T2Rs	25
2.1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ	26
2.2 GPCRs, G PROTEIN-COUPLED RECEPTORS ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΚΑΙ ΥΠΟΤΥΠΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ	26
2.3 ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΟΛΙΓΟΜΕΡΩΝ	29
2.4 ΣΧΕΣΗ ΔΟΜΗΣ – ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ	30
2.4.1 ΝΕΟΤΕΡΕΣ ΑΠΟΨΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ T2Rs	30
2.4.1.1 Ο ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ	30
2.4.4.2 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΝΕΡΟΥ	31
2.5 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΚΑΙ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ	32
2.6 ΙΣΤΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ	32
2.7 ΜΕΤΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΓΕΥΣΤΙΚΟΥ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΟΣ	33
2.7.1 ΘΕΩΡΙΕΣ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ ΤΗΣ ΓΕΥΣΤΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ	33
2.7.2 ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΟΔΟΣ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ	34
2.7.3 Ο ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΥΠΟΜΟΝΑΔΩΝ ΤΗΣ ΓΕΥΣΙΝΗΣ	36
2.7.4 ΑΛΛΕΣ ΟΔΟΙ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ	37
2.8 ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ TAS2Rs ΣΕ ΕΤΕΡΟΛΟΓΑ ΚΥΤΤΑΡΑ	37
2.9 ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΟΙ ΠΡΟΣΔΕΤΕΣ ΤΟΥΣ	38

2.9.1 ΑΓΩΝΙΣΤΕΣ	39
2.9.2 ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΕΣ	40
2.10 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ	42
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΞΩΣΤΟΜΑΤΙΚΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ	45
3.1 ΟΔΟΙ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ	46
3.2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΩΝ ΕΞΩΣΤΟΜΑΤΙΚΩΝ T2Rs	47
3.3 ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	48
3.3.1 ΑΝΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ	48
3.3.1.1 ΕΚΛΥΣΗ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΩΝ ΑΝΤΑΝΑΚΛΑΣΤΙΚΩΝ	48
3.3.1.2 ΧΡΟΝΙΑ ΠΑΡΑΡΡΙΝΟΚΟΛΠΙΤΙΔΑ ΚΑΙ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ T2Rs ΣΤΗ ΦΥΣΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ ΑΝΩΤΕΡΩΝ ΑΕΡΑΓΩΓΩΝ	49
3.3.1.3 ΝΕΥΡΟΓΕΝΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	52
3.3.2 ΚΑΤΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ	53
3.3.2.1 ΑΣΘΜΑ ΚΑΙ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ T2Rs ΣΤΑ ΛΕΙΑ ΜΥΪΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ	53
3.3.2.2 ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ T2Rs ΣΤΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	54
3.3.2.3 ΕΚΦΡΑΣΗ T2Rs ΣΤΑ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ	54
3.3.3 ΚΥΣΤΙΚΗ ΙΝΩΣΗ	55
3.4 ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	56
3.4.1 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΟΡΕΞΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΤΡΟΦΗΣ	58
3.4.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΙΣ ΛΕΙΕΣ ΜΥΪΚΕΣ ΙΝΕΣ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ	59
3.4.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΜΙΔΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ	60
3.4.4 ΥΠΕΡΕΚΦΡΑΣΗ T2R38 ΣΤΑ EECs ΣΤΟΝ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΟ ΤΟΥ ΟΡΘΟΥ ΣΕ ΥΠΕΡΒΑΡΑ –ΠΑΧΥΣΑΡΚΑ ΑΤΟΜΑ	61
3.4.5 ΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΜΥΝΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ	64
3.5 ΟΥΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	65
3.5.1 TAS2Rs : ΧΑΛΑΣΗ ΤΟΥ ΕΞΩΣΤΗΡΑ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ	65
3.5.2 TAS2Rs: ΕΚΦΡΑΣΗ ΣΤΑ ΝΕΦΡΙΚΑ ΣΩΛΗΝΑΡΙΑ	67
3.5.3 TAS2Rs: ΕΚΦΡΑΣΗ ΣΕ ΧΗΜΕΙΟΑΙΣΘΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΟΥΡΗΘΡΑΣ	67
3.6 ΔΕΡΜΑ	69
3.6.1 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ	69
3.6.2 ΕΚΦΡΑΣΗ TAS2R1 ΚΑΙ TAS2R38 ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΤΤΑΡΑ	70
3.6.3 ΑΝΟΣΟΥΡΥΘΜΙΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΑΓΩΝΙΣΤΩΝ ΤΩΝ T2Rs	71
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ	76

4.1 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΩΝ TAS2Rs ΩΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ	77
4.1.1 SNPs ΑΝΩΤΕΡΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ	77
4.1.2 SNPs ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ	78
4.1.3 SNPs ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΥ	78
4.1.4 ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ SNPs ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ	78
4.2 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ TAS2Rs ΣΕ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΚΑΙ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	79
4.2.1 ΚΑΤΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ	79
4.2.2 ΑΝΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ	80
4.2.3 ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ	80
4.2.4 ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ	80
4.2.5 ΚΑΡΚΙΝΟΣ	81
4.2.6 ΕΓΚΕΦΑΛΟΣ	81
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΑΤΕΝΙΖΟΝΤΑΣ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ Η ΑΝΘΗΣΗ ΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ	
ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ	82
5.1 ΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ Η ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ	82
5.1.1 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΣΑΝ ΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΩΝ T2RS	83
5.2 ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΤΟ ΑΝΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ	83
5.2.1 ΤΕΣΤ ΓΕΥΣΗΣ ΣΑΝ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ	83
5.3 ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΤΟ ΚΑΤΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ	84
5.3.1 ΕΙΣΠΝΕΟΜΕΝΑ ΒΡΟΓΧΟΔΙΑΣΤΑΛΤΙΚΑ	84
5.3.2 ΣΥΝΕΡΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΑΓΩΝΙΣΤΩΝ ΤΩΝ T2R ΚΑΙ ΤΩΝ B2 – ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΩΝ	
ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ	84
5.4 ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΤΟ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ	
ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ	85
5.5 ΕΡΕΥΝΕΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΔΙΑΒΗΤΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ	86
5.5 Η ΠΡΩΤΗ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΙΜΕΝΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΤΗΝ	
ΠΙΚΡΗ ΓΕΥΣΗ	86
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	88
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	89

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι υποδοχείς πικρής γεύσης, T2Rs ή TAS2Rs ανήκουν στην υπερικογένεια των GPCRs, G-protein-coupled receptors, χαρακτηριζόμενη δομικά για τις επτά διαμεμβρανικές έλικες. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών σημειώθηκε εξαιρετική πρόοδος στην κατανόηση του λειτουργικού ρόλου των T2Rs στον άνθρωπο και σε άλλα είδη, τόσο ως προς τη συμμετοχή τους στην αντίληψη της πικρής γεύσης όσο και ως προς τη σημασία της εξωστοματικής τους έκφρασης. Αθροιζόμενα δεδομένα αποδεικνύουν την έκφραση των T2Rs σε διάφορες ανατομικές περιοχές, σε ολόκληρο το ανθρώπινο σώμα, όπου, όπως διαφαίνεται ενέχονται σε μη γευστικούς φυσιολογικούς και παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς.

Σε αυτή την πτυχιακή εργασία συνοψίζονται οι γνώσεις, που αποκτήθηκαν πρόσφατα για τους T2Rs σχετικά με την ανατομία, τη φυσιολογία, την κανονική οδό μεταγωγής των γευστικών ερεθισμάτων και τις παραλλαγές αυτής στις εξωστοματικές εντοπίσεις, τους προσδέτες, αγωνιστές και αποκλειστές (ανταγωνιστές και αναστολείς), καθώς και η γενετική ποικιλότητα με τους εμφανιζόμενους πολυμορφισμούς.

Επίκεντρο της εργασίας αποτελούν οι εξωστοματικές εντοπίσεις σε κύτταρα και ιστούς. Ιδιαίτερα αναλύεται η έκφραση των T2Rs στο αναπνευστικό, ανώτερο και κατώτερο, στο γαστρεντερικό, στο ουροποιητικό σύστημα και στο δέρμα. Έμφαση δίνεται στις φυσιολογικές λειτουργίες που οι T2Rs επιτελούν και στην ως τώρα γνωστή επίδραση της έκφρασής τους στις προαναφερόμενες εντοπίσεις. Γίνεται καταγραφή των πολυμορφισμών ως παραγόντων κινδύνου νοσημάτων και η αναφαινόμενη συσχέτιση υποτύπων των T2Rs με παθολογικές καταστάσεις και νοσήματα. Οι μελλοντικές προοπτικές με βάση τις νέες έρευνες που ανακλύπουν, διαμορφώνουν ένα αναδυόμενο πεδίο εξαιρετικού ενδιαφέροντος. Οι T2Rs εμφανίζονται ως πρόκληση για τη φαρμακολογία και ως πολύτιμο εργαλείο για την ανάπτυξη τακτικών αντιμετώπισης παθολογικών καταστάσεων και νέων θεραπειών διαφόρων ασθενειών.

Λέξεις κλειδιά : T2Rs, έκφραση, προσδέτης, εξωστοματικός, παθοφυσιολογία.

ABSTRACT

Bitter taste receptors T2Rs or TAS2Rs belong to the superfamily of seven-transmembrane GPCRs, G-protein-coupled receptors. Over the past decades enormous progress has been made in identifying the expression of certain subtypes of T2Rs in humans, among other species, and in the elucidation of their functional role on taste perception. Accumulating evidence indicate that T2Rs are also expressed in various parts of the human anatomy, throughout the body, where, as it is shown, they are involved in non-tasting physiological and pathophysiological mechanisms.

This dissertation summarizes the recently acquired knowledge on the T2Rs anatomy and physiology, their canonical and non-canonical transduction pathways, their ligands, agonists and blockers (inverse agonists and antagonists), and their genetic variation and polymorphisms. It mainly focuses on the extraoral expression of T2Rs in different cells and tissues. Their diverse physical roles and their known effects on upper and lower respiratory system, gastrointestinal system, urinary system and on skin are especially analyzed.

The association of T2Rs polymorphisms with disease risk factors and the impact of T2Rs expression on the development of disorders and diseases are also presented.

The future prospects, based on oncoming research, consist in an emerging field of extreme interest. T2Rs appear as a major challenge for pharmacology and a valuable apparatus in the development of treatment tactics and new promising therapies.

Keywords: T2Rs, expression, ligands, extraoral, pathophysiology.

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικ.1	Γευστικές θηλές	σ.19
Εικ.2	Η νευρική οδός μεταγωγής του γευστικού ερεθίσματος	σ.20
Εικ.3	Γευστικός κάλυκας	σ.21
Εικ.4	Γευστικά κύτταρα	σ.23
Εικ.5	Υποδοχέας T2R	σ.24
Εικ.6	Υποδοχέας T2R. Διαμεμβρανικές έλικες	σ.30
Εικ.7	Θεωρίες αντίληψης γευστικών ποιοτήτων	σ.34
Εικ.8	Κανονική οδός μεταγωγής	σ.35
Εικ.9	Η βλεννογονική κάθαρση των αεραγωγών	σ.50
Εικ.10	Επιτάχυνση της βλεννογονικής κάθαρσης και έκκριση NO με τη μεσολάβηση του T2R38 στους αεραγωγούς	σ.51
Εικ.11	Μεσολάβηση των T2Rs των ανώτερων αεραγωγών στην έκκριση αντιμικροβιακών ουσιών	σ.52
Εικ.12	Οι λειτουργίες του γαστρεντερικού όπου ενέχονται T2Rs	σ.57
Εικ.13	Επιδερμίδα-στιβάδες	σ.70
Εικ.14	Επιδερμίδα-στιβάδες	σ.71
Εικ.15	Μαστοκύτταρο	σ.71
Εικ.16	Αποκκοκίωση μαστοκυττάρων	σ.72
Εικ.17	Ανοσορυθμιστική δράση της αμαρογεντίνης	σ.74

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίν. 1	Γονίδια υποδοχέων πικρής γεύσης TAS2Rs. Ονοματολογία κατά HGNC	σ. 28
Πίν. 2	Οι υποδοχείς πικρής γεύσης και οι προσδέτες τους	σ. 38
Πίν. 3	Χημική ποικιλομορφία μορίων με πικρή γεύση	σ. 39
Πίν. 4	Φάρμακα αγωνιστές των T2Rs	σ. 40
Πίν. 5	Αποκλειστές υποδοχέων πικρής γεύσης	σ. 41
Πίν. 6	Bitter taste maskers	σ. 41
Πίν. 7	Τύποι κυττάρων και οι εκφραζόμενοι T2Rs	σ. 45
Πίν. 8	Κυτταρικοί τύποι του αναπνευστικού που εκφράζουν T2Rs	σ. 48
Πίν. 9	Διαταραχές και νοσήματα σχετιζόμενα με τους T2Rs	σ. 76

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχ. 1	Εξελικτική συσχέτιση των TAS2Rs	σ. 26
Σχ. 2	Αριθμός προσδετών των T2R υποδοχέων	σ. 39
Σχ. 3	Επίδραση της κίνησης στη θερμιδική πρόσληψη και τη διάρκεια του γεύματος.....	σ. 60
Σχ. 4	Συσχετισμός ικανότητας γεύσης PTC και μείωσης της θερμιδικής πρόσληψης.....	σ. 61
Σχ. 5	Επίπεδα T2R38 mRNA στο βλεννογόνο του ορθού σε OW/OB και NW άτομα.....	σ. 62
Σχ. 6	Η πυκνότητα T2R38 σε ECCs κύτταρα σε OW/OB και NW άτομα.....	σ.63
Σχ. 7	Τα γονίδια TAS2R που εκφράζονται στον DSM του ανθρώπου.....	σ.65
Σχ. 8	Η χαλαρωτική επίδραση της χλωροκίνης σε ανθρώπινο DSM.....	σ.66
Σχ. 9	Σχετική έκφραση των μεταγράφων TAS2R γονιδίων στο δέρμα	σ.69
Σχ. 10	Φαινολικές ενώσεις.....	σ.83

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

TRCs	Taste receptor cells, Κύτταρα «υποδοχείς» γεύσης
GPCRs	G protein – coupled receptors, Υποδοχείς συνδεδεμένοι με Gπρωτεΐνη
Panx1	Panexin 1, Ημικανάλια χασματικών συνάψεων
T1Rs	Taste receptors type 1, Υποδοχείς γλυκιάς γεύσης
T2Rs	Taste receptors type 2, Υποδοχείς πικρής γεύσης
TAS2Rs	Γονίδια , που κωδικοποιούν T2Rs
HGNG	Hugo Gene Nomenclature Committee
TMs	Transmembrane, Διαμεμβρανικές έλικες
Gα	α- Gusducin, α υπομονάδα γευσίνης
Gβγ	βγ-Gusducin, βγ υπομονάδα γευσίνης
PLCB2	Phospholipase β2, Φωσφολιπάση β2
PIP ₂	Phosphatidylo Inositol 4,5 biphosphate, 4,5 διφωσφορική ινοσιτόλη
IP ₃	Inositol triphosphate, Τριφωσφορική ινοσιτόλη
IP ₃ R	IP ₃ receptor, Υποδοχέας IP ₃
DAG	Diacylglycerol, Διακυλογλυκερόλη
TRPM5	Transient receptor potential melastin-5
AHLs	Acyl-homoserine lactones, Λακτόνες ακυλομοσερίνης
SNPs	Single nucleotide polymorphisms, Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί
PTC	Phenylthiocarbamide, Φαινυλοθειοκαρβαμίδιο
PROP	Propyl thiuracil, Προπυλοθειουρακίλη
ECCs	Enteroendocrine cells, Εντεροενδοκρινικά κύτταρα
GLP-1	Glucagon-like peptide1
CCK	Cholecystokinin, Χολοκυστοκίνηνη
SCCs	Solitary chemosensory cells, Μονήρη χημειοαισθητικά κύτταρα
Ach	Acetylcholine, Ακετυλοχολίνη
CRS	Chronic rhino sinusitis , Χρόνια παραρρινοκολπίτιδα
ASL	Airways surface liquid, Υγρή επιφάνεια αεραγωγών
PLC	Pericilliary fluid layer, Υγρή στιβάδα που περιβάλλει τους κροσσούς
NO	Nitric oxide, Νιτρικό οξείδιο
NOS	Nitric oxide synthase, Συνθάση του NO
SP	Substance P, Ουσία P, Νευροκίνηνη
NK-1	Υποδοχείς νευροκίνηνης 1
ASM	Airways smooth muscle cells, Λεία μυϊκά κύτταρα των αεραγωγών
TNF-α	Tumor necrosis factor
MMP	Matrix metalloproteinases, Μεταλλοπρωτεϊνάσες θεμέλιας ουσίας
NGF	Nerve growth factor
CF	Cystic fibrosis, Κυστική ίνωση
GI	Gastrointestinal, Γαστρεντερικό σύστημα
PYY	YY Peptide
SREBR2	Sterol regulatory element binding protein 2
CgA	Chromogaphin A
RT-PCR	Real time PCR
IR cells	Immunoreactive cells, Ανοσοδραστικά κύτταρα
OW	Overweight, Υπέρβαρο άτομο
OB	Obese, Παχύσαρκο άτομο
NW	Normal weight, Άτομο φυσιολογικού βάρους
DSM	Detrusor smooth muscle, Εξωστήρας λείος μυς της ουροδόχου κύστης

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Μια θεμελιώδης ιδιότητα των οργανισμών, βασική για την επιβίωση τους, είναι η ικανότητα να αντιλαμβάνονται τις μεταβολές της ενέργειας του εξωτερικού ή του εσωτερικού περιβάλλοντός τους. Η αντίληψη τέτοιου είδους φαινομένων διαμορφώνεται μέσω της λειτουργίας ειδικών οργάνων αίσθησης και αισθητηριακών συστημάτων (Chandrashekar et al. 2006).

Ο άνθρωπος διαθέτει αισθητικά όργανα με υποδοχείς ικανούς να διεγερθούν από φυσικά ή χημικά ερεθίσματα και ανάλογα με την πηγή προέλευσης των ερεθισμάτων, αυτοί οι υποδοχείς διακρίνονται σε εξωδεκτικούς, ιδιοδεκτικούς και ενδοδεκτικούς. Η αντίληψη μιας αίσθησης αποτελεί την αναγνώριση της πηγής του ερεθίσματος, όταν δεδομένα προερχόμενα από ένα αισθητικό όργανο αναλύονται και συσχετίζονται με άλλες πληροφορίες που συλλέγονται ταυτόχρονα ή αποκτήθηκαν στο παρελθόν.

Η γεύση, “taste or gustation”, βιολογικά οριζόμενη, είναι η αίσθηση που διαμορφώνεται μέσω της λειτουργίας του ανατομικά και φυσιολογικά εξειδικευμένου γευστικού συστήματος (Bachmanov & Beauchamp 2007). Η αντίληψη της γεύσης είναι μια χημειοαισθητηριακή λειτουργία (Jaggupillia et al. 2016) και αποτελεί την έκβαση μιας πολύπλοκης ακολουθίας διεργασιών. Αρχικά η αισθητική διέγερση παραλαμβάνεται από χημειοϋποδοχείς στους γευστικούς κάλυκες. Στη συνέχεια το ερέθισμα μετατρέπεται σε νευρική ώση, η οποία μεταφέρεται και τελικά ερμηνεύεται στην εντοπισμένη γευστική περιοχή του εγκεφάλου (Chaudhari & Roper 2010). Η τροφή συνήθως διεγείρει ταυτόχρονα και άλλες αισθήσεις και δημιουργεί μη γευστικά αισθήματα, οσμής, αφής, θερμοαισθητικότητας, ερεθισμού και πόνου, μέσω άλλων συστημάτων, αυτών της όσφρησης και της αφής (Bachmanov & Beauchamp 2007).

Απλούστερα οριζόμενη, η γεύση είναι η ικανότητα που καθοδηγεί τους οργανισμούς στην αναγνώριση και κατανάλωση θρεπτικών συστατικών και στην αποφυγή τοξινών και άπεπτων ουσιών. Θεωρείται πιθανό πως εμπλέκεται και σε διαδικασίες επιλογής των κατάλληλων τροφίμων ανάλογα με τις ανάγκες του σώματος.

Για τον άνθρωπο αυτό σημαίνει την αναγνώριση και διάκριση γλυκιάς, ουμάμι, ξινή, αλμυρής και πικρής γεύσης, δηλαδή των πέντε «βασικών γεύσεων» ή «γευστικών ποιοτήτων», όπως διαφορετικά χαρακτηρίζονται (Chaudhari & Roper 2010). Η δυνατότητα διάκρισης πρόσθετων ποιοτήτων όπως του λιπαρού, του μεταλλικού, του νερού και η αλκαλική (η αντίθετη του όξινου) διερευνάται και κάποιες από αυτές ίσως αποδειχτούν επίσης ως βασικές γεύσεις.

Η ύπαρξη διακριτών γευστικών ποιοτήτων υποδηλώνει πως για κάθε μία ποιότητα υπάρχει ανάλογος μηχανισμός κωδικοποίησης, με εξειδικευμένους γευστικούς υποδοχείς (Bachmanon & Beauchamp 2007). Γενετικές διαφορές στους γευστικούς υποδοχείς μπορεί να επιδρούν στην επιλογή της τροφής και τις διατροφικές προτιμήσεις και γενικότερα στη διατροφή και στην υγεία.

Κάθε γευστική ποιότητα αντιπροσωπεύει διατροφικές ή φυσιολογικές απαιτήσεις του οργανισμού ή εντοπίζει διατροφικούς κινδύνους.

Αναλυτικότερα, η γλυκιά γεύση σηματοδοτεί την παρουσία υδατανθράκων στα τρόφιμα, που χρησιμεύουν ως άμεση πηγή ενέργειας.

Η αλμυρή γεύση κατευθύνει την πρόσληψη νατρίου και άλλων αλάτων, σημαντικών για την ομοιοστασία του νερού στο σώμα και την ομαλή λειτουργία της κυκλοφορίας του αίματος.

Εικάζεται πως η γεύση ουμάμι, που είναι η γεύση του L-γλουταμινικού και μερικών ακόμα L-αμινοξέων, αντανάκλα το πρωτεϊνικό περιεχόμενο των τροφών. Τα συγκεκριμένα αμινοξέα και τα στενά συνδεδεμένα με αυτά μονοφωσφορικά νουκλεοτίδια παράγονται φυσικά με υδρόλυση κατά την ωρίμανση ή την συντήρηση των τροφίμων.

Η πικρή γεύση είναι εγγενώς απεχθής και θεωρείται ότι προστατεύει από την κατανάλωση δηλητηρίων, πολλά από τα οποία για τον άνθρωπο είναι πικρά .

Η ξινή γεύση σηματοδοτεί την παρουσία οξέων. Καθώς είναι γενικά ανεπιθύμητη, συμβάλλει στην αποφυγή πρόσληψης περίσσειας οξέων και επιβάρυνσης του μηχανισμού διατήρησης της οξεοβασικής ισορροπίας. Επίσης, πολλά αλλοιωμένα τρόφιμα είναι συχνά όξινα και αποφεύγεται η κατανάλωσή τους μέσω της ξινής γεύσης.

Αξιοσημείωτο είναι πως οι άνθρωποι μαθαίνουν να ανέχονται και ίσως να αναζητούν συγκεκριμένες πικρές και ξινές ουσίες, όπως η καφεΐνη και το κιτρικό οξύ των γλυκόξινων εσπεριδοειδών, υπερνικώντας την εγγενή αποστροφή.

Μια ιδιαίτερα σημαντική δυνατότητα της γεύσης, ελάχιστα αναγνωρισμένη, είναι ότι μπορεί να εξυπηρετεί πρόσθετες λειτουργίες εκτός από την καθοδήγηση της διατροφικής επιλογής. Η διέγερση των γευστικών καλύκων αποτελεί έναυσμα φυσιολογικών αντανάκλαστικών. Αντανάκλαστικά τόξα στο στέλεχος του εγκεφάλου, ενεργοποιούνται από τα γευστικά ερεθίσματα και ρυθμίζουν τις κινήσεις της γλώσσας και της γνάθου, προκαλώντας την κατάποση βρώσιμων ή την αποβολή αλλοιωμένων τροφών (Meyerhof et al. 2011). Με ανάλογο τρόπο κάποια άλλα αντανάκλαστικά προετοιμάζουν το έντερο για απορρόφηση, όπως με την απελευθέρωση πεπτικών ενζύμων, την έναρξη γαστρικού περισταλτισμού ή την αύξηση της μεσεντερικής κυκλοφορίας. Ανάλογη μεταβολική προσαρμογή παρουσιάζουν και άλλοι ιστοί

και όργανα, με αποτέλεσμα την έκκριση ινσουλίνης, τη συμπαθητική διέγερση του φαιού λιπώδη ιστού, την αύξηση του καρδιακού ρυθμού. Συνοπτικά όλα αυτά τα αντανakλαστικά που συμβάλλουν στην αναγνώριση της τροφής μέσω κινητοποίησης της όρασης, της γεύσης και της όσφρησης, απαρτίζουν την κεφαλική φάση απόκρισης του οργανισμού κατά την διαδικασία πρόσληψης της τροφής (Chaudhari & Roper 2010).

Είναι σύνηθες η γεύση να εμπλέκεται με το άρωμα των ουσιών που φέρονται στη στοματική κοιλότητα και να συγγέεται με την αίσθηση της όσφρησης. Η διάκριση ανάμεσά τους είναι σαφής καθώς οι δυο αισθήσεις διαθέτουν διαφορετικά αισθητηριακά όργανα με εξειδικευμένους υποδοχείς και διακριτές νευρικές ίνες μεταγωγής των ερεθισμάτων. Σημαντικές διαφορές υπάρχουν και στη φύση των ουσιών που δυνητικά διεγείρουν τους αντίστοιχους υποδοχείς.

Τα γευστικά σήματα γεννώνται στα εξειδικευμένα όργανα που φέρουν γευστικές αισθητηριακές απολήξεις, τους γευστικούς κάλυκες, εντός της στοματικής κοιλότητας. Γευστικά ερεθίσματα αποτελούν υδατοδιαλυτές ενώσεις, που έρχονται σε επαφή με τις αιχμές της κορυφαίας επιφάνειας των επιθηλιακών κυττάρων των καλύκων.

Όσφρητικά σήματα δημιουργούνται από νευρώνες σε εξειδικευμένο τμήμα του ρινικού επιθηλίου και πυροδοτούνται από πτητικές ενώσεις.

Ωστόσο, αν και τα περιφερικά αισθητηριακά όργανα για τη γεύση και την όσφρηση είναι διακριτά, τα νευρικά σήματα που διαμορφώνονται από αυτά, ενοποιούνται εισερχόμενα στον εγκεφαλικό φλοιό κατά την αναγνώριση της τροφής και την αντίληψη γεύσης, γεγονός που ερμηνεύει την επικάλυψη των αισθημάτων.

Επιπρόσθετα, η γεύση συγγέεται και με σωματοαισθητηριακά αισθήματα όπως η δροσιά της μενθόλης ή η θερμότητα της πιπεριάς chili. Η διαφορά μεταξύ των αισθήσεων εντοπίζεται και πάλι στο είδος των ερεθισμάτων και τις νευρικές οδούς μεταγωγής του ερεθίσματος.

Η γεύση κινητοποιείται από χημικά ερεθίσματα που διεγείρουν τους στοματικούς γευστικούς κάλυκες ενώ η καψαϊκίνη, η δραστική ουσία των chilies και η μενθόλη ενεργοποιούν ιοντικά κανάλια σε σωματοαισθητικές νευρικές ίνες.

Έχουν περιγραφεί και άλλα σωματοαισθητικά δεδομένα όπως η υφή της τροφής, καθώς και οπτικά στοιχεία όπως το χρώμα ικανά να επηρεάσουν την αντίληψη της γεύσης.

Ενδιαφέρον εμφανίζει η γεύση του λιπαρού, που σαν αίσθηση εντοπίζεται σε μια ενδιάμεση περιοχή μεταξύ αφής και γεύσης. Η αναγνώρισή του λίπους βασίζεται στην σωματοαισθητική αντίληψη της ιδιαίτερης υφής του, αλλά ταυτόχρονα τα ελεύθερα λιπαρά οξέα αποτελούν γευστικά ερεθίσματα για ειδικούς υποδοχείς στα κύτταρα των καλύκων (Chaudhari & Roper 2010).

Η ευαισθησία της γεύσης παρουσιάζει μεγάλο εύρος μεταξύ των ατόμων, επηρεάζει έντονα την προτίμηση προς κάποια τρόφιμα και επομένως καθορίζει έμμεσα την κατάσταση θρέψης και την υγεία.

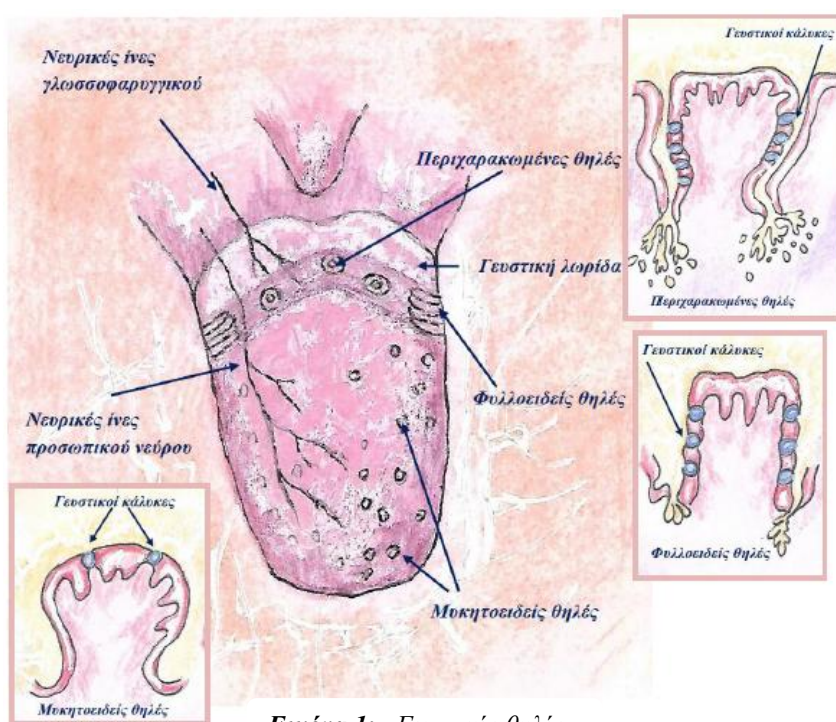
Δεδομένο είναι και το διαφορετικό επίπεδο αποδοχής των ίδιων ουσιών από διαφορετικά άτομα. Αυτή η ποικιλομορφία απόκρισης σε γευστικά ερεθίσματα, είναι πολυπαραγοντική. Στη διαμόρφωσή της συμμετέχουν παράγοντες κοινωνικοί και πολιτισμικοί καθώς και ένα αποδεδειγμένα ισχυρό γενετικό υπόβαθρο (Sollai et al. 2017) .

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

1.1 ANATOMIA ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Το αισθητήριο της γεύσης στα θηλαστικά περιλαμβάνει εξειδικευμένα κύτταρα που λειτουργούν ως υποδοχείς, τα TRCs, Taste Receptor Cells, οργανωμένα σε γευστικούς κάλυκες, που βρίσκονται στις γευστικές θηλές. Οι περισσότερες θηλές εντοπίζονται στη γλώσσα και διακρίνονται σε τρία είδη : μυκητοειδείς, φυλλοειδείς και περιχαρακωμένες (Εικόνα 1).

Θηλές εντοπίζονται επίσης σε άλλες ανατομικές περιοχές: υπερώα, ρινοφάρυγγα, λάρυγγα, επιγλωττίδα και ανώτερο οισοφάγο (Bachmanov & Beauchamp 2007).



Εικόνα 1: Γευστικές θηλές

Κορυφαίες μικρολάχνες των TRCs εκτεθειμένες στην στοματική κοιλότητα δέχονται γευστικά ερεθίσματα, προερχόμενα συνήθως από υδατοδιαλυτές χημικές ουσίες. Οι μικρολάχνες σχηματίζουν τον «γευστικό πόρο», μέσα στον οποίο εισέρχονται τα γευσσιγόνα διαλυμένα στο σάλιο (Chandrashekar et al. 2006).

1.1.1 ΓΕΥΣΤΙΚΕΣ ΝΕΥΡΙΚΕΣ ΙΝΕΣ ΚΑΙ ΚΕΝΤΡΑ ΓΕΥΣΗΣ

Αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης ερεθίσματος (γευσιγόνου) και υποδοχέων στα TRCs είναι η γένεση νευρικών σημάτων, που μεταδίδονται προς τον εγκέφαλο μέσω ινών τριών κρανιακών νεύρων, του προσωπικού VII και ειδικότερα του κλάδου της αισθητικής μοίρας του, του διάμεσου νεύρου, του γλωσσοφαρυγγικού IX και του πνευμονογαστρικού X.

Ίνες από κλάδο του διάμεσου (VII), της χορδής του τυμπάνου, φέρονται στο πρόσθιο τμήμα της γλώσσας, όπου εντοπίζονται μυκητοειδείς θηλές και πιθανά στο πρόσθιο μέρος των περιχαρακωμένων θηλών.

Άλλος κλάδος του VII, το μεγάλο επιπολής λιθοειδές νεύρο, στέλνει ίνες στην μαλακή υπερώα.

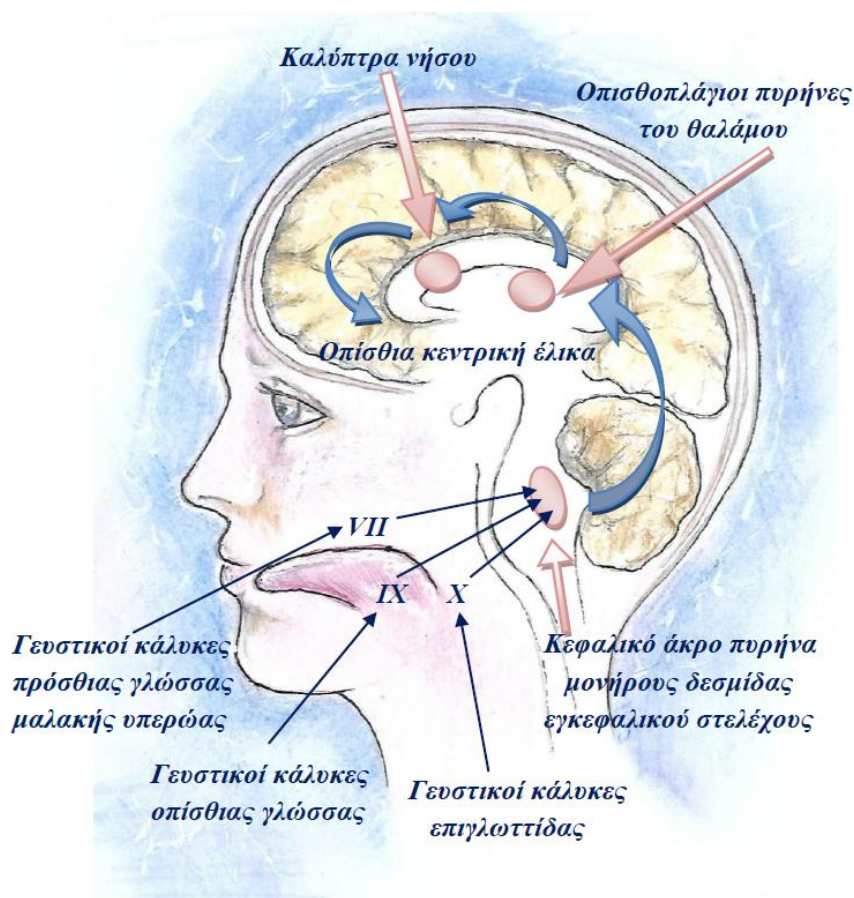
Άξονες του γλωσσοφαρυγγικού νευρώνουν τις περιχαρακωμένες και φυλλοειδείς θηλές, και πιθανά κάλυκες στο φάρυγγα. Άξονες του πνευμονογαστρικού νευρώνουν κάλυκες σε επιγλωττίδα, λάρυγγα, ανώτερο οισοφάγο (Bachmanov & Beauchamp 2007).

Αυτοί οι προγαγγλιακοί νευρώνες μεταφέρουν τα προσαγωγά γευστικά μηνύματα στον γευστικό πυρήνα του εγκεφαλικού στελέχους, στο κεφαλικό άκρο του πυρήνα της μονήρους δεσμίδας. Οι νευράξονες αυτοί από το γευστικό πυρήνα διασταυρώνονται στη μέση γραμμή και φέρονται παράλληλα προς τα άνω με τον έσω λημνίσκο, σταματούν στην ομάδα των οπίσθιων πλάγιων κοιλιακών πυρήνων του θαλάμου και μετά με θαλαμοφλοιώδεις ίνες φτάνουν στο φλοιώδες γευστικό κέντρο (Εικόνα 2).

Η φλοιώδης περιοχή της γεύσης εντοπίζεται στο κάτω άκρο της οπίσθιας κεντρικής έλικας, στο άνω τοίχωμα της πλάγιας σχισμής και στην παρακείμενη περιοχή της νήσου. Βρίσκεται κοντά στη λεγόμενη δευτερεύουσα σωματοαισθητική περιοχή (μια μικρή εστία, στο κάτω άκρο της οπίσθιας κεντρικής έλικας) και με αυτό τον τρόπο η γεύση τοποθετείται σε άμεση γειτονία με τον σωματοαισθητικό φλοιό που αφορά στη γλώσσα και στον φάρυγγα (Βλάχος 1985).

Η μεγάλη έκταση που καταλαμβάνουν οι σχετιζόμενες με τη γεύση περιοχές στον εγκέφαλό εξυπηρετούν τη συγκέντρωση και

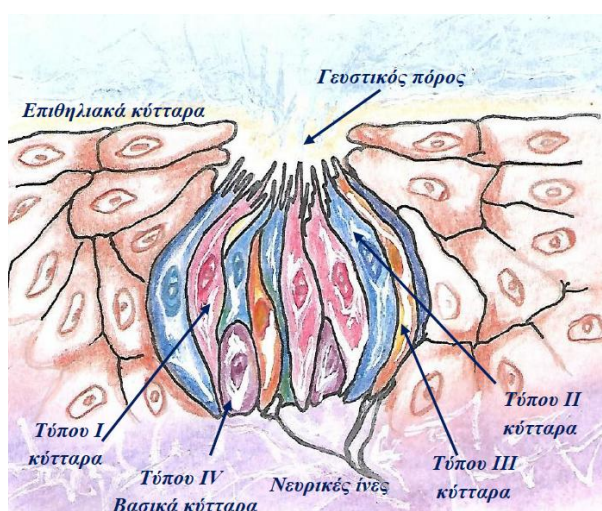
συνένωση γευστικών ερεθισμάτων με ιδιοδεκτικά σπλαχνικά ερεθίσματα, πείνας, κορεσμού και εξωδεκτικά αισθητικά ερεθίσματα, όρασης, οσμής, σωματοαισθητικά, ώστε τελικά να προκύψουν αντιδράσεις-συμπεριφορές σε γευστικά ερεθίσματα.



Εικόνα 2 : Η νευρική οδός μεταγωγής του γευστικού ερεθίσματος. Το ερέθισμα από τους γευστικούς κάλυκες μεταφέρεται με προσαγωγές ίνες των VII, IX, X στον πυρήνα της μονήρους δεσμίδας του στελέχους, στους οπίσθιους κοιλιακούς πυρήνες του θαλάμου και καταλήγει στην οπίσθια κεντρική έλικα κοντά στην καλύπτρα της νήσου.

Οι κεντρικές εγκεφαλικές διεργασίες τελικά οδηγούν σε αντίληψη αρκετών διαφορετικών γευστικών ιδιοτήτων : ποιότητα, ένταση, απόδοση ικανοποίησης (ευχαρίστηση ή δυσαρέσκεια), εντοπισμός, διάρκεια (Bachmanov & Beauchamp 2007).

1.1.2 ΓΕΥΣΤΙΚΟΙ ΚΑΛΥΚΕΣ



Εικόνα 3 : Γευστικός κάλυκας

Οι γευστικοί κάλυκες αποτελούν αθροίσματα περίπου 100 πολωμένων νευροεπιθηλιακών κυττάρων που σχηματίζουν συμπαγή, ψευδοπολύστοιβα «νησίδια», βυθισμένα στο πολύστοιβο επιθήλιο της στοματικής κοιλότητας. Στους ανθρώπους υπάρχουν περίπου 5000 γευστικοί κάλυκες στην άνω επιφάνεια της γλώσσας, στην μαλακή υπερώα και την επιγλωττίδα

(Chaudhari & Roper 2010).

Οι περιχαρακωμένες και οι φυλλοειδείς θηλές φέρουν εκατοντάδες κάλυκες στις πλάγιες επιφάνειές τους. Οι μυκητοειδείς θηλές φέρουν μικρό αριθμό (3-5 κάλυκες) στην άνω επιφάνειά τους (Gilbertson et al. 2000).

Αν και εντοπίζονται κάποιες μικρές διακυμάνσεις στην ευαισθησία σε διαφορετικές ουσίες, στις διάφορες περιοχές της επιφάνειας της γλώσσας, η θεωρία του «γλωσσικού χάρτη», κατά την οποία ορίζονται διακριτές ζώνες για γλυκό, πικρό, αλμυρό και ξινό είναι ισχυρά αμφισβητούμενη (Chaudhari & Roper 2010).

Οι ώριμοι κάλυκες προκύπτουν από το επιτόπιο επιθήλιο. Τα επιμήκη κύτταρα των γευστικών καλύκων είναι ώριμα διαφοροποιημένα κύτταρα, ενώ ανανεώνονται διαρκώς. Οι αιχμές της κορυφής αυτών των κυττάρων επικοινωνούν με το εξωτερικό περιβάλλον της στοματικής κοιλότητας επομένως βρίσκονται σε επαφή με ευρείες διακυμάνσεις τονικότητας ή οσμωτικότητας και ανιχνεύουν την παρουσία πιθανώς επιβλαβών ουσιών. Οι κάλυκες περιέχουν κύτταρα που περιγράφονται ως Τύπου I, II, και III, καθώς και βασικά αδιαφοροποίητα μη πολωμένα κύτταρα, αναφερόμενα και ως Τύπου IV. Αυτοί οι διαφορετικοί μορφολογικά τύποι κυττάρων αντιπροσωπεύουν και διακριτές λειτουργικές κλάσεις (Chaudhari & Roper 2010).

Τα Τύπου I είναι τα πιο κοινά στους κάλυκες με εκτεταμένες κυττοπλασματικές προσεκβολές που περιβάλλουν άλλα κύτταρα. Εκφράζουν GLAST, έναν μεταφορέα του γλουταμινικού, άρα ενέχονται στην πρόσληψή του. Επίσης εκφράζουν NTPDase2, μια νουκλεοτιδάση συνδεδεμένη με την πλασματική μεμβράνη, που υδρολύει εξωκυττάριο ATP. Το ATP λειτουργεί σαν νευροδιαβιβαστής στους κάλυκες, ενώ και το γλουταμινικό αποτελεί πιθανό νευροδιαβιβαστή.

Φαίνεται πως ενέχονται στον τερματισμό της συναπτικής μετάδοσης και τον περιορισμό της διάχυσης νευροδιαβιβαστών, διαδραματίζοντας ρόλο ανάλογο με τα νευρογλοιακά κύτταρα. Εκφράζουν ακόμα ROMK, ένα κανάλι καλίου, μετέχοντας προφανώς στην ομοιόσταση του K^+ , εντός του κάλυκα (Chaudhari & Roper 2010).

Στην κυτταρική μεμβράνη των Τύπου II κυττάρων ή κύτταρα «υποδοχείς», βρίσκονται βυθισμένοι υποδοχείς πρόσδεσης γλυκών, πικρών και ουμάμι, ουσιών. Πρόκειται για GPCR, G protein-coupled receptors, δηλαδή για υποδοχείς που είναι συνδεδεμένοι με G πρωτεΐνη και χαρακτηρίζονται από επτά διαμεμβρανικά τμήματα. Επιπρόσθετα, εκφράζουν κανάλια νατρίου-καλίου σημαντικά για παραγωγή δυναμικού ενέργειας.

Τα κύτταρα Τύπου II εκφράζουν GPCRs ειδικές για μια μόνο γευστική ποιότητα, επομένως ένα δεδομένο κύτταρο υποδοχέας ανταποκρίνεται μόνο σε διέγερση από προσδέτες ικανούς να ενεργοποιήσουν το συγκεκριμένο κύτταρο. Γίνεται αντιληπτό ότι τα Τύπου II κύτταρα είναι «συντονισμένα» στη γλυκιά, πικρή ή ουμάμι γεύση.

Τα κύτταρα υποδοχείς δεν δημιουργούν εμφανείς συνάψεις, όμως προσαγωγές αισθητικές νευρικές ίνες, προφανώς γευστικές, βρίσκονται κοντά σε αυτά. Συμπεραίνεται πως τα σήματα μεταδίδονται από τα κύτταρα υποδοχείς προς προσαγωγούς αισθητικούς νευρώνες ή προς άλλα κύτταρα εντός του κάλυκα, μέσω μη συμβατικών φυσιολογικών μηχανισμών, όπως μέσω συναπτικών κυστιδίων.

Τα κύτταρα Τύπου III ή προσυναπτικά εκφράζουν πρωτεΐνες σχετιζόμενες με συνάψεις και σχηματίζουν συναπτικές συνδέσεις με νευρικές απολήξεις. Εκφράζουν γονίδια παρόμοια με αυτά των νευρώνων όπως NCAM, ένα μόριο επιφανειακής κυτταρικής προσκόλλησης, ένζυμα για τη σύνθεση τουλάχιστο δύο νευροδιαβιβαστών, και κανάλια ασβεστίου τυπικά για την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, γι' αυτό και καλούνται «προσυναπτικά».

Αντιδρούν σε ξινά γευσιγόνα και ανθρακικά διαλύματα.

Σημαίνουν χαρακτηριστικό τους αποτελεί η υποδοχή σημάτων που έχουν παραχθεί στα κύτταρα υποδοχείς. Σε αντίθεση με τα Τύπου II, δεν σχετίζονται με συγκεκριμένη γευστική ποιότητα αλλά έχουν την ικανότητα να αντιδρούν ευρέως σε ενώσεις όλων των γευστικών ποιοτήτων (Chaudhari & Roper 2010).

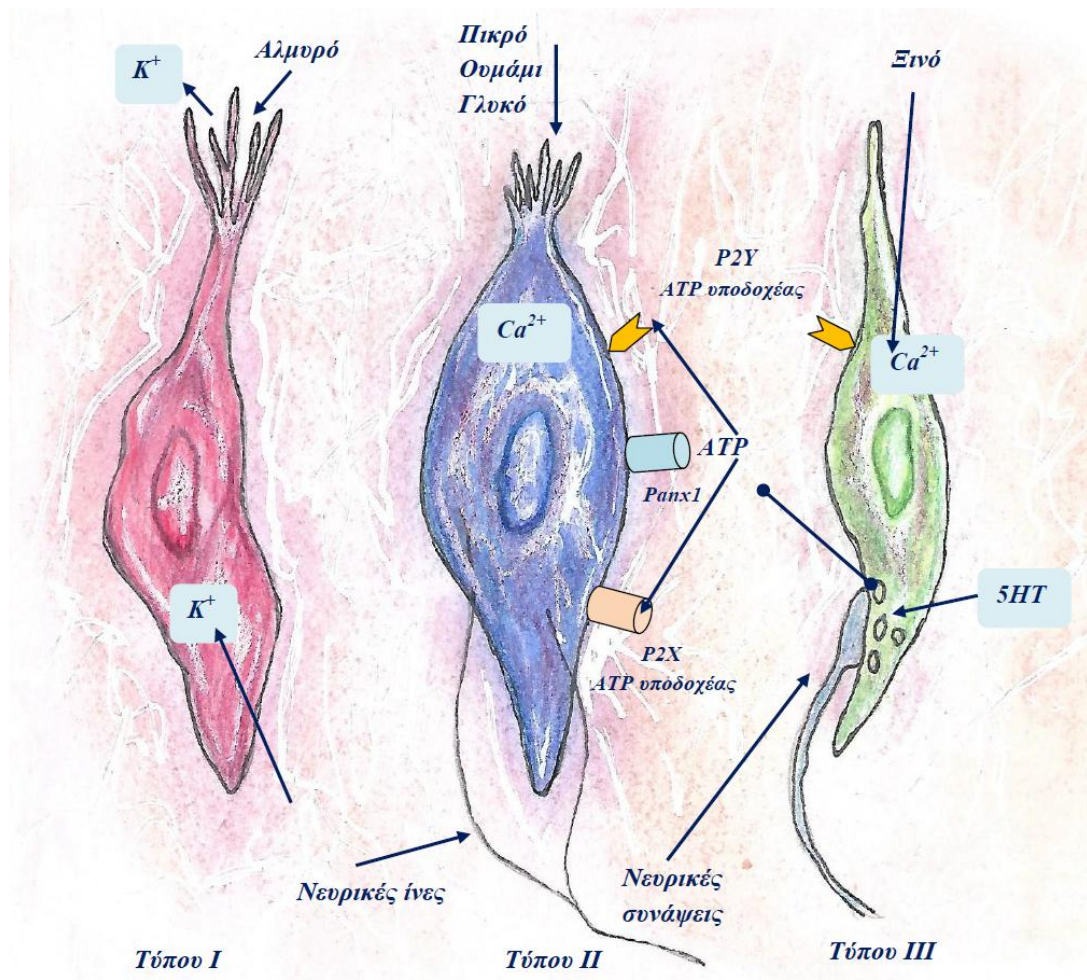
Τα βασικά κύτταρα είναι σφαιρικά ή ωοειδή κύτταρα τα οποία δεν φτάνουν στο γευστικό πόρο. Πιθανότατα είναι αδιαφοροποίητα ανώριμα γευστικά κύτταρα. Ο ακριβής ρόλος τους δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί.

Στα ενήλικα άτομα, κάθε γευστικός κάλυκας νευρώνεται από 3-14 αισθητικούς προγαγγλιακούς νευρώνες, ανάλογα με το είδος του θηλαστικού και την θέση του στη στοματική κοιλότητα. Οι γευστικές νευρικές ίνες διαπλέκονται με ένα πλούσιο δίκτυο άλλων νευρικών ινών κάτω από το γευστικό επιθήλιο. Αυτές οι ίνες μεταφέρουν σωματοαισθητικά

ερεθίσματα όπως πόνου, υψής, θερμικά και δεν μπορούν εύκολα να διακριθούν από τις γευστικές. Οι νευράξονες των γευστικών νευρώνων διακλαδίζονται και διαπερνούν τη βασική μεμβράνη για να εισέλθουν στον γευστικό κάλυκα.

Αν και κάποιες ίνες καταλήγουν σε συναπτικές δομές στα κύτταρα Τύπου III, άλλες έρχονται σε στενή επαφή με τα γευστικά κύτταρα, χωρίς όμως να σχηματίζουν ειδικές συνάψεις.

Όταν ένα γευστικό ερέθισμα ενεργοποιεί τον γευστικό κάλυκα προκαλούνται συναπτικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα γευστικά κύτταρα Τύπου I, II, III, και γεννώνται σήματα προς τα εμπρός (feed forward) ή παλίνδρομης ρύθμισης (feedback).



Εικόνα 4 : Γευστικά κύτταρα Τύπου I, II, III

Τα Τύπου I κύτταρα πιθανότατα μετέχουν στη μεταγωγή αλμυρών ερεθισμάτων. Εξωκυτταρόνουν το K^+ , μέσω καναλιών της κορυφαίας επιφάνειας.

Τα Τύπου II κύτταρα, είναι τα κύτταρα «υποδοχείς». Διεγείρονται από πικρά, ουμάμι και γλυκά γευσιγόνα και παράγουν ATP μέσω ημικαναλιών Panx1. Το ATP διεγείρει υποδοχείς P2X-P2Y.

Τα Τύπου III κύτταρα είναι προσυναπτικά κύτταρα. Εκκρίνουν σεροτονίνη, που αναστέλλει τα κύτταρα Τύπου II.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: T2R RECEPTORS, ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ

2.1 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΓΕΥΣΗΣ

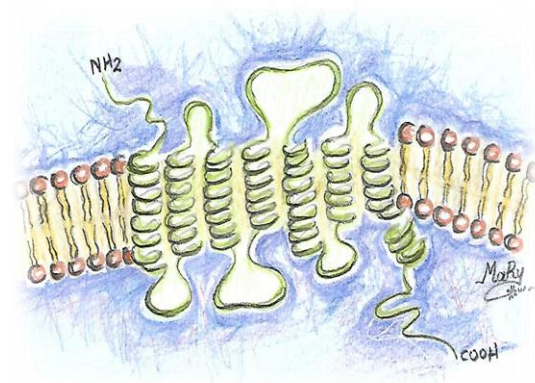
Η αντίληψη γεύσης αποτελεί την κατάληξη μιας αλληλουχίας διεργασιών. Το γευστικό ερέθισμα (taste stimuli), μεταφέρεται μέσω ενός προσδέτη (ligand) και αλληλεπιδρά με κατάλληλο γευστικό υποδοχέα (taste receptor), προκαλώντας την παραγωγή μιας προσαγωγού νευρικής ώσης. Αυτό μεταφέρεται στον εγκέφαλο και δημιουργεί την αίσθηση της αντίστοιχης γεύσης. Η παρουσία ειδικών υποδοχέων είναι αναγκαία καθώς οι προσδέτες δεν διαπερνούν τις κυτταρικές μεμβράνες εύκολα (Bachmanov & Beauchamp 2007).

Για να χαρακτηριστεί ένα μόριο ως υποδοχέας γεύσης πρέπει να πληρούνται κριτήρια όπως:

- Η μοριακή του ταυτότητα να είναι διευκρινισμένη.
- Η έκφρασή του στα TRCs να έχει επιβεβαιωθεί.
- Να υπάρχουν ειδικοί προσδέτες για αυτό.
- Να αποδεικνύονται μεταβολές στη λειτουργία της γεύσης ως αποτέλεσμα αλλαγών στους υποδοχείς (Bachmanov & Beauchamp 2007).

Οι υποδοχείς γεύσης είναι χημειούποδοχείς και βρίσκονται ενσωματωμένοι στις κυτταρικές μεμβράνες των TRCs. Κάθε γευστική ποιότητα διαθέτει διαφορετικό μηχανισμό κωδικοποίησης που διευθετείται μέσω εξειδικευμένων γευστικών υποδοχέων (Bachmanov & Beauchamp 2007). Η πρόσληψη των γεύσεων του πικρού, γλυκού, ουμάμι πραγματοποιείται κυρίως μέσω πρωτεϊνικών υποδοχέων, που ανήκουν στις οικογένειες των T1R και T2R. Υπάρχουν κάποιες πικρές και γλυκές ουσίες με δυνατότητα διόδου της κυτταρικής μεμβράνης. Αυτές αλληλεπιδρούν με ενδοκυττάρια συστατικά και ενεργοποιούν τα TRCs.

2.1.1 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ, T2Rs



Εικόνα 5 : Υποδοχέας T2R

Η ανακάλυψη των υποδοχέων πικρής γεύσης έγινε από δυο ομάδες ερευνητών ανεξάρτητα, με χαρτογράφηση των γενετικών τόπων που σχετίζονται με την αντίδραση στο πικρό, σε γονιδίωμα ανθρώπου και ποντικίου, οι οποίες ανέδειξαν την νεοφανή πολυγονιδιακή οικογένεια T2Rs ή TRBs (Gilbertson et al. 2000). Οι υποδοχείς

αυτοί ανήκουν στην υπερικογένεια των GPCRs, G Protein-Coupled Receptors, πρωτεΐνες με δομικό χαρακτηριστικό τις επτά διαμεμβρανικές έλικες (Bachmanov & Beauchamp 2007).

Οι GPCRs θεωρούνται η σημαντικότερη τάξη μεμβρανικών υποδοχέων στα ευκαρυωτικά κύτταρα. Ουσιαστικά αποτελούν κυτταρικές «νανομηχανές», που λειτουργούν ως αποδέκτες ερεθισμάτων και μεσολαβητές ποικίλων κυτταρικών αντιδράσεων (Pydi et al. 2016). Σύμφωνα με την GPCRDB, G-Protein Coupled Receptor Database, διακρίνονται σε πέντε βασικές κλάσεις: A,B,C,D,E. Στην Class A περιλαμβάνονται σημαντικοί υποδοχείς αμινών, όπως οι μουσκαρινικοί υποδοχείς ακετυλοχολίνης, οι υποδοχείς αδρεναλίνης και ντοπαμίνης, υποδοχείς πεπτιδίων, ορμονών και η ροδοψίνη.

2.1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Είναι γεγονός πως οι υποδοχείς γεύσης κέντρισαν το ενδιαφέρον των ερευνητών αρκετά χρόνια πριν και η απότοκος γνώση σχετικά με αυτούς έχει αυξηθεί εξαιρετικά την τελευταία δεκαετία (Devillier et al. 2015).

Οι Mc Laughlin et al. το 1992 ανακάλυψαν ότι η γευσίνη είναι μια G - πρωτεΐνη, που συνδέεται με γευστικούς υποδοχείς στα γευστικά κύτταρα στη γλώσσα. Το 1996 από τους Höfer et al., ανιχνεύτηκε γευσίνη στο έντερο ισχυροποιώντας την θεωρία ότι κύτταρα εκτός της στοματικής κοιλότητας χρησιμοποιούν υποδοχείς γεύσης σαν χημειοαισθητήρες (Lu et al. 2017). Λίγο αργότερα, το 1997 ήρθε η επιβεβαίωση της ύπαρξης μιας οικογένειας υποδοχέων πικρής γεύσης από τον γενετιστή I. Lush.

Τα υπεύθυνα γονίδια, τα TASR2, ανακαλύφθηκαν το 2000, από δύο ομάδες ερευνητών, οι οποίοι πραγματοποίησαν αναλύσεις γονιδιωματικών αλληλουχιών σε γονιδιακές περιοχές που σχετίζονται με την αντίληψη της πικρής γεύσης σε ανθρώπους και ποντίκια.

Ειδικότερα οι Adler et al. (2000), μελέτησαν μια περιοχή του χρωμοσώματος 5 συνδεδεμένη με την αίσθηση πικρής γεύσης της ουσίας 6-n-propyl-2-thiuracil (PROP) και ανακάλυψαν το γονίδιο για μια νέα GPCR, το TAS2R1. Ανάλογες μελέτες γονιδιακού DNA αποκάλυψαν σχετιζόμενα γονίδια στα χρωμοσώματα 7 και 12.

Οι Wu et al. το 2002 εντόπισαν T2Rs στο εντερικό επιθήλιο και οι Finger et al. το 2003 στο επιθήλιο της ρινικής κοιλότητας (Lu et al. 2017).

2.2 GPCRs, G PROTEIN-COUPLED RECEPTORS

ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΚΑΙ ΥΠΟΤΥΠΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ

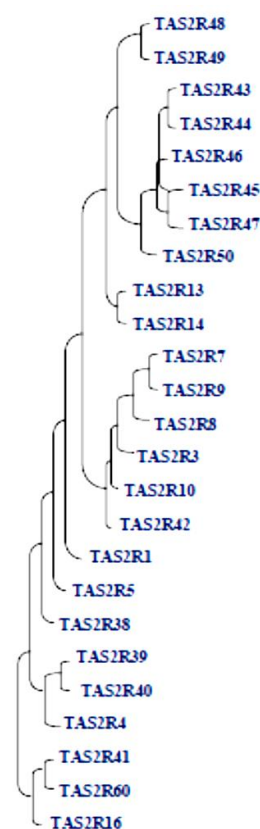
Κατά τις συστάσεις για την ονοματολογία των γονιδίων και των πρωτεϊνών κατά HUGO Gene nomenclature Committee, HGNC, τα σύμβολα για τους υποδοχείς τύπου 1 και 2 είναι T1R και T2R. Τα γλυκά και ουμάμι γευσιγόνα παραλαμβάνονται από μονομερείς ή ετεροδιμερείς υποδοχείς T1R2/T1R3, T1R1/T1R3 (Devillier et al. 2015). Το πρότυπο έκφρασης των T2R/TRB μελετήθηκε σε ποντίκι και αρουραίο: 15-20% των TRCs είναι T2R/TRB θετικά, σε όλους τους κάλυκες των περιχαρακωμένων και φυλλοειδών θηλών, τη γευστική λωρίδα και την επιγλωττίδα. Αντίθετα λιγότερο από 10% των μυκητοειδών θηλών περιέχουν T2R/TRB θετικά TRCs.

Οι T2R/TRB υποδοχείς εκφράζονται μόνο σε TRCs θετικά για γευσίνη (Gustducin). Τα 2/3 των TRCs θετικών για γευσίνη στις περιχαρακωμένες και φυλλοειδείς θηλές και στην υπερώα είναι και T2R/TRB θετικά. Στις μυκητοειδείς θηλές τα περισσότερα TRCs είναι T2R/TRB αρνητικά, υπονοώντας ότι σε αυτές ίσως εκφράζονται άλλοι υποδοχείς, πιθανά υποδοχείς γλυκού (Gilbertson et al. 2000).

Μεταξύ των ειδών παρατηρούνται σημαντικές διαφορές των TAS2R γονιδίων. Για παράδειγμα, η γονιδιακή αλληλουχία είναι κατά 30% μεγαλύτερη στο ποντίκι από την αντίστοιχη ανθρώπινη (Devillier et al. 2015).

Η T2R/TRB οικογένεια υποδοχέων αρχικά εντοπίστηκε σε περιοχές τριών χρωμοσωμάτων του ανθρώπου, τις 5p15, 12p13, 7q31 και σε συνδεδεμένες περιοχές (συνταινία) δυο χρωμοσωμάτων ποντικίου τα 6 και 15. Η υπόθεση ότι οι T2R/TRB υποδοχείς αποτελούν υποδοχείς πικρού ενισχύθηκε από τα γενετικά ευρήματα: η χαρτογράφηση περιοχών ευαισθησίας για την 6-n πρόπυλο-2-θειουρακίλη (PROP) στα ανθρώπινα 5p15 και 7q31 (Gilbertson et al. 2000).

Τα γονίδια TAS2R υπέστησαν ταχεία διαφοροποίηση με αποτέλεσμα τη γένεση και το θάνατο γονιδίων. Κατά την εξέλιξή τους ενισχύθηκαν κάποιες γονιδιακές γραμμές, ανάλογα με τους υποδοχείς που κωδικοποιούσαν και τα είδη που εντοπίζονταν. Θεωρείται πως τα γονίδια που είναι ορθόλογα ένα-προς-ένα αμινοξύ, είναι υπεύθυνα για την αναγνώριση κοινών τοξινών. Αντίθετα, τα γονίδια που ανήκουν στις ειδικές γονιδιακές γραμμές, αναπτύχθηκαν για να αναγνωρίζουν



Σχήμα 1 : Εξελικτική συσχέτιση των TAS2Rs

σπανιότερες πικρές ενώσεις, που συναντούν τα άτομα που τα φέρουν. Η εξελικτική συσχέτιση, όπως αναφέρεται από τους Meyerhof et al. (2011), φαίνεται στο Σχήμα 1.

Τα TAS2R γονίδια βρίσκονται σε πολυγονιδιακές ομάδες (Gilbertson et al. 2000), δεν έχουν ιντρόνια και κωδικοποιούν GPCR πρωτεΐνες (Bachmanov & Beauchamp 2007). Οι κωδικοποιούμενες πρωτεΐνες περιλαμβάνουν 291-334 αμινοξέα, απαρτίζονται από 7 διαμεμβρανικές έλικες και χαρακτηρίζονται από βραχύ N-τελικό και C-τελικό πεπτίδιο (Devillier et al. 2015). Οι T2R/TRB υποδοχείς ελάχιστα συσχετίζονται με γνωστές GPCRs, όπως τις οψίνες. Γενικότερα εμφανίζουν ομοιότητες με την Class A των GPCRs, αλλά παρουσιάζουν και σημαντικές διαφορές από αυτές (Gilbertson et al. 2000). Αναφορές υπάρχουν για ομοιότητες με τους εσπειραμένους (frizzled) υποδοχείς. Αυτοί απαντούν σε μια οικογένεια αυξητικών παραγόντων, που καλούνται Wnt πρωτεΐνες σηματοδότησης, οι οποίοι ενέχονται στον έλεγχο της ανάπτυξης κυτταρικής πολικότητας και τη διαφοροποίηση (Meyerhof et al. 2011).

Χαρακτηριστικό της T2R οικογένειας είναι η εμφάνιση υψηλής μεταβλητότητας. Οι υποτύποι των T2R εμφανίζουν ομολογία που κυμαίνεται μεταξύ 20% και 90% (Devillier et al. 2015). Η υψηλότερη συντήρηση εμφανίζεται σε τρεις κυτταροπλασματικές αγκύλες (περιοχές αλληλεπίδρασης των G-πρωτεϊνών) και τα αντίστοιχα διαμεμβρανικά τους τμήματα. Η μεγαλύτερη ποικιλότητα εμφανίζεται σε εξωκυττάριας περιοχές (όπου γίνεται η σύνδεση των προσδετών). Όλοι οι υποδοχείς διατηρούν μια θέση εντός της 2^{ης} εξωκυτταρικής αγκύλης τους όπου γίνεται γλυκοζυλίωση ασπαραγίνης και θεωρείται σημαντική για την προσέλκυση προσδετών και τη λειτουργικότητα του υποδοχέα (Devillier et al. 2015).

Ο αριθμός των TAS2R γονιδίων διαφέρει στα σπονδυλωτά, από 3 στο κοτόπουλο σε 49 στο βάτραχο (Meyerhof et al. 2011). Ο μικρός αριθμός των γονιδίων για κάποια είδη αντανakλά εκλεκτική διατροφή τους με τρόφιμα που δεν έχουν τοξίνες ή υψηλή ικανότητα αποτοξίνωσης. Σε αυτές τις περιπτώσεις τα ζώα δεν εκτίθενται ή εκτίθενται ελάχιστα σε τοξίνες ή οι προσλαμβανόμενες τοξίνες αποδομούνται πριν γίνουν επικίνδυνες. Εναλλακτική ερμηνεία είναι ότι τα λίγα TAS2Rs εμφανίζουν γενικευμένη δράση και αναγνωρίζουν όλες τις πικρές τοξίνες που τα ζώα προσλαμβάνουν. Αντίθετα, είδη με μεγάλο αριθμό εκφραζόμενων γονιδίων είναι ικανότερα να αποφύγουν την είσοδο επικίνδυνων τροφίμων στον οργανισμό τους και τείνουν προς σαρκοβόρο τύπο διατροφής (Meyerhof et al. 2011).

Κατά την βάση δεδομένων HGNC, 39 TAS2R ανθρώπινα γονίδια εντοπίζονται στα χρωμοσώματα 5, 7, 12. Σε αυτά περιλαμβάνονται 25 γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, τους 25 T2R υποδοχείς, 10 ψευδογονίδια, που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες και 4 γονίδια, τα TAS2R22, 33, 36, 37 για τα οποία δεν υπάρχουν ακόμα δεδομένα (Πίνακας 1).

Αποδεκτό σύμβολο	Αποδεκτό όνομα	Προηγούμενο σύμβολο	Συνώνυμα	Χρωμόσωμα
TAS2R1	Taste receptor, type 2, member 1		T2R1, TRB7	5p15,31
TAS2R2P	Taste receptor, type 2, member 2, pseudogene	TAS2R2	T2R02, T2R2	7p21.3
TAS2R3	Taste receptor, type 2, member 3		T2R3	7q34
TAS2R4	Taste receptor, type 2, member 4		T2R4	7q34
TAS2R5	Taste receptor, type 2, member 5		T2R5	7q34
TAS2R6P	Taste receptor, type 2, member 6, pseudogene	TAS2R6	T2R06, T2R6	7q34
TAS2R7	Taste receptor, type 2, member 7		T2R7, TRB4	12p13.2
TAS2R8	Taste receptor, type 2, member 8		T2R8, TRB5	12p13.2
TAS2R9	Taste receptor, type 2, member 9		T2R9, TRB6	12p13.2
TAS2R10	Taste receptor, type 2, member 10		T2R10, TRB2	12p13.2
TAS2R12P	Taste receptor, type 2, member 12,pseudogene	TAS2R12	T2R12	12p13.2
TAS2R13	Taste receptor, type 2, member 13		T2R13, TRB3	12p13
TAS2R14	Taste receptor, type 2, member 14		T2R14, TRB1	12p13.2
TAS2R15	Taste receptor, type 2, member 15, pseudogene	TAS2R15	T2R15, PS8	12p13.2
TAS2R16	Taste receptor, type 2, member 16		T2R16	7q31.1–q31.3
TAS2R18P	Taste receptor, type 2, member18, pseudogene	TAS2R65P, TAS2R18	T2R18, TAS2R65	12p13.2
TAS2R19	Taste receptor, type 2, member 19	TAS2R48, TAS2R23	T2R19, T2R23	12p13.2
TAS2R20	Taste receptor, type 2, member 20	TAS2R49	T2R20,T2R56	12p13.2
TAS2R22	Taste receptor, type 2, member 22		T2R22	12
TAS2R30	Taste receptor, type 2, member 30	TAS2R47	T2R30	12p13.2
TAS2R31	Taste receptor, type 2, member 31 ,	TAS2R44	T2R31, T2R53	12p13.2
TAS2R33	Taste receptor, type 2, member 33		T2R33	12
TAS2R36	Taste receptor, type 2, member 36		T2R36	12
TAS2R37	Taste receptor, type 2, member 37		T2R37	12
TAS2R38	Taste receptor, type 2, member 38	PTC	T2R61	7q34
TAS2R39	Taste receptor, type 2, member39			7q34
TAS2R40	Taste receptor, type 2, member 40	GPR60		7q34
TAS2R41	Taste receptor, type 2, member 41		T2R59	7q35
TAS2R42	Taste receptor, type 2, member 42		T2R24, T2R55, hT2R55, TAS2R55	12p13.2
TAS2R43	Taste receptor, type 2, member 43		T2R52	12p13.2
TAS2R45	Taste receptor, type 2, member 45	GPR59	ZG24P	12 alternate reference locus
TAS2R46	Taste receptor, type 2, member 46		T2R54	12p13.2
TAS2R50	Taste receptor, type 2, member 50		T2R51	12p13.2
TAS2R60	Taste receptor, type 2, member 60		T2R60	7q35
TAS2R62P	Taste receptor, type 2, member 62, pseudogene		T2R62, TAS2R62	7q35
TAS2R63P	Taste receptor, type 2, member 63, pseudogene			12p13.2
TAS2R64P	Taste receptor, type 2, member 64, pseudogene		T2R64, T2R64P	12p13.2
TAS2R67P	Taste receptor, type 2, member 67, pseudogene			
TAS2R68P	Taste receptor, type 2, member 68, pseudogene		T2R68P, PS7	12 alternate reference locus

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 : ΓΟΝΙΔΙΑ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ: TAS2R ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ, ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ HUGO GENE NOMENCLATURE COMMITTEE (HGNC)

Πολλά γονίδια αρχικά είχαν διαφορετικό όνομα και απέκτησαν νεώτερη ονομασία αργότερα, όπως τα : *TAS2R18P*, 19,20,30,31 πριν γνωστά σαν *TAS2R65*, 48,49,47,44 (Devillier et al. 2015). Είναι οργανωμένα σε 4 χρωμοσωμικούς γενετικούς τόπους. Ένα γονίδιο το *TAS2R1* , εντοπίζεται στον μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 5. Δύο τύποι βρίσκονται στο χρωμόσωμα 7. Ο ένας περιέχει το *TAS2R16* γονίδιο και ο άλλος ένα εκτεταμένο τμήμα που εμπεριέχει τα *TAS2R3*, 4, 5, 38, 40, 41 και 60 . Τα υπόλοιπα γονίδια εμφανίζονται ως ένα άλλο εκτεταμένο τμήμα στο μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 12 (Πίνακας 1).

2.3 ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΟΛΙΓΟΜΕΡΩΝ

Μια ιδιότητα των GPCRs πρωτεϊνών είναι ότι είναι ενεργές σαν μονομερή αλλά και σχηματίζοντας ολιγομερή, κυρίως ομο- ή ετερο-διμερή. Ο λειτουργικός ρόλος των διμερών και ολιγομερών περιλαμβάνει τη ρύθμιση της βιοσύνθεσης των υποδοχέων, τη διαφοροποίηση των ελκτικών δυνάμεων κατά την σύνδεση των προσδετών, τη ρύθμιση της μεταγωγής των νευρικών σημάτων.

Οι 25 T2Rs συνδυαζόμενοι σχηματίζουν δυνητικά 325 διμερή. Μελέτες σε ζωντανά κύτταρα επιβεβαιώνουν την εμφάνιση 293 διακριτά ζεύγη υποδοχέων , ομο- ή ετεροδιμερών .

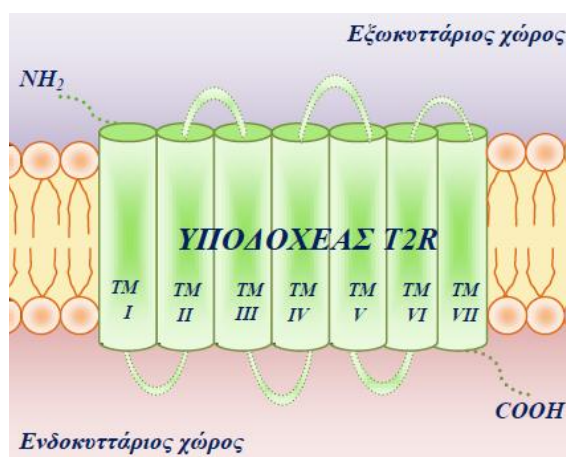
Τέσσερις υποδοχείς T2R16, 19, 46 και 50 μπορούν να συνδυαστούν με όλους τους άλλους και όλοι εκτός του T2R45 μπορούν να δημιουργήσουν ομοδιμερή. Οι 32 συνδυασμοί που απομένουν και απουσιάζουν από τα ευρήματα, είναι πιθανό να περιέχουν έναν υποδοχέα με φτωχή έκφραση , και τα αντίστοιχα ολιγομερή δεν αναγνωρίζονται λόγω τεχνικών αδυναμιών. Ωστόσο, η ουσιαστικότερη υπόθεση ότι ο σχηματισμός ολιγομερών συσχετίζεται με την ενεργοποίηση των υποδοχέων δεν αποδείχτηκε.

Ανάλογα, η σχέση συγκέντρωσης γευσιγόνου - απάντησης του υποδοχέα φάνηκε, στις ίδιες μελέτες πως δεν επηρεάζεται από την παρουσία των T2R σε μονομερή ή σε διμερή μορφή για τους T2R16, 31, 43 or 46. Επίσης τα διμερή των T2Rs εμφανίζουν την ίδια εκλεκτικότητα για 104 αγωνιστές τους, με μονομερή T2R.

Η ερμηνεία αυτών των ευρημάτων ίσως είναι απλή. Ο σχηματισμός ετεροδιμερών για τους T2Rs δεν κρίθηκε εξελικτικά απαραίτητος, καθώς οι 25 T2Rs επαρκούν για την αναγνώριση του συνόλου των πικρών ουσιών, ενώ τέσσερις από αυτούς εμφανίζουν ευρύτατο συγχρονισμό και αναγνωρίζουν το 50% περίπου των πικρών προσδετών. Θα μπορούσε δυνητικά ο σχηματισμός ολιγομερών να σχετίζεται με την αποτελεσματική μεταφορά των υποδοχέων από το ενδοκυτταρικό διαμέρισμα στην κυτταρική επιφάνεια, κατά την ενεργοποίηση.

Τελικά, η βιολογική σημαντικότητα του ολιγομερισμού σε αυτή την οικογένεια υποδοχέων παραμένει ουσιαστικά αδιευκρίνιστη (Devillier et al. 2015).

2.4 ΣΧΕΣΗ ΔΟΜΗΣ - ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ



Εικόνα 6 : Υποδοχέας T2R

TM I,II,III,IV, V, VI, VII : διαμεμβρανικές έλικες

Είναι γνωστό ότι οι T2Rs είναι GPCRs με 7 TMs (διαμεμβρανικές έλικες). Μελέτες των Behrens & Meyerhof (2013), οι οποίοι διερεύνησαν τη σχέση δομής και λειτουργίας των T2Rs, έδειξαν ότι ομάδες στην TMIII των υποδοχέων αλληλεπιδρούν με τους πικρούς προσδέτες. Σημαντικές θέσεις πρόσδεσης βρίσκονται επίσης στις TM I, II, V, VI και VII αλλά όχι στην TMIV (Behrens & Meyerhof, 2013).

Μελέτες in silico για τους T2R38 έδειξαν ότι:

- τα αμινοξέα στις θέσεις 103, 197, 201, 262 και 264 σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου με προσδέτες, σταθεροποιώντας τη δομή των GPCR's και
- δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στις TM III και TM VI ή στις TM V και TM VI ευθύνονται για την ενεργοποίηση των υποδοχέων και την μεταγωγή του σήματος σε ενδοκυττάριους τελεστές. Ο μηχανισμός αλληλεπίδρασης όμως διαφέρει στους διάφορους υποτύπους των T2R και διαφορετικοί προσδέτες ενώνονται σε όμοιες αλλά όχι πανομοιότητες κοιλότητες πρόσδεσης για συγκεκριμένο υποδοχέα (Devillier et al. 2015).

2.4.1 ΝΕΟΤΕΡΕΣ ΑΠΟΨΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ T2Rs

2.4.1.1 Ο ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ

Εφόσον οι GPCRs αποτελούν τη σημαντικότερη ομάδα μεμβρανικών υποδοχέων και μεσολαβούν σε πληθώρα κυτταρικών λειτουργιών είναι ευνόητο πως αποτελούν βασικό στόχο της δράσης πολλών ουσιών, που χορηγούνται εξωγενώς. Το ίδιο ισχύει και για τους T2Rs (Pydi et al. 2016).

Η χοληστερόλη φαίνεται πως κατέχει μοναδική θέση ρύθμισης της οργάνωσης και λειτουργίας των GPCRs, καθώς είναι μέρος των προσλαμβανόμενων τροφών του ανθρώπου και το περιεχόμενο των ανθρώπινων ιστών σε χοληστερόλη επηρεάζεται από τη διατροφική πρόσληψη και το μεταβολισμό της. Ο ρόλος της έχει κυρίως μελετηθεί στις G πρωτεΐνες της Class A, όπου διαφάνηκε πως η λειτουργικότητα εξαρτάται από το περιεχόμενο της μεμβράνης σε χοληστερόλη, αν και ο μηχανισμός παραμένει ασαφής. Άρθρα του 2016 περιγράφουν την

παρουσία μορίων χοληστερόλης στενά συνδεδεμένων σε κρυσταλλικές δομές των GPCRs, αλλά και της υποοικογένειας των T2Rs.

Οι υποδοχείς T2R4 μελετήθηκαν, ως αντιπροσωπευτικό δείγμα των T2Rs, και βρέθηκε πως εμφανίζουν ευαισθησία στην χοληστερόλη κατά την εκδήλωση της λειτουργίας τους.

Διάφορα δομικά χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων υποδοχέων αλληλεπιδρούν με την χοληστερόλη. Ένα από αυτά είναι το μοντέλο CRAC, Cholesterol Recognition- interaction Amino acid Consensus, που περιέχει ένα θετικά φορτισμένο αμινοξύ, την λυσίνη (Lys), η οποία αλληλεπιδρά ηλεκτροστατικά με 3β-υδροξυλικές ομάδες της χοληστερόλης (Pydi et al. 2016). Θεωρείται ότι ο ρόλος της χοληστερόλης είναι να σταθεροποιεί τους T2Rs στη μεμβράνη και άμεσα ή έμμεσα να τροποποιεί τη λειτουργικότητά τους (Behrens & Meyerhof 2013).

2.4.1.2 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΝΕΡΟΥ

Νεότερα δεδομένα αναφέρουν ότι εσωτερικά μόρια νερού μετέχουν στην κρυσταλλική δομή των GPCRs. Φαίνεται πως συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των υποδοχέων μεσολαβώντας στο σχηματισμό δεσμών υδρογόνου ανάμεσα στα διαμεμβρανικά TM τμήματα τους. Εμφανίζουν τη δυνατότητα να ρυθμίζουν τη διάνοιξη καναλιών νερού κατά την μετάβαση του υποδοχέα από ανενεργό σε ενεργό μορφή και πιθανότατα αλληλεπιδρούν με τους αγωνιστές κατά την πρόσδεσή τους στην θέση υποδοχής (Behrens & Meyerhof 2013)..

Η κρυσταλλική δομή έχει μελετηθεί σε περισσότερες από 20 GPCRs, στις οποίες περιλαμβάνονται υποδοχείς αδενοσίνης A_{2A}, β₂-αδρενεργικοί υποδοχείς, δΟ υποδοχείς οπιοειδών και η ροδοψίνη. Τα ευρήματα θα μπορούσαν να αφορούν τους T2Rs, με δεδομένη την δομική ομοιότητά τους με κάποιες από τις προαναφερόμενες GPCRs.

Κοινό χαρακτηριστικό όλων είναι η παρουσία εσωτερικών μορίων νερού, οργανωμένων σε καίριες θέσεις, ικανών να αλληλεπιδρούν με γειτονικές ομάδες συμμετέχοντας σε δεσμούς υδρογόνου. Το εσωτερικό νερό συμβάλλει στη θερμοδυναμική, στη σταθερότητα και στην ευπλαστότητα των πρωτεϊνικών μορίων (Tomobe et al. 2017).

Κατά την ενεργοποίησή τους οι υποδοχείς υφίστανται μεταβολές στη διαμόρφωση του μορίου τους. Μέρος των μεταβολών αποτελεί η αναδιοργάνωση των δεσμών υδρογόνου, επομένως και των συσχετιζόμενων εσωτερικών μορίων νερού. Όταν ο υποδοχέας βρίσκεται σε ανενεργή διαμόρφωση, δυο στιβάδες υδρόφοβων ομάδων των αμινοξέων Val, Leu, Ile, Phe, Pro παρεμβάλλονται στην δίοδο νερού μέσα από ένα στενό πόρο της μεμβράνης. Κατά την ενεργοποίηση του υποδοχέα με την πρόσδεση αγωνιστή, ο πόρος ανοίγει διαμορφώνοντας ένα συνεχές κανάλι νερού. Ο αριθμός και η θέση των εσωτερικών μορίων νερού μεταβάλλεται, καθώς μόρια νερού εισέρχονται στο εσωτερικό διαμέρισμα του υποδοχέα από τον εξωκυττάριο

ή τον ενδοκυττάριο χώρο. Το αποτέλεσμα διαφέρει ανάλογα με τη φάση ενεργοποίησης και καθορίζει τη λειτουργικότητα του υποδοχέα (Yuan et al.2014).

2.5 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΚΑΙ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η ενεργοποίηση των υποδοχέων απαιτεί μάλλον υψηλές συγκεντρώσεις προσδέτη. Για τους περισσότερους προσδέτες απαιτούνται επίπεδα millimolar (mM). Αυτά τα επίπεδα είναι παρόμοια με τα επίπεδα που φτάνουν οι διαλυμένες ουσίες για να προκαλέσουν την αντίληψη γεύσης στον άνθρωπο. Ωστόσο, αυτές οι συγκεντρώσεις είναι πάνω από 1000 φορές υψηλότερες από τις συγκεντρώσεις φαρμακευτικών ενώσεων στο πλάσμα, που θεωρούνται θεραπευτικές. Κάποιοι υποτύποι υποδοχέων παρουσιάζουν εκλεκτικότητα για ορισμένες οικογένειες προσδετών. Ο T2R16 αντιδρά σε β-glucopyranosides, ο T2R38 ενεργοποιείται από ενώσεις που έχουν μια ομάδα isothiocyanate και ο T2R46 συγχρονίζεται με sesquiterpene lactones, clerodane και labdane diterpenoids (Brockhoff et al.2007). Αντίθετα ο T2R14 απαντά σε ποικιλία πικρών ενώσεων χωρίς δομικές ομοιότητες.

Οι προσδέτες παρουσιάζουν μεγάλη ανομοιομορφία. Ομοιότητες εμφανίζουν μόνο ως προς τον υδρόφοβο χαρακτήρα και το μικρό αριθμό αρωματικών δακτυλίων τους. Γενικά, από τη μελέτη της δομής των προσδετών των T2R δεν έχει γίνει περιγραφή κάποιων κοινών χαρακτηριστικών τους, ικανών να προκαλέσουν την ενεργοποίηση των υποδοχέων.

Με δεδομένα ότι : πρώτον, οι υποδοχείς εμφανίζουν μικρή εκλεκτικότητα ως προς τους προσδέτες και δεύτερον οι συγκεντρώσεις των προσδετών που απαιτούνται για την ενεργοποίηση των υποδοχέων καλύπτουν μεγάλο εύρος, είναι εμφανής η ανάγκη ανακάλυψης εκλεκτικών και αποτελεσματικών αγωνιστών των T2R υποτύπων, με απώτερο σκοπό τη δημιουργία προσδετών με θεραπευτικές δυνατότητες.

2.6 ΙΣΤΙΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ

Στα θηλαστικά κύριες περιοχές έκφρασης T2R γονιδίων είναι τα TRCs κύτταρα των γευστικών καλύκων, στις περιχαρακωμένες, φυλλοειδείς και λιγότερο στις μυκητοειδείς θηλές, στη μαλακή υπερώα και στην επιγλωττίδα (Bachmanov & Beauchamp 2007).

Όπως έχει φανεί πολλοί T2Rs εκφράζονται μαζί στα ίδια TRCs, ενώ όλοι οι T2Rs μπορούν να εκφραστούν σε κάθε T2R- θετικό κύτταρο. Ο τρόπος έκφρασης των T2Rs γονιδίων επιδρά στην κωδικοποίηση της πικρής γεύσης. Η ταυτόχρονη έκφραση πολλαπλών T2Rs στα ίδια TRCs, που παρατηρείται στα πρωτεύοντα και στον αρουραίο, έχει σαν αποτέλεσμα τη διαμόρφωση μιας κοινής αντίληψη γευστικής ποιότητας για διαφορετικές πικρές ενώσεις.

Ωστόσο, υπάρχουν δεδομένα νευροφυσιολογικών ερευνών που έγιναν σε αρουραίους, σύμφωνα με τα οποία διαφορετικά πικρά ερεθίσματα ενεργοποιούν διαφορετικά TRCs και διεγείρουν διαφορετικές προσαγωγές περιφερικές γευστικές νευρικές ίνες. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι πιθανότατα μεμονωμένες υποομάδες των T2Rs εκφράζονται σε κάποια TRCs και ενισχύουν την άποψη πως το γευστικό σύστημα είναι τελικά ικανό να αντιληφθεί τα επιμέρους πικρά γευστικά ερεθίσματα ως διαφορετικά.

Η ασυμφωνία μεταξύ των δυο ευρημάτων, της έκφρασης πολλαπλών T2Rs στα ίδια κύτταρα και της εκλεκτικότητας των κυττάρων για συγκεκριμένα πικρά γευσιγόνα, ίσως απλώς αντικατοπτρίζει ασύμμετρα επίπεδα έκφρασης των ίδιων T2Rs στα TRCs, που έχουν σαν αποτέλεσμα τη διαφορετική ευαισθησία των κύτταρων (Bachmanov & Beauchamp 2007).

2.7 ΜΕΤΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΓΕΥΣΤΙΚΟΥ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΟΣ

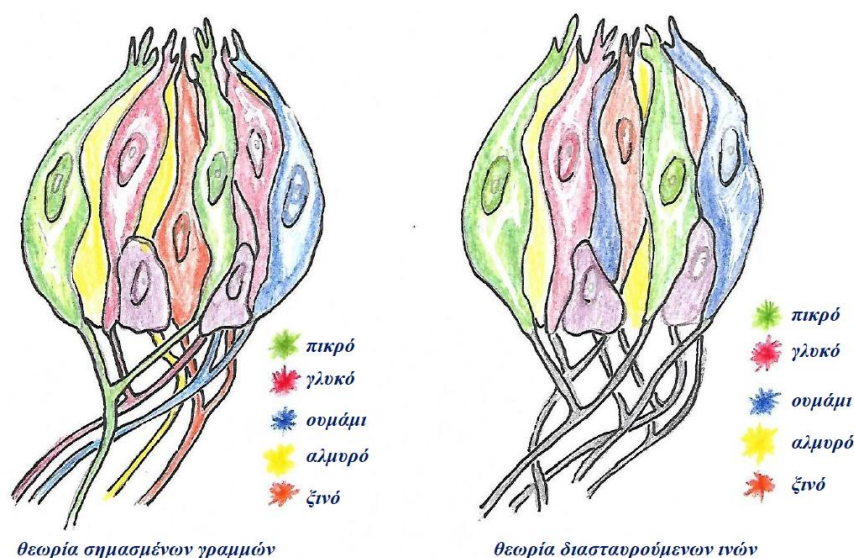
Η αίσθηση της γεύσης δημιουργείται από την αλληλεπίδραση γευσιγόνων με υποδοχείς και κανάλια ιόντων που εντοπίζονται στις μικρολάχνες της κορυφαίας επιφάνειας των TRCs (Gilbertson et al. 2000). Τα προσαγωγά ερεθίσματα παραλαμβάνονται από τα TRCs, υφίστανται κωδικοποίηση, μεταφέρονται μέσω των προσαγωγών νευρώνων και κατευθύνονται προς το κεντρικό νευρικό σύστημα για να ερμηνευθούν (Chandrashekar et al. 2006). Κάποιες οδοί μεταφοράς των γευστικών ερεθισμάτων χρησιμοποιούν για την κωδικοποίηση των προσλαμβανομένων χημικών πληροφοριών ενδοκυττάριους δεύτερους αγγελιοφόρους όπως μονοφωσφορικά κυκλικά νουκλεοτίδια (cNMPs), και τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP₃). Αυτοί οι αγγελιοφόροι είναι μέρος μιας αλληλουχίας σημάτων που οδηγεί σε εκπόλωση των TRCs και απελευθέρωση Ca²⁺. Σε κάποιες περιπτώσεις τα γευσιγόνα αποτελούν το σύνολο ή μέρος του αρχικού μηνύματος (Na⁺, K⁺, H⁺). Η δομική και χημική ετερογένεια των γευσιγόνων απαιτεί πολλαπλούς μηχανισμούς μεταγωγής (Gilbertson et al. 2000).

2.7.1 ΘΕΩΡΙΕΣ ΑΝΤΙΛΗΨΗΣ ΤΗΣ ΓΕΥΣΤΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Κατά τη μελέτη των μηχανισμών μεταγωγής του γευστικού ερεθίσματος, ένα ενδιαφέρον θέμα που απασχόλησε τους ερευνητές ήταν ο τρόπος ανίχνευσης και αντίληψης των γευστικών ποιοτήτων, ο ακριβής τρόπος που η γευστική πληροφορία μετατρέπεται σε αντίληψη γευστικής ποιότητας. Η έρευνα σε αυτό το πεδίο οδήγησε στη διαμόρφωση δυο βασικών υποδειγμάτων, του υποδείγματος των «σημασμένων γραμμών» και του υποδείγματος των «διασταυρούμενων ινών».

Το πρώτο υπόδειγμα, αποτελεί την απλούστερη ερμηνεία του τρόπου μετατροπής της ποιότητας του γευσιγόνου σε διακριτό νευρικό σήμα. Θεωρεί πως τα γλυκά, πικρά, ξινά, αλμυρά και ουμάμι γευσιγόνα αναγνωρίζονται από διαφορετικά κύτταρα που εκφράζουν τους αντίστοιχους υποδοχείς. Η κωδικοποίηση και η μεταγωγή του σήματος στην περιφέρεια πραγματοποιείται σε ευθείες διακριτές γραμμές ή «σημασμένες γραμμές» (ανεξάρτητες για γλυκό, πικρό, ουμάμι, ξινό, αλμυρό ερέθισμα).

Το δεύτερο υπόδειγμα διατυπώνει την εναλλακτική θεωρία των «διασταυρούμενων ινών», που επικράτησε κατά τις δυο προηγούμενες δεκαετίες. Σύμφωνα με αυτή τα TRCs είναι ευρύτερα συνδεδεμένα με τις γευστικές ποιότητες. Κάθε ένα TRC εκφράζει διαφορετική



Εικόνα 7 : Θεωρίες αντίληψης γευστικών ποιότητων
 «Σημασμένων γραμμών»: τα κύτταρα και οι νευρικές ίνες είναι συγχρονισμένα με μεμονωμένες ποιότητες.
 «Διασταυρούμενων ινών»: τα κύτταρα είναι συγχρονισμένα με μεμονωμένες ποιότητες, αλλά οι προσαγωγές ίνες μεταφέρουν περισσότερες από μία γευστικές ποιότητες.

οικογένεια υποδοχέων. Η αναγνώριση των γευσιγόνων, είναι το αποτέλεσμα της αποκωδικοποίησης που προκύπτει από συνδυασμένη δράση διαφόρων ομάδων TRCs και νευρικών ινών (Chandrasekar et al. 2006).

Τελικά, αναδεικνύεται ένα μοντέλο κωδικοποίησης

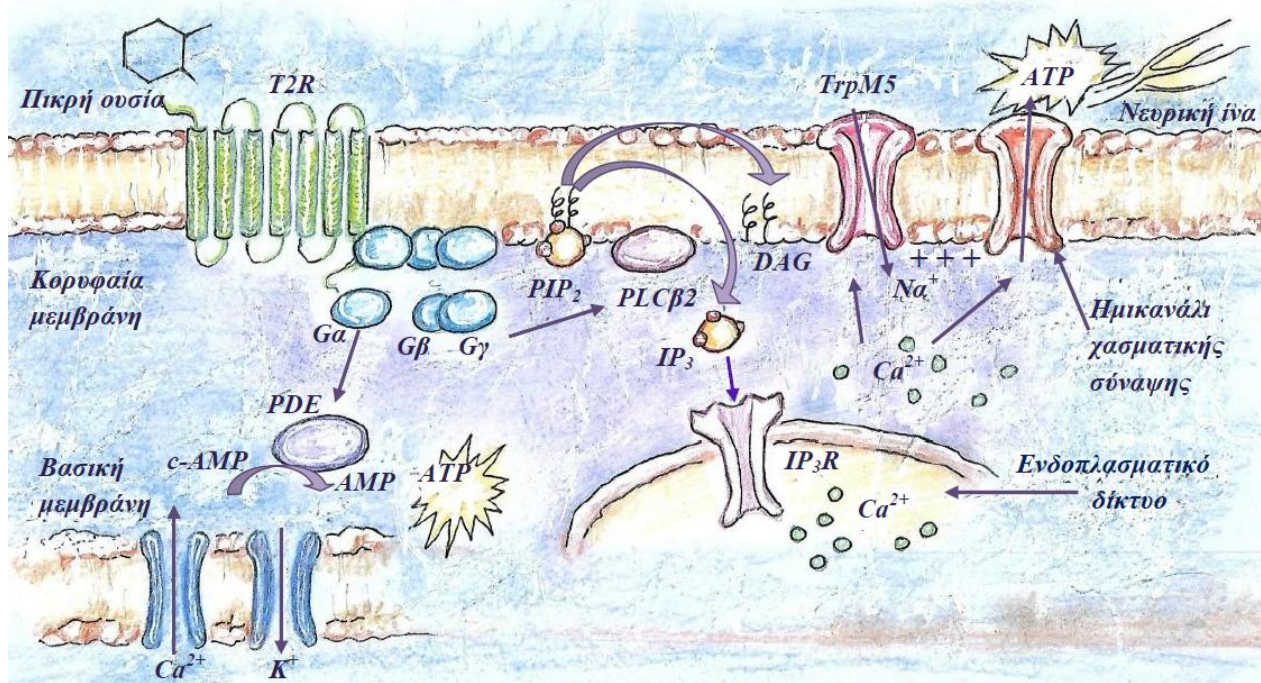
στο οποίο, η ποιότητα ενός γευστικού ερεθίσματος εκφράζεται από τις ιδιότητες των νευρώνων που ενεργοποιούνται. Επομένως, κατά

την οπτική της θεωρίας των σημασμένων γραμμών η ενεργοποίηση ενός ειδικευμένου υποσυνόλου νευρώνων γεννά μια ποιότητα. Αντίστοιχα, κατά το πρότυπο των διασταυρούμενων ινών, η γευστική ποιότητα προκύπτει μέσω συνεργασίας μιας μεγάλης ομάδας ινών (Breslin & Spector 2008).

2.7.2 ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΟΔΟΣ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ

Η κανονική οδός μεταγωγής της πικρής γεύσης των T2Rs έχει κοινά μόρια με τις αντίστοιχες οδούς της γλυκιάς και ουμάμι γεύσης. Τέτοια μόρια είναι οι πρωτεϊνικές υπομονάδες α-γευσίνης, μιας ετεροτριμερούς G πρωτεΐνης, της γευσίνης, Gnat3, Gβ3 και Gγ13, η PLCβ2, οι InsP3R υποδοχείς και οι TRPM5.

Η οδός μεταγωγής σήματος αρχίζει με τη σύνδεση μιας πικρής ένωσης στην εξωκυττάρια επιφάνεια ενός T2R (Yamamoto & Ishimaru 2012). Η αλληλεπίδραση με τον προσδέτη προκαλεί μεταβολές στη διαμόρφωσή του υποδοχέα, ενεργοποίηση του και αποσυναρμολόγηση της γευσίνης στην ενδοκυτταρική επιφάνεια, σε α , Gnat3 και $\beta\gamma$ υπομονάδες (Lu et al. 2017). Ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης (PLC β 2) από τις $G\alpha_{14}$ και/ή $G\beta_3$ / $G\gamma_{13}$ προκαλεί υδρόλυση της 4,5 διφωσφορικής φωσφατιδυλινωσιτόλης (PI(4,5)) σε 1,4,5-τριφωσφορική ινωσιτόλη (IP₃) και διακυλογλυκερόλη (DAG) (Yamamoto & Ishimaru 2012). Επόμενο βήμα η απελευθέρωση Ca^{2+} από ευαίσθητες στην IP₃ αποθήκες Ca^{2+} (Lu et al. 2017) του ενδοπλασματικού δικτύου μέσω υποδοχέων IP₃ τύπου 3 (Yamamoto & Ishimaru 2012). Το Ca^{2+} εμφανίζει δύο δράσεις. Η μια είναι η διάνοιξη καναλιών TRPM5 (Transient receptor potential melastin 5) με αποτέλεσμα εισροή Na^+ και εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης των TRCs. Η δεύτερη είναι η ενεργοποίηση ημικαναλιών χασματικών συνάψεων, (Yamamoto & Ishimaru 2012) ή CALHM1 ιοντικών καναλιών από τους πόρους των οποίων απελευθερώνεται ATP. Αυτό λειτουργεί σαν νευροδιαβιβαστής διεγείρει υποδοχείς πουρίνης στις προσαγωγές νευρικές ίνες. Η παραγόμενη ώση μετάγεται ως σήμα προς το κεντρικό νευρικό σύστημα, όπου γεννάται η αντίληψη του πικρού (Lu et al. 2017). Η οδός φαίνεται στην Εικόνα 8.



Εικόνα 8 : Κανονική οδός μεταγωγής

Τα πικρά γευσιγόνα ενεργοποιούν τον T2R, μια GPCR. Γίνεται αποσυναρμολόγηση των υπομονάδων γευσίνης.

Η $G\alpha$, α -γευσίνη, διεγείρει την φωσφοδιεστεράση (PDE), για υδρόλυση c-AMP σε AMP, αίρεται η δράση ανασταλτικών καναλιών κυκλικών νουκλεοτιδίων και εισέρχεται Ca^{2+} .

Η $G\beta\gamma$, ενεργοποιεί την φωσφολιπάση (PLC β 2), η διφωσφορική ινωσιτόλη (PIP₂) υδρολύεται σε διάκυλογλυκερόλη (DAG) και τριφωσφορική (IP₃), μέσω υποδοχέων IP₃R απελευθερώνεται Ca^{2+} , διεγείρονται τα κανάλια TRPM5, εισέρχεται Na^+ και ακολουθεί εκπόλωση της μεμβράνης. Ca^{2+} και εκπόλωση ανοίγουν τα ημικανάλια χασματικών συνάψεων (Panx1) και απελευθερώνεται ATP. Το ATP δρα σαν νευροδιαβιβαστής και διεγείρει προσαγωγά νευρικά ινίδια.

2.7.3 Ο ΕΠΙΜΕΡΟΥΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΥΠΟΜΟΝΑΔΩΝ ΤΗΣ ΓΕΥΣΙΝΗΣ

Η Gustducin (guanine nucleotide-regulatory G protein) ή γευσίνη είναι μια G πρωτεΐνη. Μοιάζει με την πρωτεΐνη μεταγωγίνη (transducin-like) και εκφράζεται στο 20-30% των TRCs στην υπερώα, σε όλες τις θηλές και σε κύτταρα του εντέρου. Η ετεροτριμερής αυτή G πρωτεΐνη διαθέτει α , β και γ υπομονάδες (Meyerhof et al. 2011). Αυτές που ενέχονται στην μεταγωγή γεύσης είναι οι Gai2, Ga14, Gγ13 και Gβ1 ή Gβ3 (Yamamoto & Ishimaru 2012). Αποτελέσματα ερευνών, *in vitro* και *in vivo*, αποδεικνύουν τον ουσιαστικό ρόλο της για την μεταγωγή των σημάτων της πικρής γεύσης. Για παράδειγμα, ποντίκια στα οποία η α -γευσίνη έχει εξουδετερωθεί, εμφανίζουν σημαντικά μειωμένες νευρικές ώσεις και αντιδράσεις συμπεριφοράς, ως απάντηση στις πικρές ενώσεις βενζοϊκό δενατόνιο και θεική κίνηνη.

Αναλύοντας το μηχανισμό δράσης της, πιστεύεται πως η α -γευσίνη ενεργοποιεί μια PDE φωσφοδιεστεράση (Margolskee R, 2001). Πολλές πικρές ουσίες προκαλούν μείωση στο επίπεδο του cNMP, η οποία αναστέλλεται με αντισώματα έναντι της α -γευσίνης. Η ελάττωση του cNMP επιδρά σε πρωτεϊνικές κινάσες και αυτές σε κανάλια ιόντων. Άλλη πιθανή οδός είναι η απευθείας επίδραση του cNMP στη ρύθμιση ιοντικών καναλιών που ενεργοποιούνται ή αναστέλλονται από το cNMP (Gilbertson et al. 2000).

Παρατηρήθηκε ότι πολλές πικρές ενώσεις που χρησιμοποιούν για τη μετάδοση του ερεθίσματος την οδό γευσίνης οδηγούν σε γένεση IP_3 . Αντίθετα προς το αναμενόμενο όμως, αντισώματα έναντι στην α -γευσίνη δεν σταματούν την γένεση της IP_3 . Η ερμηνεία των αντίθετων αυτών ευρημάτων προέκυψε από δυο μελέτες.

Από την πρώτη φάνηκε πως τα TRCs ποντικών εκφράζουν μια ισομορφή φωσφολιπάσης C την Cβ2 (PLCβ2). Η ενεργοποίηση αυτής απαιτείται για να δημιουργηθεί η IP_3 . Η δεύτερη έδειξε ότι, σε άγριου τύπου υποδοχείς υπό την επίδραση δανατονίου, μια υπομονάδα της γευσίνης Gγ, η Gγ13, αλληλεπιδρά με την α -γευσίνη, Ga, *in vitro*, και σχηματίζονται ετεροτριμερή Ga- Gβ1 - Gγ13. Επομένως, η Gγ13 όπως και η PLCβ2 λειτουργούν σαν δεύτεροι αγγελιοφόροι.

Συμπεραίνεται πως τα ετεροτριμερή γευσίνης μεσολαβούν σε δύο αντιδράσεις στα TRCs: μια μείωση στο επίπεδο του cNMP μέσω της α -υπομονάδας και μια αύξηση στο επίπεδο του IP_3 μέσω του συμπλέγματος βγ (Gilbertson et al. 2000).

Ο ακριβής ρόλος της α -γευσίνης ωστόσο, δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Θεωρείται πως η συγκεκριμένη υπομονάδα διατηρεί ένα βασικό επίπεδο ευαισθησίας των κύτταρων, για να ανταποκριθούν αποτελεσματικά σε γευστικά ερεθίσματα, μέσω του απαιτούμενου σήματος Ca^{2+} (Meyerhof et al. 2011).

2.7.4 ΑΛΛΕΣ ΟΔΟΙ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ

Στην μεταγωγή του πικρού θεωρείται πως μετέχουν και άλλες G πρωτεΐνες και άλλες οδοί. G_{ai-3} , G_{a14} , G_{a15} , G_{aq} , G_{as} και α - μεταγωγίνη εκφράζονται στα TRCs και είναι πιθανοί υποδοχείς. Κάποιες πικρές ενώσεις φαίνεται πως μπλοκάρουν κανάλια K^+ και εκπολώνουν τα TRCs (Gilbertson et al. 2000)

2.8 ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ TAS2Rs ΣΕ ΕΤΕΡΟΛΟΓΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Η έρευνα του τρόπου έκφρασης των TAS2Rs στην επιφάνεια των κυττάρων είναι ιδιαίτερα σημαντική προκειμένου να γίνουν κατανοητοί οι μηχανισμοί λειτουργίας τους και να αναγνωριστούν οι πικρές ενώσεις που μπορούν να δράσουν ως ενεργοποιητές.

Αντίθετα με τις άλλες GPCRs που έχουν στα N-τελικά τμήματά τους περιοχές γλυκοζυλίωσης, οι T2Rs έχουν αυστηρά συντηρημένες περιοχές στην 2^η εξωκυττάρια αγκύλη, όπου πραγματοποιείται σύνδεση με υδατάνθρακα. Αυτή η τροποποίηση τους καθιστά ικανούς να αλληλεπιδρούν με ενδοκυττάρια συνοδούς πρωτεΐνες (chaperons), απαραίτητες για την αποτελεσματική αναδίπλωση των υποδοχέων και την έκφρασή τους στην κυτταρική επιφάνεια. Επικουρικές για την επιφανειακή έκφραση των T2Rs σε ετερόλογα κύτταρα, είναι οι RTP (Receptor Transporting Protein) 3 ή 4, μέλη της οικογένειας REEP (Receptor Expression Enhancing Proteins). Μέλη και των δυο πρωτεϊνικών οικογενειών συνεκφράζονται με τους T2Rs σε γευστικούς και άλλους ιστούς. Φαίνεται πως βελτιώνουν την αναδίπλωση των υποδοχέων ή τη μεταφορά των υποδοχέων με κυστίδια από τον ενδοκυττάριο χώρο στην κυτταρική επιφάνεια. Οι T2R38, T2R10, δεν εμφανίζουν συνεκφραζόμενες REEPs, RTPs, και πιθανό είναι να αλληλεπιδρούν με άλλες μη αναγνωρισμένες συνοδούς πρωτεΐνες (Meyerhof et al. 2011).

2.9 ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΟΙ ΠΡΟΣΔΕΤΕΣ ΤΟΥΣ

Οι T2Rs γενικά απαντούν σε διάφορες πικρές ενώσεις και μια πικρή ένωση συνήθως ενεργοποιεί αρκετούς υποδοχείς. Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 2, από την Bitter Data Base, τέσσερις T2Rs, οι T2R 1, 10, 14, 46 έχουν μεγάλο εύρος συγχρονισμού. Αντιδρούν σε πάνω από 25 ενώσεις, ο καθένας. Οι T2R 10,14,46 μαζί ανιχνεύουν το 50% των πικρών ενώσεων (Meyerhof et al. 2011). Οι περισσότεροι έχουν μια ελευθερία πρόσφυσης και ενδιάμεσο εύρος προσδετών. Λίγοι εμφανίζουν στενό εύρος. Μόνο τρεις είναι ευαίσθητοι σε μια μόνο ένωση.

Bitter DB ID Υποδοχέα	Όνομα	Οργανισμός	Όνομα πρωτεΐνης	Πρόσθετα ονόματα	Αριθμός προσδετών	Δεδομένα μεταλλάξεων
1	TAS2R1	Human	Taste Receptor type 2 member1	TRB7 Taste Receptor family B member 7	37	
3	TAS2R3	Human	Taste Receptor type 2 member3		1	
4	TAS2R4	Human	Taste Receptor type 2 member4		22	
5	TAS2R5	Human	Taste Receptor type 2 member5		1	
7	TAS2R7	Human	Taste Receptor type 2 member7	TRB4 Taste Receptor family B member 4	6	
8	TAS2R8	Human	Taste Receptor type 2 member8	TRB5 Taste Receptor family B member 5	3	
9	TAS2R9	Human	Taste Receptor type 2 member9	TRB6 Taste Receptor family B member 6	3	
10	TAS2R10	Human	Taste Receptor type 2 member10	TRB2 Taste Receptor family B member 2	31	
13	TAS2R13	Human	Taste Receptor type 2 member13	TRB3 Taste Receptor family B member 3	2	
14	TAS2R14	Human	Taste Receptor type 2 member14	TRB1 Taste Receptor family B member 1	47	
16	TAS2R16	Human	Taste Receptor type 2 member16		10	+
38	TAS2R38	Human	Taste Receptor type 2 member38	PTC bitter taste receptor T2R61 Taste Receptor type 2 member 61	21	+
39	TAS2R39	Human	Taste Receptor type 2 member39	T2R57 Taste Receptor type 2 member 57	20	
40	TAS2R40	Human	Taste Receptor type 2 member40	T2R58 Taste Receptor type 2 member 58 GPR60 G-protein coupled receptor 60	11	
41	TAS2R41	Human	Taste Receptor type 2 member41	T2R59 Taste Receptor type 2 member 59	1	
42	TAS2R42	Human	Taste Receptor type 2 member42	T2R55 Taste Receptor type 2 member 55	0	
43	TAS2R43	Human	Taste Receptor type 2 member43	T2R52 Taste Receptor type 2 member 52	16	+
44	TAS2R44	Human	Taste Receptor type 2 member44	T2R531 Taste Receptor type 2 member 31 T2R53 Taste Receptor type 2 member 53	8	+
45	TAS2R45	Human	Taste Receptor type 2 member45	GPR59 G-protein coupled receptor 59	0	
46	TAS2R46	Human	Taste Receptor type 2 member46	T2R54 Taste Receptor type 2 member 54	27	+
47	TAS2R47	Human	Taste Receptor type 2 member47	TAS2R30 Taste Receptor type 2 member 30	10	+
48	TAS2R48	Human	Taste Receptor type 2 member48	T2R23 Taste Receptor type 2 member 23 T2R19 Taste Receptor type 2 member 19	0	
49	TAS2R49	Human	Taste Receptor type 2 member49	TAS2R20 Taste Receptor type 2 member20 T2R56 Taste Receptor type 2 member 56	2	
50	TAS2R50	Human	Taste Receptor type 2 member50	T2R51 Taste Receptor type 2 member 51	2	
60	TAS2R60	Human	Taste Receptor type 2 member60	T2R56 Taste Receptor type 2 member 56	0	
101	ggTAS2R1	Chicken			10	
102	ggTAS2R2	Chicken			8	
107	ggTAS2R7	Chicken			17	

ΠΙΝΑΚΑΣ 2 : Οι υποδοχείς πικρής γεύσης και οι προσδέτες τους.

Δεδομένα από την Bitter DB: <http://bitterdb.agri.huji.ac.il/dbbitter.php#receptor>

Αμέτρητες χημικές ενώσεις δομικά διαφορετικές δημιουργούν την αίσθηση της πικρής γεύσης και κάποιες από αυτές είναι επικίνδυνες (Meyerhof et al. 2011).

Μερικές από αυτές τις ενώσεις εμφανίζονται στον Πίνακα 3.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3 :

Χημική ποικιλότητα μορίων με πικρή γεύση

2.9.1 ΑΓΩΝΙΣΤΕΣ

Αν και 600-700 ενώσεις αναφέρονται ως πικρές σε βάσεις δεδομένων, μόνο 150 ουσίες έχουν επιβεβαιωθεί σαν προσδέτες των T2Rs.

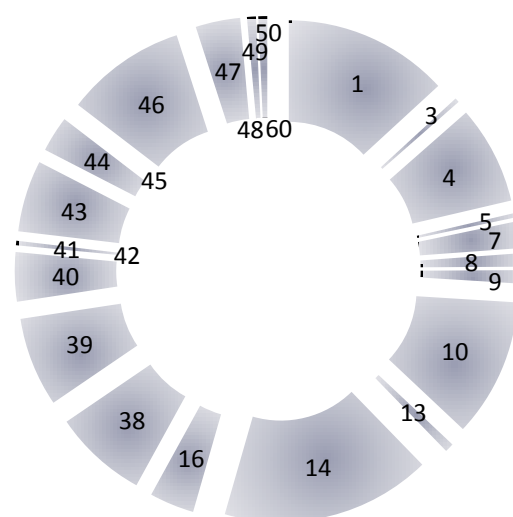
Αγωνιστές των T2Rs είναι οι προσδέτες που ενεργοποιούν τους υποδοχείς. Όλοι οι γνωστοί αγωνιστές είναι εξωγενείς ενώσεις φυσικές ή συνθετικές. Ενδογενείς αγωνιστές δεν έχουν βρεθεί ως τώρα, γεγονός που ενισχύει την υπόθεση ότι ο ρόλος των T2Rs είναι πρωταρχικά η προστασία από την είσοδο επιβλαβών παραγόντων στο σώμα.

Οι αγωνιστές περιλαμβάνουν ουσίες φυτικής προέλευσης (αμαρογεντίνη, αμπσιθίνη, αλοΐνη), παράγωγα μικροοργανισμών (λακτόνες ακυλομοσερίνης της gram- *Pseudomonas aeruginosa*, ερυθρομυκίνη από τον ακτινομύκητα *Saccharopolyspora erythraea*), συνθετικές χημικές ουσίες (θειοκυανιούχο νάτριο), φαρμακευτικές ουσίες (αναλυτικά αναγράφονται στον Πίνακα 4), προϊόντα ζύμωσης τροφίμων, δι- και τρι-πεπτίδια (ενεργοποιούν τον T2R1 και δρουν προστατευτικά έναντι της κατανάλωσης αλλοιωμένων τροφών). Γενικά οι T2Rs ενεργοποιούνται από πολλές ενώσεις. Οι περισσότεροι μπορούν να αναγνωρίσουν πολλούς διαφορετικούς τύπους προσδετών και ολόκληρες

οικογένειες πικρών ουσιών. Καμιά ένωση δεν ενεργοποιεί όλους (και τους 25) τους T2Rs.

Οι T2R 1, 10, 14, 46 είναι τέσσερις ευρέως

ΟΜΑΔΑ ΕΝΩΣΕΩΝ	ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ
Λιπαρά οξέα	9,12,15 Οκταδεκατριενοϊκό οξύ
Πεπτίδια	Leu-Val-Leu
Αμινοξέα	L-τυροσίνη
Αμίνες	Πεντυλαμίνη
Αζακυκλοκυκλοαλκάνια	Αζακυκλοπεντάνιο
N-ετεροκυκλικές ενώσεις	Πιπεραζίνη
Αμίδια	Σακχαρίνη
Καρβαμίδια, Θειουρίες, Ουρίες	Φαινυλοθειοκαρβαμίδιο
Εστέρες	Αιθυλ-βενζοϊκός εστέρας
Φαινόλες	1,2 διϋδρόξυ-βενζόλιο
Αιθέρες στέμματος	18-στέμμα-6 αιθέρας
Αλκαλοειδή	Στρυχνίνη
Μεταλλικά ιόντα	Θειικό μαγνήσιο
Γλυκοσίδες	Σαλικίνη
Διτερπένια	Andrographolid
Σεσκιτερπενικές λακτόνες	Absithin
Παράγωγα σακχάρων	Οκταοξική σουκρόζη
Λακτόνες	4-βουτυρολακτόνη
Καρβονυλικές ενώσεις	2-δεκανόνη



Σχήμα 2 : Αριθμός προσδετών των 25 T2R υποδοχέων
Το αναγραφόμενο νούμερο αντιστοιχεί στον T2R.
Το εύρος συγχρονισμού ανάλογο με το τμήμα του δακτυλίου
Οι ορφανοί υποδοχείς, 42, 45, 48, 60, αναγράφονται εσωτερικά.

συγχρονισμένοι, ικανοί να αναγνωρίζουν πολλά διαφορετικά δομικά μόρια. Στους ιστούς έχουν μέτρια - υψηλή έκφραση. Άρα έχουν σημαντικό ρόλο σε εξωγευστικούς ιστούς.

Για τους 21 από τους 25 έχουν βρεθεί προσδέτες. Οι T2R 19,42,45,60 δεν έχουν κανένα αναγνωρισμένο αγωνιστή και καλούνται «ορφανοί» υποδοχείς (Devillier et al. 2015).

Κατά τους Jagupilli et al. (2016) ένας μόνο αγωνιστής η χλωραμφαινικόλη, έχει αναφερθεί για τον T2R41 (θεωρούνταν ορφανός ως το 2016).

ΦΑΡΜΑΚΟ	ΔΡΑΣΗ	T2Rs
Ακεταμινοφαίνη	Αναλγητικό	39
Αλοϊνη	Υπακτικό	31,34
Αζαθειοπρίνη	Ανοσοκατασταλτικό	4,10, 14, 46
Καριζοπροδόλη	Μυοχαλαρωτικό	14,46
Χλωραμφαινικόλη	Αντιβιοτικό	1,8,10,39,43,46
Χλωροκίνη	Ανθελονοσιακό	3,7,10,39
Κολχικίνη	Ουρική αρθρίτιδα	4,39,46
Δαψόνη	Τοπικό αντιβιοτικό	4,10,40
Δεξτρομεθορφάνη	Αντιβηχικό-αποχρεμπτικό	1,10
Διφαινυδραμίνη	Αντισταμινικό	14,40
Διφαινιδόλη	Αντιεμετικό	1,4,7,10,13,14,16,20,30,31,38,39,40,43,46
Ερυθρομυκίνη	Αντιβιοτικό	10
Φαμοτιδίνη	Αναστολέας έκκρισης γαστρικού οξέος	10,31
Φλουφαιναμικό	Αντιφλεγμονώδες	14
Αλλοπεριδόλη	Αντιψυχωτικό	10,14
Υδροκορτιζόνη	Γλυκοκορτικοειδές	46
Μεθυμαζόλη	Αντιθρεοειδικό	38
Νοσκαπίνη	Αντιβηχικό-αποχρεμπτικό	14
Ορφαιναδρίνη	Αντισπασμωδικό	14,46
Παπαβερίνη	Αντισπασμωδικό	7,10,14,31,46
Πιρενζεπίνη	Αναστολέας έκκρισης γαστρικού οξέος	9
Προπυλοθειουρακίλη	Αντιθρεοειδικό	38
Προκαϊναμίδη	Αντιαρρυθμικό	9
Οφλοξασίνη	Αντιβιοτικό	9
Κινίνη	Ανθελονοσιακό	4,7,10,14,31,39,40,43,46

(Clark et al. 2012)

ΠΙΝΑΚΑΣ 4 : Φάρμακα αγωνιστές των T2Rs

2.9.2 ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΕΣ

Οι ανταγωνιστές και οι αναστολείς για την οικογένεια των T2Rs καλούνται αποκλειστές πικρής γεύσης ή πικροί αποκλειστές (bitter taste blockers). Μέχρι το 2016 αναγνωρίστηκαν 13 αποκλειστές. Κανείς δεν συνδέεται και με τους 25 υποδοχείς. Φαίνεται πως αλληλεπιδρούν με τους 10 από τους 25 υποτύπους (Jagupilli et al. 2016).

No	Ανταγωνιστής	Μηχανισμός δράσης
1	GIV3727 ή 4-(2,2,3- trimethylcyclopentyl) butanoic acid	Ορθοστερικός αναστολέας
2	3β- Hydroxydihydrocostunolide (3HDC)	Αδιευκρίνιστος
3	3β- hydroxypelenolide (3HP)	Αδιευκρίνιστος
4	Probenecid ή p-(dipropylsulfamyl) benzoic acid	Αλλοστερικός αναστολέας
5	Sakuranetin	Αδιευκρίνιστος
6	6-methoxysakuranetin	Αδιευκρίνιστος
7	Jaceosidin	Αδιευκρίνιστος
8	4-fluoro-6- methoxyflavonone	Αδιευκρίνιστος
9	6,3- dimethoxyflavanone	Αδιευκρίνιστος
10	6-methoxyflavanone	Αδιευκρίνιστος
11	γ-Aminobutyric acid (GABA)	Ορθοστερικός αναστολέας
12	Na,Na-bis(carboxymethyl)-l-lysine (BCML)	Αδιευκρίνιστος
13	(±) Absciscic acid (ABA)	Αδιευκρίνιστος

(Jaggupilli et al. 2016)

ΠΙΝΑΚΑΣ 5 : Αποκλειστές υποδοχέων πικρής γεύσης

Στην βιομηχανία τροφίμων και ποτών η βελτίωση της ποιότητας των προϊόντων, περιλαμβάνει την πρακτική της επικάλυψης της πικρής γεύσης κάποιων συστατικών, που επιτυγχάνεται με ουσίες που καλούνται «μάσκες επικάλυψης» (bitter taste maskers).

Δεκαεννέα τέτοιες ουσίες χρησιμοποιούνται, όπως φαίνονται στον Πίνακα 6.

Μόνο για έναν είναι γνωστός ο T2R με τον οποίο συνδέεται (Jaggupilli et al. 2016).

No	ΧΗΜΙΚΗ ΕΝΩΣΗ	T2Rs
1	Sodium gluconate (NaG)	Αδιευκρίνιστος
2	Monosodium glutamate (MSG)	Αδιευκρίνιστος
3	Aspartame	Αδιευκρίνιστος
4	Sodium acetate (NaAc)	Αδιευκρίνιστος
5	Homoeriodictyol	Αδιευκρίνιστος
6	Homoeriodictyol sodium salt	Αδιευκρίνιστος
7	Sterubin	Αδιευκρίνιστος
8	Eriodictyol	Αδιευκρίνιστος
9	2,4-Dihydroxybenzoic acid N-vanillyl amides	Αδιευκρίνιστος
10	Neodiosmin	Αδιευκρίνιστος
11	1-carboxymethyl-5-hydroxy-2-hydroxymethylpyridinium inner salt)	Αδιευκρίνιστος
12	Flavan-3-ol-spiro-C-glycosides reaction product (Compound 2)	Αδιευκρίνιστος
13	Poly- γ- glutamic acid	Αδιευκρίνιστος
14	α , α-trehalose	Αδιευκρίνιστος
15	Taurine	Αδιευκρίνιστος
16	[2]-Gingerdione d	Αδιευκρίνιστος
17	2,4-Dihydroxybenzoic acid	Αδιευκρίνιστος
18	L-Theanine	Αδιευκρίνιστος
19	Enterodiol	10

(Jaggupilli et al. 2016)

ΠΙΝΑΚΑΣ 6 : Bitter Taste Maskers

2.10 ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ

Η οικογένεια των γονιδίων TAS2Rs εμφανίζει υψηλή μεταβλητότητα της αλληλουχίας αμινοξέων της κωδικεύουσας περιοχής , με επακόλουθο την μεγάλη ποικιλομορφία.

Η εκτεταμένη γενετική ποικιλότητα που χαρακτηρίζει τα TAS2R γονίδια αποδίδεται σε πολυάριθμους μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNPs) και ποικιλότητα στον αριθμό των αντιγράφων των γονιδίων (Meyerhof et al. 2011).

Πάνω από 100 SNPs έχουν αποδοθεί στους 25 T2Rs, οι οποίοι διαμορφώνουν 151 διαφορετικούς απλότυπους για τις κωδικοποιούμενες πρωτεΐνες. Οι διαφοροποιήσεις των TAS2Rs κυμαίνονται από ένα αμινοξύ (TAS2R13,60) ως εννέα αμινοξέα (TAS2R44,48,49). Οι εναλλακτικές αλληλουχίες νουκλεοτιδίων στα αλληλόμορφα γονίδια προφανώς επιδρούν και στην πρωτεϊνική σύνθεση και επαγωγικά στην διαφοροποίηση των λειτουργιών που επιτελούν.

Η εκτενέστερα μελετημένη περίπτωση δομικά και λειτουργικά είναι οι SNPs του TAS2R38. Τρεις πολυμορφισμοί ευθύνονται για τη διαφορετική αντίληψη της πικρής γεύσης των συνθετικών ενώσεων PTC και PROP. Φαινοτυπικά με βάση την ικανότητα γεύσης αυτών των ουσιών, περίπου 65% του γενικού πληθυσμού (σε Καυκάσιους) αναγνωρίζονται ως «γεύστες», (ικανοί να γευτούν) και 35% ως «μη γεύστες». Τα δυο αλληλόμορφα είναι τα *TAS2R38* - PAV και *TAS2R38* - AVI καθώς η έκφραση τους οδηγεί σε αντικαταστάσεις αμινοξέων στις θέσεις 49(Pro-Ala), 262(Ala-Val), 296(Val-Ile) των κωδικοποιούμενων T2R38 πρωτεϊνών.

Σε in vitro μελέτες λειτουργικής έκφρασης των υποδοχέων με τη χρήση PTC και PROP όπου έγινε μέτρηση της EC₅₀ (της συγκέντρωσης ουσίας που απαιτείται για ενεργοποίηση του 50% των υποδοχέων) παρατηρήθηκε ότι οι PAV υποδοχείς απαντούν στην PTC και PROP (σε εύρος συγκεντρώσεων μΜ) με εξαιρετική ευαισθησία , ενώ οι AVI δεν ανταποκρίνοταν καθόλου.

Ομοζυγώτες PAV/ PAV εμφανίζουν μεγάλη ευαισθησία στην αντίληψη της πικρής γεύσης των δυο ενώσεων, ενώ ομοζυγώτες AVI/ AVI δεν αντιλαμβάνονται καμιά πικρή γεύση. Οι ετεροζυγώτες PAV/ AVI έχουν ικανότητα γεύσης, αλλά με μικρότερη ευαισθησία (Meyerhof et al. 2011).

Μελέτες των προηγούμενων ετών αλλά και πιο πρόσφατες , όπως των Sollai et al., (2016) συσχέτισαν την ικανότητα γεύσης της PROP και τον γονότυπο PAV/PAV με την πυκνότητα των μυκητοειδών θηλών της γλώσσας. Ωστόσο, η πυκνότητα των μυκητοειδών θηλών εμφανίζει ευρεία διακύμανση μεταξύ των ατόμων χωρίς να είναι σαφείς οι παράγοντες που την επηρεάζουν. Γενικά αντικρουόμενα είναι τα αποτελέσματα των ερευνών που προσπάθησαν να συσχετίσουν την πυκνότητα των μυκητοειδών θηλών με παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο, το κάπνισμα , το επίπεδο ευαισθησίας στην PROP και κυρίως ο γονότυπος του “υπεργεύστη”,

PAV/PAV (Fischer et al., 2013). Η σχέση ανάμεσα στη γευστική ένταση και τον αριθμό των μυκητοειδών θηλών που αναφέρουν κάποιοι μελετητές, αποδίδεται σε μεθοδολογικές ιδιαιτερότητες των ερευνών από κάποιους άλλους (Feeney E and Hayes J, 2015).

Εύλογα γεννάται το ερώτημα της χρησιμότητας του AVI αλληλόμορφου μέσα σε έναν πληθυσμό. Μια ερμηνεία είναι να αποτελεί υποδοχέα άγνωστων ως τώρα τοξινών, οπότε η λειτουργία του είναι η προφύλαξη από την πρόσληψη αυτών και η παρουσία του εξελικτικό πλεονέκτημα για τους φορείς. Άλλη εκδοχή αποτελεί η διατήρησή του για την επίτευξη ισορροπίας κατά την εξέλιξη.

Χαρακτηριστικό για το πώς η πίεση της φυσικής επιλογής, μπορεί να προκαλέσει την ποικιλότητα στον γενετικό τόπο του *TAS2R38*, είναι το ακόλουθο παράδειγμα. Η αυξημένη πρόσληψη καρβαμιδικών ενώσεων ($N-C=5-$) όπως τα ισοθειοκυανιούχα σχετίζονται με βρογχοκήλη του θυρεοειδούς σε περιοχές με χαμηλή πρόσληψη ιωδίου, ενώ η κατανάλωση αυτών των ενώσεων μέσω των λαχανικών *Brassica* φαίνεται πως μειώνει τον κίνδυνο για καρκίνο. Η εμφάνιση ή μη των πολυμορφισμών του *TAS2R38*, που σχετίζονται με την αντίληψη του πικρού, μπορεί είτε να κατευθύνει προς την άρνηση πρόσληψης των καρβαμιδικών ενώσεων (ενίσχυση έκφρασης *TAS2R38* – PAV, που σημαίνει καλύτερη ανίχνευση των καρβαμιδικών ενώσεων και προστασία από την βρογχοκήλη), είτε να επιτρέψει την πρόσληψη των ισοθειοκυανιούχων χωρίς αποστροφή (ενίσχυση έκφρασης *TAS2R38* – AVI, που θα επιτρέψει την κατανάλωση ισοθειοκυανιούχων και προστασία από τον καρκίνο).

Αλληλόμορφα με διαφορετική λειτουργικότητα έχουν βρεθεί για τα *TAS2R43,44*. Η αντίληψη του πικρού της αλοΐνης σχετίζεται με αλληλία του *TAS2R43*, ενώ η πίκρα του αριστοχολικού οξέος και των γλυκαντικών όπως η σακχαρίνη σχετίζεται με αλληλόμορφα και των δυο, *TAS2R43, 44*.

Άλλο παράδειγμα αποτελεί το *TAS2R9*, που κωδικοποιεί έναν υποδοχέα ικανό να συνδεθεί με το αντιβιοτικό οφλοξασίνη. Υπάρχουν δυο αλληλόμορφα *TAS2R9*, με αντικατάσταση Val-Ala στην θέση 187. Οι V-187 δεν ανταποκρίνονται στην οφλοξασίνη.

Ενδιαφέρον σε αυτή την περίπτωση είναι ότι το *TAS2R9* εκφράζεται σε εξωγευστικούς ιστούς και η πρόσδεση της οφλοξασίνης σε υποδοχείς *T2R9* εντεροενδοκρινικών κυττάρων, προκαλεί την έκκριση GLP-1. Έτσι φάνηκε ότι ο απλότυπος του *TAS2R9*, σχετίζεται με διαφοροποίηση στην ρύθμιση της γλυκόζης και ινσουλίνης.

Στο *TAS2R16* μια μετάλλαξη, η K172N, στην δεύτερη εξωκυτταρική αγκύλη δημιουργεί τα αλληλόμορφα K172 (αρχικός τύπος) και N172 (μετάλλαξη). Αποτέλεσε συνέπεια θετικής εξέλιξης κατά την Παλαιολιθική εποχή. Οι φορείς της μετάλλαξης ήταν πιο ευαίσθητοι στην αναγνώριση των γλυκοπυρανοσιδών (τοξικών ουσιών) και υιοθέτησαν υγιεινότερες διατροφικές συνήθειες, αποφεύγοντας την κατανάλωση των συγκεκριμένων τοξινών. Με την μετακίνηση των ανθρώπινων πληθυσμών το εξελικτικό πλεονέκτημα της φορείας του μεταλλαγμένου αλληλόμορφου N172 επεκτάθηκε.

Φορείς του K172 παρέμειναν σε περιοχές της Κεντρικής Αφρικής με μια μέτρια συχνότητα, εμφανίζοντας γονιδιακή κατανομή ανάλογη με αυτή των ανθελονοσιακών γονιδίων (γονιδίων που σχετίζονται με αντίσταση στην ελονοσία). Οι φορείς του K172 αλληλόμορφου δεν ήταν ευαίσθητοι στις πικρές γλυκοσίδες (όπως στις κυανιούχες γλυκοσίδες) με αποτέλεσμα να καταναλώνουν κυανιούχες ουσίες (Meyerhof et al. 2011). Η χρόνια κατανάλωση κυανιούχων σε μέτριες ποσότητες, κατά τους ερευνητές, επέφερε αυξημένη προστασία έναντι της ελονοσίας, μέσω ποικίλων μηχανισμών, που συμπεριλαμβάνουν την προκαλούμενη από κυανιούχα δρεπανοκυτταρική αναιμία, το οξειδωτικό στρες, την αναστολή της αναπνευστικής αλυσίδας του πλασμοδίου της ελονοσίας (Soranzo et al., 2005).

Το αλληλόμορφο K172 σχετίζεται επίσης με τον εθισμό στο αλκοόλ (Meyerhof et al. 2011).

Ποικιλότητα του αριθμού αντιγράφων εμφανίζουν δυο γονίδια τα *TAS2R7*, 46.

SNPs αυτών δημιουργούν πρόωρα κωδικόνια λήξης της μετάφρασης και πιθανότατα μη λειτουργικούς υποδοχείς. Αποτελούν επομένως ψευδογονίδια, που δεν κωδικοποιούν πρωτεϊνικούς υποδοχείς. Κάποια άτομα δεν φέρουν κανένα, άλλα φέρουν μόνο ένα και κάποια φέρουν δυο αντίγραφα των ψευδογονιδίων. Ανάλογα ποικιλότητα αριθμού αντιγράφων εμφανίζεται και για το *TAS2R43*, με άτομα να φέρουν ή να μην φέρουν το γονίδιο.

Συνοψίζοντας, όλα τα *TAS2R* γονίδια παρουσιάζουν γενετική ποικιλότητα κωδικοποιώντας διαφοροποιημένους υποδοχείς. Αυτές οι εναλλακτικές μορφές υποδοχέων διατηρούν ή χάνουν την ικανότητα να διεγείρονται από συγκεκριμένους αγωνιστές ή διαφοροποιούνται ως προς το φάσμα των αγωνιστών τους. Είναι ευνόητο πως αυτού του είδους οι γενετικές μεταβολές επιδρούν στην αντίληψη της πικρής γεύσης αλλά και μέσω των εξωγευστικών εντοπίσεων των πικρών υποδοχέων, γενικότερα στην υγεία (Meyerhof et al. 2011). Οι πολυμορφισμοί εκφραζόμενοι σε ιστούς και κύτταρα επιφέρουν παθοφυσιολογικά αποτελέσματα και σχετίζονται με διαταραχές και νοσήματα, όπως αναλύεται διεξοδικότερα στο Κεφάλαιο 4.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΞΩΣΤΟΜΑΤΙΚΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ

Την τελευταία δεκαετία το πεδίο των υποδοχέων πικρής γεύσης αποτέλεσε επίκεντρο ερευνητικού ενδιαφέροντος και οι πολυάριθμες ανακαλύψεις γύρω από αυτό σημαντικότητας.

Με απώτερο στόχο τον προσανατολισμό σε νέες φαρμακολογικές προσεγγίσεις, μελετήθηκε η έκφραση των TAS2Rs σε ανατομικές περιοχές εκτός του στοματοφάρυγγα. Οι μελέτες αυτού του τύπου, σύντομα απέφεραν θετικά ευρήματα, αφού εντοπίστηκε έκφραση των TAS2Rs καθώς και πολλών μορίων της μεταγωγικής οδού των υποδοχέων σε πληθώρα εξωστοματικών ιστών και κυττάρων, στο αναπνευστικό, στο πεπτικό, στο ουροποιογεννητικό, στο αμυντικό σύστημα, στο δέρμα, στον εγκέφαλο, στο θυρεοειδή, όπως φαίνεται στον Πίνακα 7.

Τα περισσότερα από τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται στην κλινική πρακτική είναι δεδομένο πως έχουν πικρή γεύση και εκτός από την επιθυμητή δράση τους εμφανίζουν παράπλευρες δράσεις και ανεπιθύμητες ενέργειες. Εύλογα διαμορφώνεται επομένως η υπόθεση πως οι υποδοχείς πικρής γεύσης στους εξωστοματικούς ιστούς αποτελούν στόχο ανάπτυξης νεοφανών φαρμάκων και νέων θεραπειών.

ΣΥΣΤΗΜΑ	ΙΣΤΟΣ Ή ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΕΙΔΗ	ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΟΙ T2Rs
ΓΕΥΣΤΙΚΟ	Γευστικές θηλές	Άνθρωπος	1,3,4,5,7,8,9,10,13,14,16,19, 20,30,31,38,39,40,41,42,43,45,46,50,60
	Γευστικές θηλές	Ποντίκι	102,103,104,105,106,107,108,109,110, 113,114,115,116,117,118,119,120,121, 122,123,124,125,126,129,130,131,134, 135,136,137,138,139,140,143,144
ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ	Λείοι μύες	Άνθρωπος	1,3,4,5,8,9,10,13,14,19,20,30,31,42,45,46,50
	Επιθηλιακά κύτταρα	Άνθρωπος	1,3,4,7,8,9,10,13,14,16,38,43,46
	Μονήρη Χημειοαισθητικά Κύτταρα	Ποντίκι	108,109
ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ	Στομάχι- Δωδεκαδάκτυλο	Αρουραίος	r1,r2,r3,r4,r5,r6,r7,r8,r9,r10,r12,r16,r34,r38
		Ποντίκι	108,134,138
	Τυφλό-Κόλον	Άνθρωπος	3,4,5,9,10,13,20,30,31,38,39,40,42
ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ	NCI-H716 Cells	Άνθρωπος	9,38
	HuTu-80	Άνθρωπος	4,5,14,16,20,30,31,38,39,40,46,50,60
	STC-1 Cells	Ποντίκι	108, 134, 135, 137, 138, 144
	Ar42J	Αρουραίος	r16, r34, r38
ΝΕΥΡΙΚΟ	Εγκεφαλικοί νευρώνες Νευρογλοία	Αρουραίος	r107(a.k.a r10), r4, r38

(Clark et al. 2012)

ΠΙΝΑΚΑΣ 7 : Τύποι κυττάρων και οι εκφραζόμενοι T2Rs

3.1 ΟΛΟΙ ΜΕΤΑΓΩΓΗΣ

Οι T2Rs των γευστικών καλύκων χρησιμοποιούν για τη μεταγωγή του γευστικού ερεθίσματος την κανονική οδό μεταγωγής. Στους εξωγευστικούς T2Rs η μεταγωγική οδός διαφοροποιείται ανάλογα με την εντόπιση και παρατηρούνται τρεις εναλλακτικοί μηχανισμοί μεταγωγής σήματος, οι οποίοι διατηρούν το αρχικό μισό μέρος της κανονικής οδού, από την ενεργοποίηση ως την απελευθέρωση του ενδοκυττάριου Ca^{2+} .

Οι τρεις μηχανισμοί είναι :

1. Αυτόνομη κυτταρική ρύθμιση ή Αυτοκρινής ρύθμιση (Cell autonomous regulation).
2. Παρακρινής ρύθμιση (Paracrine regulation).
3. Ενδοκρινής ρύθμιση (Endocrine regulation).

Ο πρώτος μηχανισμός της «Αυτόνομης κυτταρικής ρύθμισης» εντοπίζεται στο κροσσωτό επιθήλιο του αναπνευστικού συστήματος. Οι πικρές ενώσεις προκαλούν μια δόσοεξαρτώμενη αύξηση στην συγκέντρωση του Ca^{2+} και αύξηση της συχνότητας δόνησης των κροσσών, πιθανότατα μέσω κυκλικών νουκλεοτιδίων (Lu et al. 2017).

Στα λεία μυϊκά κύτταρα των αεραγωγών οι πικροί προσδέτες εμφανίζουν δόσοεξαρτώμενη δράση και προκαλούν χαλάρωση αεραγωγών που βρίσκονται σε σύσπαση.

Το 2010 θεωρήθηκε ότι ο πιθανότερος μηχανισμός αυτής της χαλαρωτικής δράσης στους λείους μύες, περιλαμβάνει την ενεργοποίηση BK καναλιών K^+ , Big conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels, υπερπόλωση της μεμβράνης και χαλάρωση. Αργότερα, η υπόθεση αναιρέθηκε καθώς το 2015 βρέθηκε ότι οι πικρές ενώσεις αναστέλλουν τα BK κανάλια και τελικά το σημαντικότερο μόριο για τη χαλάρωση των αεραγωγών θεωρήθηκε η υπομονάδα $\beta\gamma$ της γευσίνης. Η $\beta\gamma$ -γευσίνη κλείνει δυναμικο-εξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+} L-Τύπου, μειώνοντας την συγκέντρωση Ca^{2+} που είχε προηγούμενα αυξηθεί υπό την επίδραση βρογχοσυσπαστικών ουσιών (Lu et al. 2017).

Ο δεύτερος μηχανισμός της «Παρακρινούς ρύθμισης» εντοπίστηκε αρχικά σε Εντεροενδοκρινικά κύτταρα (EEC, Enteroendocrine Cells) στο έντερο. Στα EEC η ενεργοποίηση των T2Rs προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης Ca^{2+} και έκκριση χολοκυστοκινίνης, CCK. Η CCK στη συνέχεια δρα μέσω υποδοχέων τύπου CCK1 και CCK2.

Μέσω CCK2 υποδοχέων των γειτονικών εντεροκυττάρων προάγεται η παραγωγή της πρωτεΐνης Multidrug resistance protein 1, γνωστή ως B1 [ABCB1, ATP binding cassette B1], με σκοπό την άντληση των πικρών τοξινών εκτός κυττάρου.

Οι CCK1 υποδοχείς εντοπίζονται σε αισθητικές ίνες του πνευμονογαστρικού και μετέχουν στη μετάδοση του σήματος στον εγκέφαλο, με αποτέλεσμα τη ρύθμιση πρόσληψης της τροφής.

Άλλος τύπος κυττάρων που χρησιμοποιούν παρακρινή ρύθμιση είναι τα Μονήρη χημειοαισθητικά κύτταρα (SCCs, Solitary chemosensory cells) ή ψηκτροειδή κύτταρα με ποικίλες εντοπίσεις.

Ψηκτροειδή κύτταρα της ρινικής κοιλότητας και της τραχείας τρωκτικών μετά τη διέγερση με πικρά χημικά ή βακτηριακά ερεθίσματα προάγουν την απελευθέρωση ακετυλοχολίνης (ACh). Μέσω ενεργοποίησης των υποδοχέων της σε γειτονικές αισθητικές νευρικές ίνες η ακετυλοχολίνη προκαλεί ελάττωση του ρυθμού της αναπνοής και προάγει τη ανάπτυξη νευρογενούς φλεγμονής στη ρινική κοιλότητα (Lu et al. 2017).

Παρόμοιο μηχανισμό δράσης εμφανίζουν τα ψηκτροειδή κύτταρα της ουρήθρας (Deckmann et al. 2014) και τα ψηκτροειδή ή θυσανωτά κύτταρα (tuft cells) στο έντερο.

Κατά την ενδοκρινική ρύθμιση η διέγερση των T2Rs επάγει την απελευθέρωση ορμονών στο αίμα. Εντερικά εντεροενδοκρινικά κύτταρα εκκρίνουν GLP-1 (Glucagonlike peptide 1) το οποίο διαχέεται στα εξωκυττάρια υγρά, εισέρχεται στην κυκλοφορία και προκαλεί την έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας (Lu et al. 2017).

3.2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΩΝ ΕΞΩΣΤΟΜΑΤΙΚΩΝ T2Rs

Τα γονίδια TAS2R χαρακτηρίζονται για την υψηλή μεταβλητότητα και την ταχεία διαφοροποίηση τους, είναι ευνόητο πως επηρεάστηκαν από την εντόπισή τους και εξελίχθηκαν ανάλογα, προκειμένου να επιτελούν διαφορετικές βιολογικές λειτουργίες ανάλογα με τον ιστό.

Οι T2R υποδοχείς μετέχουν σε μηχανισμούς:

- Εκκριτικής λειτουργίας κυττάρων του γαστρεντερικού συστήματος, του αναπνευστικού συστήματος, του θυρεοειδούς αδένος.
- Σύσπασης ή χάλασης των λείων μυών των αεραγωγών, του γαστρεντερικού σωλήνα, του μυοκαρδίου, του αγγειακού τοιχώματος.
- Φυσικής (έμφυτης) ανοσίας, όπως ο επιθηλιακός φραγμός, ικανός να παρεμποδίσει την είσοδο και τον αποικισμό των μικροοργανισμών, και η βλεννογονική κάθαρση, που επιτυγχάνεται με αύξηση της συχνότητας δόνησης των κροσσών ή με παραγωγή αντιμικροβιακών ουσιών (Lu et al. 2017)

Η φυσική (έμφυτη) ανοσία είναι η ικανότητα των οργανισμών για άμυνα έναντι παθογόνων παραγόντων, δεν σχετίζεται με παραγωγή αντισωμάτων ή ειδικές κυτταρικές αντιδράσεις, έχει γενετική βάση και είναι χαρακτηριστική του βιολογικού είδους. Αποτελεί την αρχική ταχεία απάντηση των αμυντικών μηχανισμών.

3.3 ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Το αναπνευστικό σύστημα αποτελεί την καλύτερα μελετημένη περιοχή εξωστοματικής εντόπισης υποδοχέων πικρής γεύσης, όπου όπως φαίνεται στον Πίνακα 8, TAS2Rs εκφράζονται σε πολλούς διαφορετικούς τύπων κυττάρων .

Κυτταρικός τύπος	T2R υποτύπος			Αναφορές
	mRNA	Πρωτεΐνη	Μη ανιχνεύσιμοι	
Μονήρη ή ψηκτροειδή χημειοαισθητικά κύτταρα	4,14,46			Barham et al.2013
Ρινικά επιθηλιακά κύτταρα	38	38		Lee et al. 2012
Βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα	1,3,4,7,8,9,10,13,14,16,38,43,46	4,38,43,46		Shah et al. 2009
Λεία μυϊκά κύτταρα αεραγωγών	1,3,4,5,8,9,10,13,14,19,20,30,31,42,45,46,50	10,14,19,31	7,16,38,39,40,41,43,60	Deshpande et al.2010
Βρογχικά κύτταρα	3,4,5,7,8,9,10,14,19,20,31,38,39,43,45,46			Grassin-Delyle et al. 2013
Λεία μυϊκά κύτταρα πνευμονικών αρτηριών	1,3,4,5,7,8,9,10,13,14,19,20,30,31,39,42,43,45,46,50,60		16,28,40,41	Manson et al.2014 Upadhyaya et al.2014
Κυψελιδικά μακροφάγα	3,4,5,7,8,9,10,14,19,20,31,38,39,43,45,46			Grassin-Delyle et al. 2014

(Devillier et al. 2015)

ΠΙΝΑΚΑΣ 8 : Κυτταρικοί τύποι του αναπνευστικού που εκφράζουν TAS2Rs

Αναλυτικότερα, στο ανώτερο αναπνευστικό οι T2Rs βρέθηκε πως εκφράζονται στην κορυφαία μεμβράνη και στους κροσσούς των επιθηλιακών κυττάρων των παραρρινίων κόλπων, καθώς και σε μονήρη χημειοαισθητικά ή ψηκτροειδή κύτταρα (SCCs) υπεύθυνα για την προστασία των αεραγωγών.

Στο κατώτερο αναπνευστικό έκφραση εντοπίζεται σε κροσσωτά επιθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα και αμυντικά κύτταρα, όπως τα μακροφάγα. Έκφραση εμφανίζεται και σε κύτταρα των αγγείων των πνευμόνων, όπως στα λεία μυϊκά κύτταρα των πνευμονικών αρτηριών, όπου πιθανότατα μετέχουν στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου (Devillier et al.2015).

3.3.1 ΑΝΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ

3.3.1.1 ΕΚΔΥΣΗ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΩΝ ΑΝΤΑΝΑΚΛΑΣΤΙΚΩΝ

Ψηκτροειδή χημειοαισθητικά κύτταρα εκφράζοντα T2Rs βρέθηκαν στη ρινική κοιλότητα σε ανθρώπους και τρωκτικά . Σε πειραματικές μελέτες με ποντίκια και αρουραίους, η έκθεση του ρινικού επιθηλίου σε πικρές ενώσεις όπως, δενατόνιο, κινίνη, κυκλοεξιμίδη ή σε μικροβιακά παράγωγα όπως οι AHLs (Acyl-homoserine lactones), επέφερε άπνοια ή ελάττωση του ρυθμού

της αναπνοής, μέσω ενεργοποίησης του τριδύμου νεύρου. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και στον ερεθισμό του επιθηλίου της τραχείας.

Η οδός μεταγωγής του ερεθίσματος των ψηκτροειδών κυττάρων, μετά τον ερεθισμό τους με πικρές ενώσεις χρησιμοποιεί μόρια κοινά με εκείνα που εντοπίζονται στη γευστική οδό, όπως την α -γευσίνη, την PLC β 2, το κανάλι TRPM5. Ταυτόχρονα όμως απελευθερώνουν και ακετυλοχολίνη, η οποία ενέχεται στην κινητοποίηση νευρογενούς φλεγμονής και στην μεταβολή του αναπνευστικού ρυθμού (Devillier et al.2015).

3.3.1.2 ΧΡΟΝΙΑ ΠΑΡΑΡΡΙΝΟΚΟΛΠΙΤΙΔΑ ΚΑΙ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ T2Rs ΣΤΗ ΦΥΣΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ ΑΝΩΤΕΡΩΝ ΑΕΡΑΓΩΓΩΝ

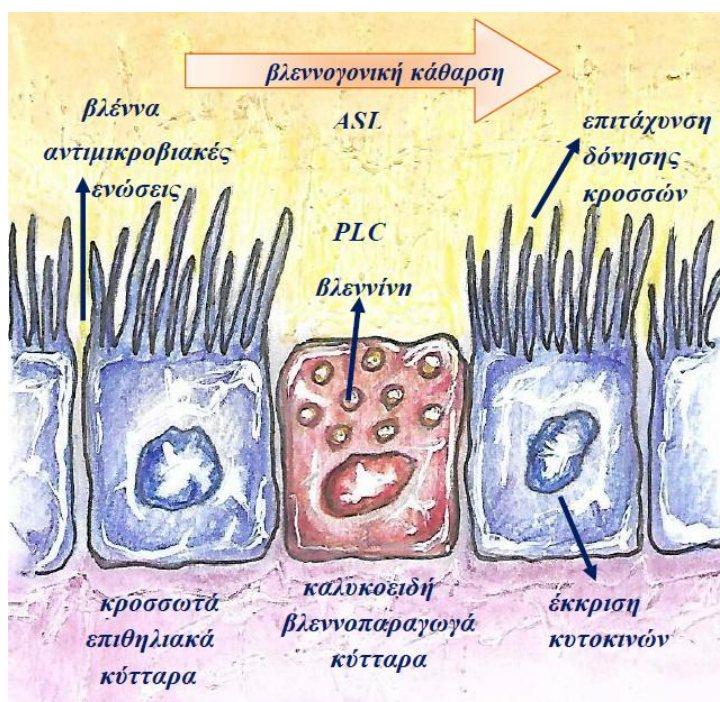
Το αμυντικό σύστημα είναι επιφορτισμένο με την ταχεία αναγνώριση των επιβλαβών παραγόντων που επιχειρούν να εισβάλουν στον οργανισμό και την μετάδοση των μηνυμάτων που προσλαμβάνει προς το νευρικό σύστημα, ασκώντας ουσιαστικά τον ρόλο μιας «έκτης αίσθησης». Στο ανώτερο αναπνευστικό σύστημα τα επιθηλιακά κύτταρα των παραρρινίων κόλπων ανιχνεύουν άμεσα την παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών και των ενώσεων που αυτοί εκκρίνουν και αντιδρούν μέσω του αμυντικού συστήματος.

Θεωρείται πως οι υποδοχείς πικρής γεύσης, που εκφράζονται σε αυτά τα κύτταρα αποτελούν τους αισθητήρες ανίχνευσης και η ενεργοποίησή τους πυροδοτεί αποκρίσεις φυσικής άμυνας. Τέτοιες είναι η επιτάχυνση της βλεννογονικής κάθαρσης και η έκκριση αντιμικροβιακών ουσιών, όπως οι αμυνίνες (defencins) (Hariri et al. 2016). Οι TAS2Rs λειτουργούν σαν ενδογενείς ρυθμιστές της άμεσης φάσης της φυσικής ανοσίας του ανώτερου αναπνευστικού (Carvey et al. 2016).

Η χρόνια παραρρινοκολπίτιδα (CRS, Chronic Rhino sinusitis), κοινό νόσημα του ανώτερου αναπνευστικού χαρακτηρίζεται από διαταραχή της αναγνώρισης των επιβλαβών βακτηρίων και την αναποτελεσματική βλεννογονική κάθαρση των αεραγωγών, μέσω του κροσσώτου επιθηλίου, με αποτέλεσμα την εμφάνιση επαναλαμβανόμενων λοιμώξεων, το σχηματισμό παθολογικού βιοϋμένα (biofilm) και την εμμένουσα φλεγμονή.

Στη συμπτωματολογία του νοσήματος περιλαμβάνονται η ρινική συμφόρηση, η ρινόρροια, η αίσθηση πίεσης των παραρρινίων και ελαττωμένη ικανότητα όσφρησης, που διαρκούν περισσότερο από δώδεκα εβδομάδες. Η CRS αναπτύσσεται συχνά στα πλαίσια άλλων παθολογικών καταστάσεων, όπως η κυστική ίνωση.

Τα βλεννοεκκριτικά επιθηλιακά κύτταρα των παραρρινίων συνδέονται στενά μεταξύ τους μέσω στενών συνάψεων, ζωνών πρόσφυσης και δεσμοσωμάτων, σχηματίζοντας έναν φραγμό εισόδου για μικρόβια, αλλεργιογόνα ή άλλες αερομεταφερόμενες ερεθιστικές ουσίες. Στην CRS ο βλεννογονικός φραγμός ανεπαρκεί λόγω μειωμένης έκφρασης πρωτεϊνών των στενών συνάψεων (occludin, zonula occludin-1). Η διαταραχή αυτή αποδίδεται σε συγγενή ελαττωματική λειτουργία των επιθηλιακών κυττάρων, σε πιθανή έκθεση σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα ή στην επίδραση εξωγενών τελεστών που βλάπτουν την ακεραιότητα του επιθηλίου εκκρίνοντας πρωτεάσες, οι οποίες διασπούν τις πρωτεΐνες των στενών συνάψεων.



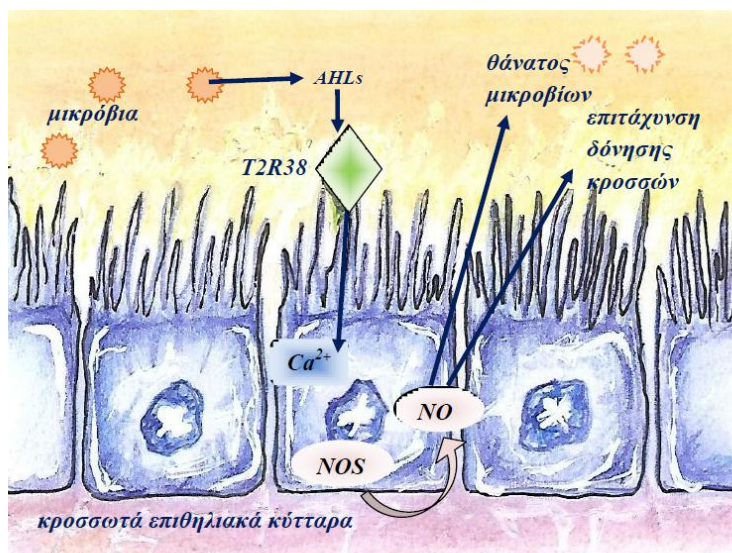
Εικόνα 9: Η βλεννογονική κάθαρση των ανώτερων αεραγωγών. Η υγρή επιφάνεια ASL (airways surface liquid) αποτελείται από την υπερκείμενη βλενώδη στοιβάδα με κύριο συστατικό την κολλώδη βλεννίνη, που παράγεται από τα καλυκοειδή κύτταρα και την υποκείμενη PCL (Periciliary fluid layer), που περιβάλλει τους κροσσούς επιτρέποντας την δόνησή τους. Τα κροσσωτά επιθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν αντιμικροβιακές ουσίες και σε μακροχρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις κυτοκίνες.

Η διαδικασία της βλεννογονικής κάθαρσης αποτελεί έναν από τους μηχανισμούς φυσικής άμυνας των αεραγωγών και συνοπτικά φαίνεται στην Εικόνα 9.

Βασίζεται στην παραγωγή βλέννας που κατά την μετακίνησή της συμπαρασύρει επιβλαβή στοιχεία, προς τον φάρυγγα για να αποβληθούν. Πάνω από το επιθήλιο των αεραγωγών η βρίσκεται η Υγρή επιφάνεια των αεραγωγών (ASL, Airways surface liquid), μια υγρή επιφάνεια αποτελούμενη από δυο επιμέρους στοιβάδες. Η ανώτερη στοιβάδα πλούσια σε αντιμικροβιακές ουσίες, σχηματίζεται από τη βλέννα, κύριο συστατικό της οποίας είναι γλυκοζυλιωμένα παράγωγα βλεννίνης. Η βλέννα παράγεται από τα καλυκοειδή κύτταρα

του επιθηλίου και από κύτταρα επιτόπιων εξωκρινών αδένων. Οι υδατανθρακικές πλάγιες αλυσίδες της βλεννίνης λειτουργούν σαν κολλώδεις ακίδες που παγιδεύουν τα παθογόνα μικρόβια και τους ρύπους πριν αυτά εισβάλουν στο επιθήλιο. Κάτω από αυτή υπάρχει μια δεύτερη λεπτόρευστη υδαρής στοιβάδα, η PCL (Periciliary fluid layer), που περιβάλλει τους κροσσούς επιτρέποντάς τους να δονούνται ταχύτατα με συχνότητα περίπου 8-15 Hz.

Ένας δεύτερος φυσικός αμυντικός επιθηλιακός μηχανισμός είναι η έκκριση ενδογενών αντιμικροβιακών πεπτιδίων και ριζών όπως η λυσοζύμη, η λακτοφερίνη, οι αμυνίνες α και β, το ενεργό οξυγόνο και το οξείδιο του αζώτου (NO) (Hariri et al. 2016). Η βλέννη με τις αντιμικροβιακές ουσίες που εμπεριέχει εμφανίζει δυναμικό έναντι βακτηρίων (*P.aeruginosa* ανθεκτική στη μεθικυλλίνη, *S.aureus*, *Kl.pneumoniae*, *S.epidermidis*), μυκήτων και ιών (Devillier et al.2015).



Εικόνα 10 : Επιτάχυνση της βλεννογονικής κάθαρσης και έκκριση NO με τη μεσολάβηση του T2R38 στους ανώτερους αεραγωγούς

Ο T2R38 εκφράζεται σε χημειοαισθητικά SCCs, διεγείρεται από βακτηριακές AHLs (homoserine lactones) με αποτέλεσμα την ενδοκυτταρική απελευθέρωση Ca^{2+} και την παραγωγή NO μέσω ενεργοποίησης της συνθάσης NOS, (Nitric oxide synthase).

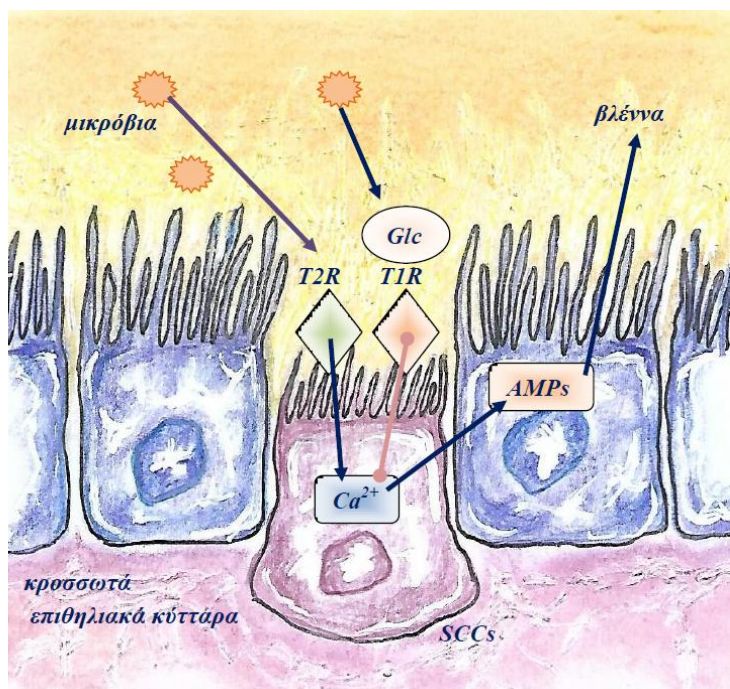
Το NO είναι άμεσα βακτηριοκτόνο και επιταχύνει την ταχύτητα δόνησης των κροσσών, επομένως τη βλεννογονική κάθαρση.

Οι υποδοχείς T2Rs, και ειδικότερα ο T2R38 αποδεδειγμένα εκφράζεται στο κροσσωτό επιθήλιο. Η ενεργοποίησή του από προσδέτες μεταβολίτες μικροβίων (AHLs της gram-*P.aeruginosa*), κινητοποιεί την αλληλουχία μεταγωγής και επιφέρει την αύξηση της συχνότητας δόνησης των κροσσών επομένως επιτάχυνση της βλεννογονικής κάθαρσης και παραγωγή του NO (Hariri et al. 2016), όπως φαίνεται στην Εικόνα 10.

Το NO εμφανίζει βακτηριοκτόνο δράση και παράλληλα αυξάνει την κινητικότητα των κροσσών ενεργοποιώντας την πρωτεϊνική κινάση G και την γουανυλ-κυκλάση, που στη συνέχεια προκαλούν φωσφορύλωση πρωτεϊνών των κροσσών (Lu et al. 2017). Ανάλογα αποτελέσματα επι-

φέρει η ενεργοποίηση του T2R38 από φαινυλοθειοκαρβαμίδιο και θειοκυανικό νάτριο, γνωστούς αγωνιστές του. Η παρατηρούμενη θετική απάντηση της ενεργοποίησης του T2R38 σε φυσικούς ή συνθετικούς προσδέτες είναι εντονότερη σε φορείς του γονοτύπου PAV/PAV (Devillier et al.2015).

Τα ψηκτροειδή χημειοαισθητικά κύτταρα (SCCs) είναι ένας άλλος τύπος αναπνευστικών επιθηλιακών κυττάρων που εκφράζουν T2Rs και τα περισσότερα γευστικά μεταγωγικά μόρια, όπως α-γευσίνη PLCβ2,TRPM5. Αποτελούν το 1% των επιφανειακών κυττάρων του αναπνευστικού (Lu et al. 2017).



Εικόνα 11: Μεσολάβηση T2Rs ανώτερων αεραγωγών στην έκκριση αντιμικροβιακών ουσιών. Η ενεργοποίηση των T2Rs που εκφράζονται στα χημειοαισθητικά SCCs, από βακτηριακά παράγωγα προκαλεί αύξηση Ca^{2+} . Μέσω χασματικών συνάψεων το Ca^{2+} μεταφέρεται στα επιθηλιακά κύτταρα, που παράγουν αντιμικροβιακές AMPs (antimicrobial compounds). Στα SCCs συνεκφράζονται υποδοχείς γλυκού T1Rs που διεγείρονται από γλυκόζη (Glc) και αναστέλλουν την έκκριση Ca^{2+} . Σε λοίμωξη οι μικροοργανισμοί καταναλώνουν την γλυκόζη και ευνοείται η οδός ενεργοποίησης των T2Rs.

Δεδομένη είναι η έκφραση του T2R38 στα SCCs, όπως φαίνεται στην Εικόνα 11. Η ενεργοποίησή του, προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης ενδοκυτταρικού Ca^{2+} και διέγερση των γειτονικών επιθηλιακών κυττάρων για την παραγωγή αντιμικροβιακών ουσιών (AMPs Antimicrobial compounds). Στα SCCs συνεκφράζονται T2Rs, υποδοχείς πικρού και T1Rs (T1R2/T1R3) υποδοχείς γλυκού. Οι T1Rs ενεργοποιούνται από τη γλυκόζη,

αναστέλλουν την έκκριση AMPs, άρα ανταγωνίζονται τους T2Rs. Ουσιαστικά οι T1Rs ρυθμίζουν τη δράση των T2Rs. Σε φλεγμονή τα επίπεδα γλυκόζης ελαττώνονται λόγω κατανάλωσής της από τα μικρόβια, επομένως ευνοείται η ενεργοποίηση των T2Rs. Αντίθετα, όπως γίνεται κατανοητό σε ασθενείς με διαβήτη και χρόνια παραρρινοκολπίτιδα λόγω υπεργλυκαιμίας, η λειτουργικότητα των T2Rs εμφανίζεται μειωμένη (Hariri et al. 2016).

3.3.1.3 ΝΕΥΡΟΓΕΝΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Η εφαρμογή δенаτονίου, αγωνιστή των T2Rs στο επιθήλιο των παραρρινίων του ανθρώπου προάγει μια δόσοεξαρτώμενη αύξηση της συγκέντρωσης Ca^{2+} μέσω κανονικής οδού με συμμετοχή PLCβ2, IP₃R, TRPM5. Ταυτόχρονα παρατηρείται απελευθέρωση ακετυλοχολίνης από τα ψευδοειδή κύτταρα (SCCs). Ακολουθεί διέγερση των απολήξεων του τριδύμου για απελευθέρωση νευροκινίνης (Substance P), που μέσω υποδοχέων NK1 προκαλεί εξαγγείωση πλάσματος και αποκκοκίωση μαστοκυττάρων, διαδικασίες νευρογενούς φλεγμονής. Εύλογα διαμορφώνεται η υπόθεση της συμμετοχής των T2Rs που εκφράζονται στα SCCs στην χρόνια φλεγμονώδη αντίδραση της αλλεργικής ρινίτιδας (Devillier et al. 2015).

3.3.2 ΚΑΤΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ

3.3.2.1 ΑΣΘΜΑ ΚΑΙ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ T2Rs ΣΤΑ ΛΕΙΑ ΜΥΪΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Το άσθμα είναι η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, που χαρακτηρίζεται από φλεγμονή και απόφραξη των αεραγωγών, οφειλόμενα σε άθροιση βλέννας και σύσπαση των λείων μυϊκών ινών των βρόγχων. Ο «βρογχόσπασμος» προκαλεί ελάττωση της διαμέτρου του αυλού των αεραγωγών και αύξηση της αντίστασης στη ροή του αέρα (Liggett et al. 2013). Ο βαθμός σύσπασης των αεραγωγών ποικίλει και είναι δυνητικά αναστρέψιμος (Shaik et al. 2016). Σε μέτριας βαρύτητας ή σοβαρό άσθμα κάποιου βαθμού βρογχόσπασμος εμμένει ή ανακύπτει σε δραστηριότητες όπως η άσκηση ή μετά από έκθεση σε αλλεργιογόνα (Liggett et al. 2013).

Η τρέχουσα συμπτωματική αντιμετώπιση περιλαμβάνει αγωνιστές των β_2 - αδρενεργικών υποδοχέων και αντιφλεγμονώδη κορτικοστεροειδή (Shaik et al. 2016).

Το 2010 οι Deshpande et al. ανέφεραν την έκφραση των T2Rs σε λεία μυϊκά κύτταρα των αεραγωγών (ASM, Airways smooth muscle cells) και την ικανότητα πικρών προσδετών να προκαλούν χάλαση των ASM με τρόπο που παραπέμπει σε ενεργοποίηση των T2Rs, κυρίως μέσω αύξησης της συγκέντρωσης ενδοκυτταρικού Ca^{2+} (Shaik et al. 2016).

Η επίδραση αγωνιστών των T2Rs στη λειτουργικότητα των αεραγωγών ασθματικών μελετήθηκε μέσω της χορήγησης πικρών προσδετών όπως η καφεΐνη, η ερυθρομυκίνη, η χλωροφαινυραμίνη, η αζελαστίνη και η κολχικίνη. Φάνηκε πως οι αναφερόμενες ουσίες βελτιώνουν την αναπνευστική λειτουργία και μειώνουν τον βρογχόσπασμο, που έχει προκληθεί από ισταμίνη (αλλεργικός) ή από άσκηση (Shaik et al. 2016).

Σε κυτταρικές καλλιέργειες λείων μυϊκών κυττάρων αεραγωγών η χλωροκίνη ή η κινίνη αναστέλλουν την κυτταρική ανάπτυξη και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (arrest της G0 φάσης του κυτταρικού κύκλου), υποδεικνύοντας πως οι T2Rs ασκούν αντιμιτωτική δράση.

Ιδιαίτερο τομέα ερευνητικού ενδιαφέροντος αποτέλεσε ο μηχανισμός χάλασης των αεραγωγών. Η ενεργοποίηση των T2Rs των αεραγωγών ακολουθείται από τα γνωστά στάδια μεταγωγής. Η βγ-υπομονάδα γευσίνης ενεργοποιεί την PLC β 2, παράγεται IP $_3$ και αυξάνεται η συγκέντρωση Ca^{2+} ενδοκυτταρικά. Νεοφανές εύρημα ήταν η χάλαση που οι T2Rs επιφέρουν μέσω αύξησης συγκέντρωσης Ca^{2+} , σε επίπεδα ανάλογα με αυτά που επιφέρει η δράση βρογχοσυσπαστικών ουσιών, όπως η ακετυλοχολίνη και η ισταμίνη σε καλλιέργειες ανθρώπινων λείων μυϊκών κυττάρων αεραγωγών (Lu et al. 2017). Για την ερμηνεία της

διαφορετικής δράσης τους διαμορφώθηκε η υπόθεση της μερικής διαμερισματοποίησης του ενδοκυτταρικού ασβεστίου στα οξύαιχμα άκρα και στις σαρκοπλασματικές περιοχές των λείων μυϊκών κυττάρων (Shaik et al. 2016) .

Η έρευνα για την ανακάλυψη των μηχανισμών χαλάρωσης απέδωσε αντικρουόμενα αποτελέσματα. Οι Grassin-Delyle et al. το 2013 υπέθεσαν την συμμετοχή της φωσφατύδυλο-ινοσιτόλ- 3- κινάσης (PI3K) . Οι Tan and Sanderson το 2014 διευκρίνισαν ότι οι πικρές ουσίες απευθείας αναστέλλουν την υποβοηθούμενη από IP3R υποδοχείς απελευθέρωση Ca^{2+} .

Οι Tazzeo et al. το 2012 πρότειναν ότι οι πικροί προσδέτες , όπως η καφεΐνη επιδρούν στην κινάση της ελαφράς αλυσίδας της μυοσίνης αλληλεπιδρώντας με το μηχανισμό σύσπασης και τελικά προκαλεί χαλάρωση .

Ομοφωνία υπάρχει για το γεγονός ότι οι πικροί προσδέτες αποτελούν πιθανά δυναμικά βρογχοδιασταλτικά, αφού χαλαρώνουν τους αεραγωγούς και προλαμβάνουν in vivo την σύσπαση των αεραγωγών καλύτερα από χρησιμοποιούμενα φάρμακα για το άσθμα (Lu et al. 2017).

3.3.2.2 ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ T2Rs ΣΤΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Έκφραση TAS2Rs παρατηρήθηκε σε κυψελιδικά μακροφάγα, περιφερικά λευκοκύτταρα και μαστοκύτταρα αίματος ομφάλιου λώρου ανθρώπου. Η έκφραση των TAS2R 13, 14, 19 είναι πολύ μεγαλύτερη σε λευκοκύτταρα παιδιών με σοβαρό άσθμα από ότι σε υγιείς μάρτυρες.

Έρευνες έδειξαν ότι οι T2Rs αγωνιστές εμποδίζουν την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών από λευκοκύτταρα και την IgE εξαρτώμενη απελευθέρωση ισταμίνης και προσταγλανδίνης D_2 από μαστοκύτταρα αίματος ομφάλιου λώρου. Παρόμοια ευρήματα έδειξαν μείωση απελευθέρωσης TNF- α , CCL3, CXCL8 υπό την επίδραση χλωροκίνης, κινίνης, φαινανθρολίνης, οφλοξασίνης, ερυθρομυκίνης σε κυψελιδικά μακροφάγα.

Έρευνα σε ποντίκια με αλλεργικό άσθμα οι αγωνιστές χλωροκίνη και δενατόνιο επέφεραν μείωση της υπεραντιδραστικότητας των αεραγωγών σε ευαισθητοποιημένα ζώα (Devillier et al.2015).

3.3.2.3 ΕΚΦΡΑΣΗ T2Rs ΣΤΑ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Υποτύποι των T2Rs βρέθηκε να εκφράζονται στα επιθηλιακά κύτταρα των βρόγχων. Η διέγερση αυτών προάγει την αύξηση της συχνότητας δόνησης των κροσσών του επιθηλίου, με αποτέλεσμα την επιτάχυνση της απομάκρυνσης επιβλαβών ουσιών και την παρεμπόδιση του

αποικισμού βακτηρίων στους πνεύμονες. Μέσω ενεργοποίησης των T2Rs από τις AHLs που εκκρίνει η *P.aeruginosa*, θεωρείται πιθανή η απομάκρυνση της από τους πνεύμονες. Η λοίμωξη από το συγκεκριμένο gram- βακτήριο αποτελεί κίνδυνο στα όψιμα στάδια της κυστικής ίνωσης, γεγονός που συνδέει τους T2Rs με την θεραπευτική αντιμετώπιση και αυτής της νόσου.

Η έκφραση υποτύπων των T2Rs καθώς και μορίων σηματοδότησης στα ψηκτροειδή κύτταρα της τραχείας υποδεικνύει ανάλογη δράση αυτών με τα χημειοαισθητικά κύτταρα της ρινικής κοιλότητας και των παραρρινίων κόλπων (Devillier et al.2015).

3.3.3 ΚΥΣΤΙΚΗ ΙΝΩΣΗ

Η κυστική ίνωση (CF, Cystic Fibrosis) είναι μια αυτοσωμική υπολειπόμενη διαταραχή, γενετικά χαρακτηριζόμενη από τη μετάλλαξη ΔF508 της πρωτεΐνης CFTR, Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator. Η συγκεκριμένη πρωτεΐνη είναι ένα επιθηλιακό κανάλι Cl⁻ υπεύθυνο για τη μεταφορά ιόντων και νερού διαμέσου των επιθηλίων.

Η κυστική ίνωση χαρακτηρίζεται κλινικά από χρόνιες βακτηριακές λοιμώξεις, βρογχεκτασία και την παραγωγή υπερβολικά κολλώδους (λόγω αυξημένου ιξώδους) βλέννας στους αεραγωγούς και στους παγκρεατικούς πόρους που προκαλεί αποφράξεις και φλεγμονή.

Γενετικές μελέτες απέδειξαν ότι άτομα με γονότυπο PAV/PAV του T2R38 είναι λιγότερο επιρρεπή σε χρόνια παραρρινοκολπίτιδα. Θεωρείται πως στα επιθηλιακά κύτταρα ασθενών με κυστική ίνωση οι T2Rs μεσολαβούν στις αμυντικές αποκρίσεις έναντι των βακτηριακών εισβολέων μέσω αναγνώρισης των μεταβολιτών που αυτοί εκκρίνουν. Τα δεδομένα που έχουν προκύψει για τη συμμετοχή των T2Rs στην γραμμή άμυνας στην κυστική ίνωση, προσανατολίζουν προς μια διπολική θεραπευτική αντιμετώπιση αυτής, αντιμικροβιακή αγωγή και ενίσχυση της πάσχουσας άμυνας (Shaik et al. 2016).

3.4 ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Η αντίχνευση θρεπτικών συστατικών και η αποφυγή επιβλαβών ουσιών βασίζεται σε δυο βασικά συστήματα, το αισθητηριακό γευστικό και το γαστρεντερικό (Uneyama & Iwatsuki 2012). Το γαστρεντερικό σύστημα (GI, gastrointestinal system) αποτελεί αισθητικό όργανο με την ικανότητα να προσλαμβάνει και να απαντά σε σήματα προερχόμενα από τον αυλό του. Η αντίχνευση του περιεχομένου του αυλού (θρεπτικά συστατικά, δυνητικά επικίνδυνες ουσίες, μηχανικά δρώντες παράγοντες, μικροοργανισμοί, φάρμακα και τοξίνες) κινητοποιεί ορμονικά και νευρικά μονοπάτια και μετέχει στη ρύθμιση του μεταβολισμού μέσω των λειτουργιών της πέψης, της απορρόφησης, της πρόσληψης τροφής, της έκκρισης ινσουλίνης (Rozengurt & Sternini, 2007). Το έντερο αποτελεί το μεγαλύτερο ενδοκρινικό όργανο και πηγή γαστρεντερικών ορμονών (Lu et al. 2017).

Ιστορικά το γαστρεντερικό σύστημα αποτέλεσε την πρωταρχική εξωστοματική εντόπιση μορίων σχετιζόμενων με την μεταγωγική οδό των T2Rs. Η ανακάλυψη της έκφρασης γευσίνης στο έντερο το 1996 από τους Höfer et al. ουσιαστικά διαμόρφωσε ένα νέο ευρύτατο πεδίο μελετών γύρω από τους υποδοχείς γεύσης γενικά και ειδικότερα για τους υποδοχείς πικρής γεύσης.

Οι περισσότερες GPCRs εκφράζονται στο γαστρεντερικό των θηλαστικών. Από την οικογένεια των υποδοχέων γεύσης οι πρώτοι που αναγνωρίστηκαν ήταν οι T2Rs, μέσω της έκφρασης *Tas2r* γονιδίων στο στομάχι αρουραίου. Αργότερα επιβεβαιώθηκε η έκφραση της πλειοψηφίας των *Tas2rs* σε όλο το γαστρεντερικό τρωκτικών, αλλά και σε ανάλογες μελέτες εντερικών ιστών και κυτταρικών σειρών από το γαστρεντερικό σύστημα ανθρώπων η έκφραση των περισσότερων *TAS2R* γονιδίων (Behrens & Meyerhof 2011).

Έκφραση στο παχύ έντερο ανθρώπου mRNA μεταγράφων αναφέρθηκε για τους

T2R3, 4, 5, 10, 13, 38, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 49, 50, 60 (Rozengurt & Sterini 2007).

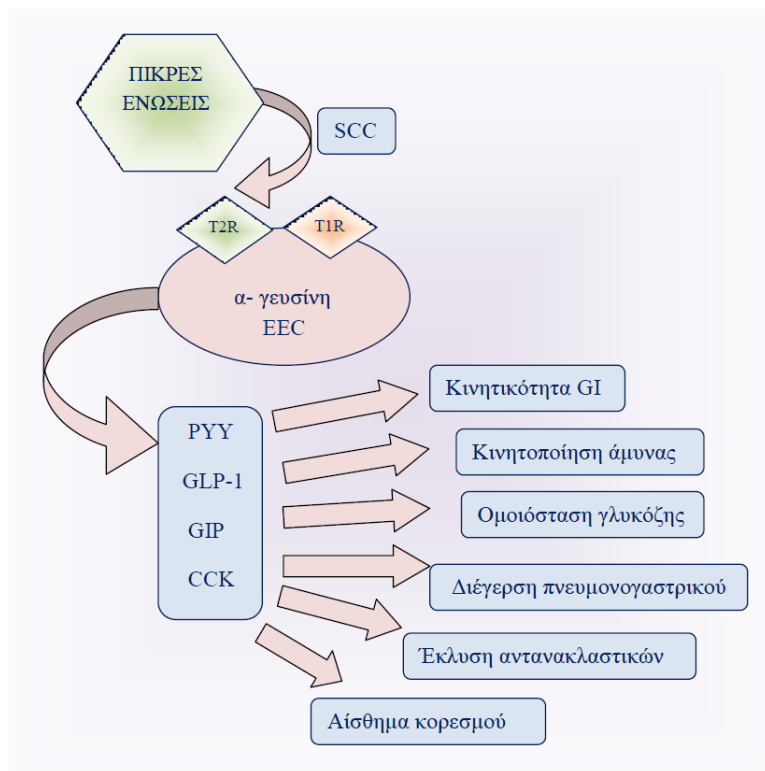
Μόρια της μεταγωγικής οδού χρησιμοποιήθηκαν συχνά ως δείκτες αντίχνευσης των υποδοχέων (Behrens & Meyerhof 2011). Βρέθηκε έκφραση TRPM-5 και PLCβ2 σε βλεννογονικά κύτταρα στο σώμα του στομάχου ποντικού (Yamamoto & Ishimaru 2013). Ωστόσο δεν είναι γνωστό αν ολόκληρη η μεταγωγική οδός εκφράζεται και σε ποια έκταση είναι λειτουργική στο γαστρεντερικό. Θεωρείται πως υπάρχουν σημαντικές διαφορές ανάλογα με την ανατομική περιοχή και το είδος του οργανισμού (Avau & Depoorter 2016).

Διάφοροι κυτταρικοί τύποι εκφράζουν T2Rs στο γαστρεντερικό σύστημα.

Ο πρώτος τύπος είναι τα ψηκτροειδή κύτταρα (tuft cells, θυσανωτά), τα κύτταρα όπου ανιχνεύθηκε αρχικά η α-γευσίνη εκτός στοματικής κοιλότητας (Yamamoto & Ishimaru 2013).

Αναφέρονται επίσης ως Μονήρη χημειοαισθητικά κύτταρα (SCCs, Solitary Chemosensory Cells). Αυτά έχουν πολλά κοινά μορφολογικά χαρακτηριστικά με τα γευστικά TRCs, είναι επιμήκη και φέρουν μικρολάχνες στην κορυφαία επιφάνειά τους. Γενικά είναι παρόντα σε επιθήλια οργάνων που έρχονται άμεσα σε επαφή με το εξωτερικό περιβάλλον. Στο γαστρεντερικό προφανώς χρησιμοποιούνται ως ανιχνευτές του εντερικού αυλού (Avau & Depoorter 2016).

Δεύτερος τύπος κυττάρου είναι τα εντεροενδοκρινικά (EECs, Enteroendocrine cells) διασκορπισμένα, στο επιθήλιο όλου του γαστρεντερικού από το στόμαχο ως το ορθό, ανάμεσα στα επιθηλιακά κύτταρα, χαρακτηριζόμενα από την μεγάλη ανομοιογένειά τους (Behrens & Meyerhof 2011). Είναι υπεύθυνα για την έκκριση εντερικών ορμονών όπως CCK (χολοκυστοκίνη), GLP-1 (Glucagon-like peptide), PYY (peptide YY), σωματοστατίνη, γρελίνη και σεροτονίνη. Μέσω αυτών επιτυγχάνεται ρύθμιση της διατροφικής πρόσληψης και της έκκρισης ινσουλίνης. Διακρίνονται τουλάχιστον δέκα διαφορετικοί τύποι EECs, ανάλογα με το εκκριτικό προϊόν τους. Αντιπροσωπευτικά εντεροενδοκρινικά κύτταρα, είναι τα K και L, που εκκρίνουν GIP (Glucose- dependent insulinotropic peptide) και GLP-1 αντίστοιχα (Yamamoto & Ishimaru 2013). Τα EECs κινητοποιούνται για έκκριση από το περιεχόμενο του γαστρικού αυλού μέσω υποδοχέων GPCRs, συμπεριλαμβανομένων και των T2R. Μελέτες *in vivo* έχουν δείξει την ικανότητα αυτών των κυττάρων να ρυθμίζουν την γλυκόζη πλάσματος και την απορρόφηση τοξικών ουσιών, με την έκκριση ορμονών (Lu et al. 2017).



Οι λειτουργίες που ενδεχομένως οι υποδοχείς γεύσης ασκούν στο γαστρεντερικό εμφανίζονται συνοπτικά στην Εικόνα 12.

Εικόνα 12: Λειτουργίες του γαστρεντερικού όπου ενέχονται T2Rs.

3.4.1 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΟΡΕΞΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΤΡΟΦΗΣ

Δεδομένα πολλών ερευνών δείχνουν την έκφραση των T2Rs, της α-γευσίνης και της α-μεταγωγίνης σε όλο το μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα σε ανθρώπους, τρωκτικά και γουρούνια. Έκφραση των μορίων μεταγωγής των T2Rs εμφανίζεται σε μονήρη χημειοαισθητικά, ψηκτροειδή κύτταρα (SCCs) που βρίσκονται διάσπαρτα στα επιθήλια σε αντίθεση με τα TRCs της γλώσσας που είναι συγκεντρωμένα στους γευστικούς κάλυκες.

Οι Sutherland et al. το 2007 βρήκαν α-γευσίνη σε ECCs που εκκρίνουν σεροτονίνη και GLP-1 και σε SCCs στο λεπτό έντερο ποντικίου. Στο στομάχι ποντικού τα SCCs που εκφράζουν την α-γευσίνη γειτνιάζουν με κύτταρα που εκκρίνουν γρελίνη και σεροτονίνη. Έκφραση α-γευσίνης εντοπίζεται σε EECs στο ορθό ανθρώπου, που εκκρίνουν GLP-1 και PYY.

Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι τα ψηκτροειδή κύτταρα (SCCs) στο γαστρεντερικό σύστημα εκπληρώνουν την χημειοαισθητική λειτουργία τους και ταυτόχρονα επικοινωνούν με εντεροενδοκρινικά κύτταρα (EECs) στενά συνδεδεμένα με αυτά, διεγείροντας την έκκριση ορμονών προς τον αυλό (Avau & Depoorter 2016).

Οι Bezecou et al. το 2008 ανέφεραν ότι τα περισσότερα κύτταρα που εκφράζουν TRPM-5 είναι SCCs, τα οποία ταυτόχρονα εμπεριέχουν άλλα μόρια της κανονικής μεταγωγικής οδού αλλά και δείκτες χολινεργικής σηματοδότησης. Όταν αυτά τα κύτταρα διεγερθούν με δενατόνιο, απαντούν με αύξηση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης Ca^{2+} . Τα γειτονικά τους επιθηλιακά κύτταρα εμφανίζουν επίσης αύξηση της συγκέντρωσης Ca^{2+} με καθυστέρηση. Η παρατήρηση αυτή ενισχύει την υπόθεση ότι τα SCCs «αισθάνονται» το εντερικό περιεχόμενο και επικοινωνούν με τα επιθηλιακά κύτταρα.

Έρευνες έδειξαν ότι ανθρώπινα EECs τα HuTu-80, εκφράζουν τον T2R14. Η διέγερση του με εκχύλισμα από Hoodia Gordonii, φυσικό αγωνιστή, επάγει την απελευθέρωση της χολοκυστοκινίνης (CCK). Ανάλογα, τα ανθρώπινα EECs NCI-H716 όταν διεγερθούν με πικρούς αγωνιστές όπως οφλοξασίνη, κινίνη, βενζοϊκό δενατόνιο, εκχύλισμα Gentiana Scabra, εμφανίζουν μια δόσοεξαρτώμενη αύξηση έκκρισης GLP-1, μέσω της κανονικής μεταγωγικής οδού των T2Rs (Avau & Depoorter 2016).

Αρκετές μελέτες συσχετίζουν έμμεσα τους υποδοχείς πικρής γεύσης και τους αγωνιστές τους με την τροποποίηση της διατροφικής συμπεριφοράς.

Ενδογαστρική έγχυση βενζοϊκού δενατονίου, PTC, σαλικίνης και PROP σε ποντίκια προκαλεί αύξηση της γρελίνης στο πλάσμα μέσω της οδού της α -γευσίνης, μικρής διάρκειας αύξηση της όρεξης και της πρόσληψης τροφής και στη συνέχεια μεγαλύτερης διάρκειας ελάττωση της διατροφικής πρόσληψης λόγω μειωμένης γαστρικής κινητικότητας και μειωμένης γαστρικής κένωσης.

Ενδογαστρική έγχυση μίγματος πικρών ουσιών σε τρωκτικά επιφέρει ενεργοποίηση του στελέχους και εγκεφαλικών περιοχών σχετιζόμενων με συμπεριφορές αποστροφής, μέσω διέγερσης του πνευμονογαστρικού νεύρου και με τη μεσολάβηση υποδοχέων CCK-1 και Y-2 .

Τα προαναφερθέντα ευρήματα εδραιώνουν τη θεώρηση των EECs ως αναλόγων των TRCs.

«Αισθάνονται» τα πικρά γευσιγόνα και εκκρίνουν γαστρικά πεπτίδια. Η έκκριση πεπτιδίων με ανορεξιογόνο δράση σαν απάντηση σε πικρές ενώσεις ίσως αποτελεί μηχανισμό περιορισμού της πρόσληψης τοξικών ουσιών, όταν αυτές έχουν καταφέρει να περάσουν τον αρχικό έλεγχο στο στοματοφάρυγγα.

Το 2008 οι Jeon et al., ανέφεραν ότι η έκφραση του *mTas2r138* (ποντικίου), ομόλογου του *hTAS2R38* (ανθρώπου), που ενεργοποιείται από το PTC, στο έντερο του ποντικίου ρυθμίζεται από τον μεταγραφικό παράγοντα SREBR2 (Sterol Regulatory Element Binding Protein 2). Σε εφαρμογή δίαιτας χαμηλής σε χοληστερόλη η έκφρασή του αυξάνεται μέσω του SREBR2. Επίσης, η εφαρμογή δίαιτας χαμηλής σε χοληστερόλη επιφέρει αύξηση έκφρασης των *mTas2rs* και αύξηση έκκρισης CCK. Οι παρατηρούμενες αντιδράσεις πιθανότατα λειτουργούν προστατευτικά σε περιπτώσεις απόλυτης χορτοφαγικής δίαιτας, που είναι τυπικά χαμηλή σε χοληστερόλη αλλά συνοδεύεται από κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων βοτάνων και φυτικών τοξινών.

Ενδιαφέρον εύρημα είναι ότι η έγχυση πικρών γευσιγόνων στον βλεννογόνο παχέος εντέρου ανθρώπου και ποντικίου προκαλεί αυξημένη έκκριση ανιόντων, μεσολαβούμενη από προσταγλανδίνες. Η αντίδραση αυτή κάνει πιθανή τη συμμετοχή των TAS2Rs στη ρύθμιση όχι μόνο της πρόσληψης αλλά και της αποβολής των τοξινών από το έντερο (Avau & Depoorter 2016).

3.4.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΙΣ ΛΕΙΕΣ ΜΥΪΚΕΣ ΙΝΕΣ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ

Έρευνες έδειξαν την έκφραση *mTas2r108*, *137* σε λείες μυϊκές ίνες σε όλο τον γαστρεντερικό σωλήνα και *hTAS2R3,4,10* σε λείες μυϊκές ίνες του στομάχου.

Εφαρμογή δενατονίου, χλωροκίνης και PTC προκαλούν αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης Ca^{2+} και τροποποίηση της συσπαστικότητας ανάλογα με την περιοχή εφαρμογής

και με την συγκέντρωση των χορηγουμένων ουσιών (Avau et al. 2015). Πικρά γευσιγόνα προκαλούν σύσπαση όταν εφαρμόζονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, <100μM για το δενατόνιο, και χαλάρωση σε υψηλές, > 500μM δενατονίου (Lu et al.2017).

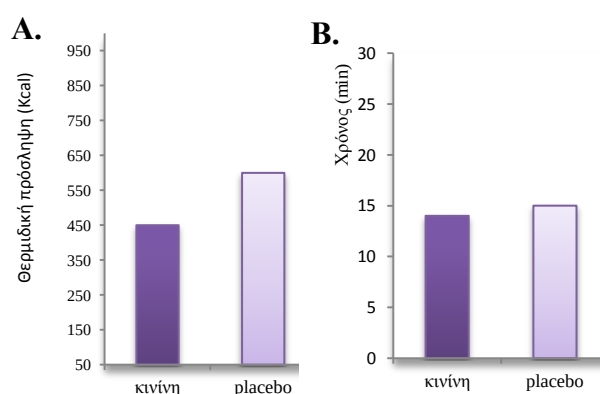
Ο στόμαχος ανατομικά διαιρείται στο θόλο, αποθηκευτικό διαμέρισμα, στο σώμα, όπου διεκπεραιώνεται η πέψη και στο άντρο, περιοχή με άφθονα EECs (Yamamoto & Ishimaru 2013). Ενδογαστρική έγχυση δενατονίου προκαλεί καθυστέρηση της γαστρικής κένωσης εξαρτώμενη από τους T2Rs. Συγκεκριμένα σε πειράματα με ενδογαστρική έγχυση δενατονίου σε υγιείς εθελοντές, σιτιζόμενους από το στόμα, παρατηρήθηκε διαταραχή στη χάλαση της περιοχής του γαστρικού θόλου, μείωση του ανεχόμενου όγκου τροφής και αύξηση της αίσθησης κορεσμού. Τα ευρήματα αυτά αποτελούν μια επιπλέον ένδειξη προστατευτικού ρόλου των πικρών υποδοχέων έναντι της κατανάλωσης πικρών - τοξικών ουσιών (Avau et al. 2015). Η προστατευτική δράση των T2Rs τους καθιστά πολύτιμους για την ανάπτυξη φαρμακευτικών παραγόντων για τη θεραπεία γαστρεντερικών διαταραχών κινητικής φύσης (Lu et al.2017).

3.4.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΜΙΔΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ

Ιδιαίτερα σημαντικά είναι τα ευρήματα της έρευνας των Andreozzi et al., οι οποίοι το 2015 ανέφεραν ότι η ενδογαστρική έγχυση αγωνιστών πικρών υποδοχέων, σε υγιείς εθελοντές, είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση της θερμιδικής πρόσληψης κατά περίπου 15% καθώς και της διάρκειας του γεύματος, όπως ενδεικτικά φαίνεται στο Σχήμα 3. Η δράση εκδηλώνεται μέσω εντερικών T2Rs και έκκριση ορμονών και είναι άμεσα συσχετιζόμενη με την ικανότητα γεύσης του PTC.

Η παρούσα έρευνα έδειξε ότι η χορήγηση T2R αγωνιστή, της κινίνης (ανθελονοσιακό φάρμακο) δεν επηρέασε τα επίπεδα της

έκκρισης γρελίνης αλλά αύξησε σημαντικά την CCK, κατά το μετααπορροφητικό στάδιο, εξηγώντας μερικά την ελάττωση της θερμιδικής πρόσληψης. Η οδός μεταγωγής των ερεθισμάτων μέσω T2Rs για το γαστρεντερικό, είναι σύνθετη και πέρα από την κανονική οδό



Σχήμα 3 : Επίδραση της κινίνης στη θερμιδική πρόσληψη και τη διάρκεια του γεύματος.

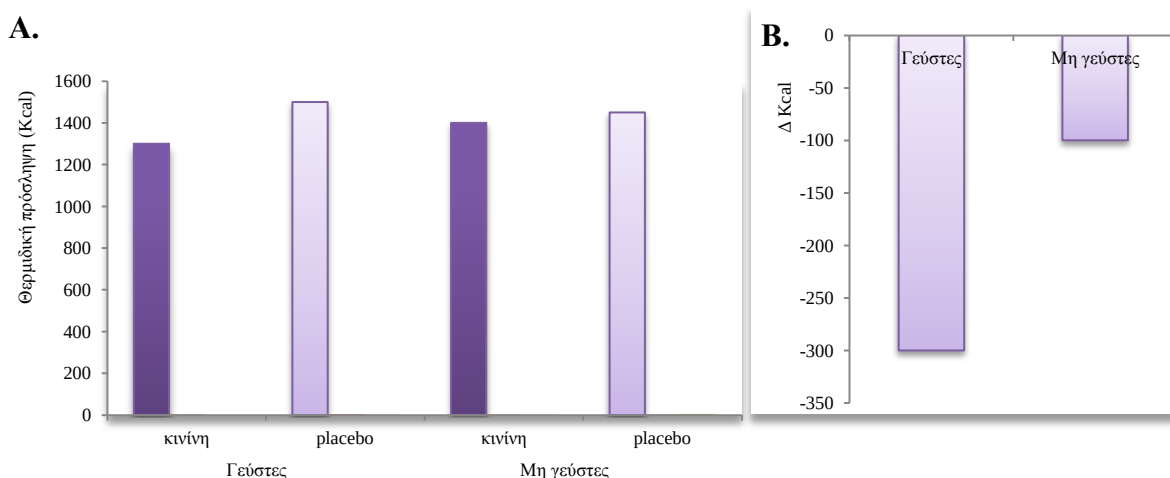
A. Η θερμιδική πρόσληψη βρέθηκε στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη για τους γεύστες μετά από λήψη κινίνης ($p=0,007$).

B. Η διάρκεια του γεύματος δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,403$).

(Andreozzi et al., 2015)

περιλαμβάνει άλλους μηχανισμούς με τη μεσολάβηση νευρικών αντανακλαστικών, παρακρινικών και ενδοκρινικών μονοπατιών που ρυθμίζουν την όρεξη.

Η εμφανιζόμενη μείωση της θερμιδικής πρόσληψης είναι άσχετη με την γαστρική κινητικότητα. Με δεδομένο πως η ευαισθησία στην αίσθηση της πικρής γεύσης είναι γενετικά καθοριζόμενη και τα άτομα διακρίνονται ανάλογα με την ικανότητα γεύσης του PTC σε γεύστες και μη γεύστες, και θεωρώντας ότι οι μηχανισμοί μεταγωγής των ερεθισμάτων στην στοματική κοιλότητα και στο έντερο προσομοιάζουν σε μεγάλο βαθμό, εντάχθηκε στην έρευνα ο έλεγχος ικανότητας γεύσης του PTC. Είναι αξιοσημείωτο ότι τα αποτελέσματα της κίνησης στην θερμιδική πρόσληψη επηρέασαν μόνο τους γεύστες, όπως ενδεικτικά φαίνεται στο Σχήμα 4 .



Σχήμα 4 : Συσχετισμός ικανότητας γεύσης PTC και μείωσης της θερμιδικής πρόσληψης

A. Η θερμιδική πρόσληψη μετά τη λήψη υδροχλωρικής κινίνης συγκρινόμενη με λήψη placebo, ήταν μικρότερη σε στατιστικά σημαντικά επίπεδο ($p=0,005$), για τους γεύστες PTC. Στους μη γεύστες δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά.

B. Η διαφορά θερμιδικής πρόσληψης $\Delta\text{kcal} = \text{kcal}(\text{λήψη placebo}) - \text{kcal}(\text{λήψη κινίνης})$, επίσης ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη για τους γεύστες ($p=0,034$) συγκρινόμενη με τους μη γεύστες.

3.4.4 ΥΠΕΡΕΚΦΡΑΣΗ T2R38 ΣΤΑ EECs ΣΤΟΝ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΟ ΤΟΥ ΟΡΘΟΥ

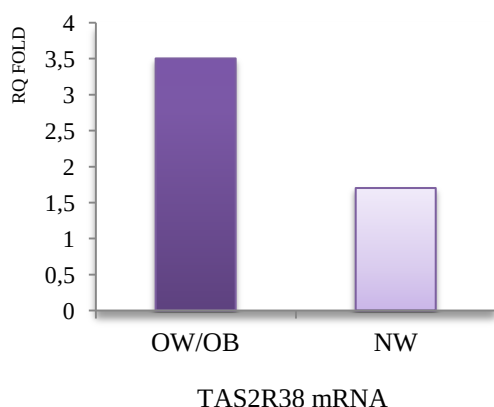
ΣΕ ΥΠΕΡΒΑΡΑ –ΠΑΧΥΣΑΡΚΑ ΑΤΟΜΑ

Υπάρχουν ευρήματα των τελευταίων ετών, που υποδεικνύουν ότι η παχυσαρκία σχετίζεται με αλλαγές στη μικροβιακή μικροχλωρίδα του εντερικού αυλού. Παρατηρείται αύξηση του λόγου Firmicutes/Bacteroidetes με συνέπεια μια ήπια χρόνια φλεγμονή στο έντερο, αρχικό στάδιο μιας γενικότερης μεταβολικής απορρύθμισης. Το ορθό είναι η περιοχή με την υψηλότερη μικροβιακή πυκνότητα, 10^{11} - 10^{12} per gram, αποικιζόμενο από περίπου χίλια διαφορετικά είδη. Δίαιτες που προάγουν την εμφάνιση παχυσαρκίας, όπως η υπερκατανάλωση

λιπαρών, αλλάζουν την σύσταση του μικροβιακού πληθυσμού. Στο ορθό ποντικίων ο T2R138, ορθόλογος του ανθρώπινου T2R38, εντοπίζεται σε EECs και η έκφρασή του ρυθμίζεται αυξητικά μετά από μακροχρόνια δίαιτα υψηλή σε λιπαρά, η οποία σχετίζεται με την εμφάνιση παχυσαρκίας (Latorre et al. 2016).

Από τον συνδυασμό των ευρημάτων αυτών, εύλογα διαμορφώνεται η υπόθεση πως ο T2R38 «αισθάνεται» τα μικρόβια ή τα προϊόντα τους και μετέχει στην απάντηση που αυτά κινητοποιούν μέσω της ενεργοποίησης των ECCs.

Οι Lattore et al., (2016) ερευνήσαν αν η έκφραση του T2R38, διαφέρει σε άτομα υπέρβαρα-παχύσαρκα, OW/OB overweight/obese, συγκρινόμενη με εκείνη σε άτομα φυσιολογικού βάρους NW, normal weight. Αναζήτησαν επίσης τους τύπους των κυττάρων που εκφράζουν τον T2R38 στο ανθρώπινο ορθό. Η έρευνα χρησιμοποίησε ποσοτική RT-PCR και ανοσοϊστοχημικές τεχνικές, με αντισώματα έναντι T2R38, χρωμογραφίνης CgA, CCK, GLP-1,



Σχήμα 5: Επίπεδα T2R38 mRNA στον βλεννογόνο ορθού σε OW/OB και NW. Τα επίπεδα T2R38 mRNA αναλύθηκαν με RT-PCR και κανικοποιήθηκαν με 18S RNA. Τα επίπεδα T2R38 mRNA δεν ήταν στατιστικά σημαντικά ($P = 0.06$) υψηλότερα στα OW/OB άτομα συγκρινόμενα με τα NW (Latorre et al. 2016).

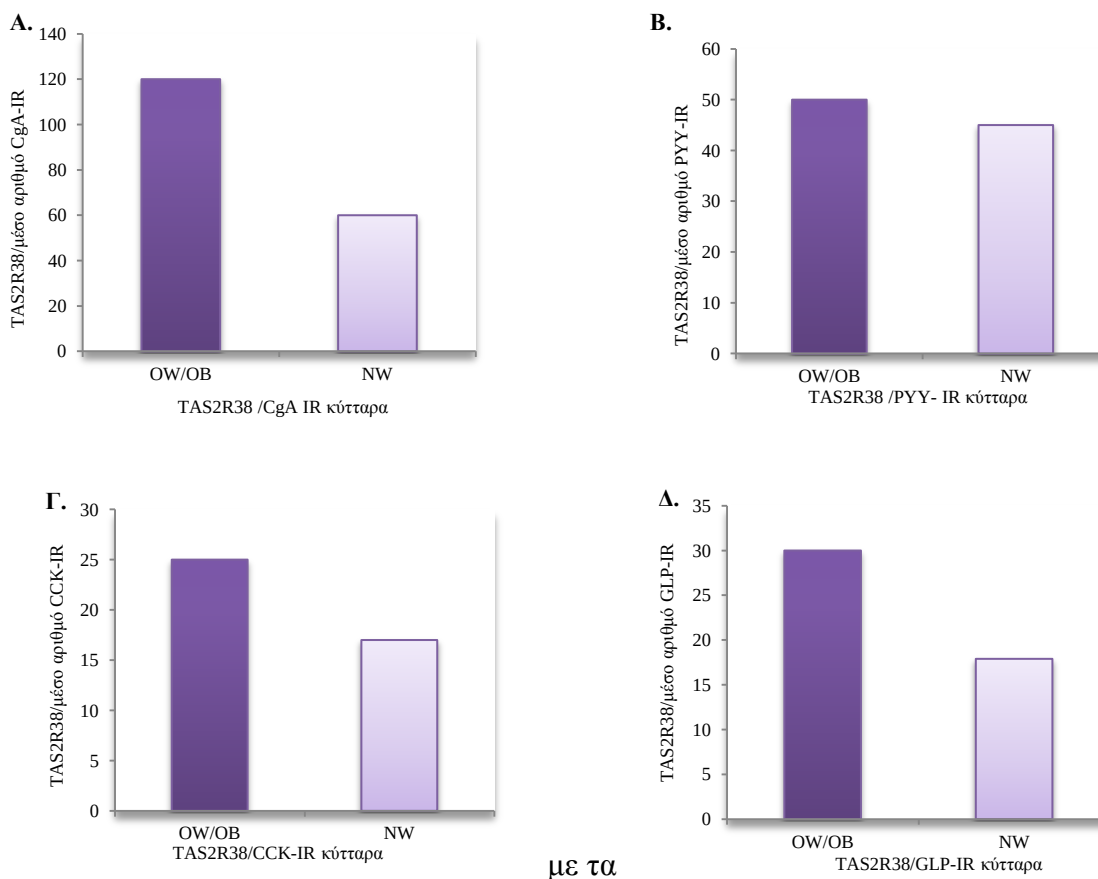
PYY και βασίστηκε σε βιοψίες 35 υγιών, 20 OW/OB και 15 NW.

Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι τα επίπεδα mRNA T2R38 στο βλεννογόνο των OW/OB ήταν υπερδιπλάσια από εκείνα στους NW, αλλά η διαφορά ήταν κάτω από τα όρια στατιστικής σημαντικότητας (Σχήμα 5).

Ωστόσο ο αριθμός των T2R38s ανοσοδραστικών κυττάρων (IR, Immunoreactive cells) βρέθηκε σημαντικά υψηλότερος σε OW/OB έναντι NW ατόμων. Τα κύτταρα που εκφράζουν τον T2R38 ήταν EECs, που εκκρίνουν CCK, GLP-1, PYY (Σχήμα 6).

Συμπεραίνεται επομένως πως ο T2R38 εκφράζεται σε διαφορετικούς πληθυσμούς EECs, στον βλεννογόνο του ανθρώπινου ορθού και η έκφραση αυξάνεται σε OW/OB.

Θεωρείται ότι ο T2R38 ενέχεται στην απάντηση του οργανισμού στην αύξηση της ενεργειακής πρόσληψης και στις ενδοαυλικές αλλαγές που συνοδεύουν την παχυσαρκία μέσω της ρύθμισης έκκρισης πεπτιδίων από τα EECs. Σε πειραματικά μοντέλα, η χορήγηση αντιβίωσης σε άτομα με διαταραγμένη μικροβιακή μικροχλωρίδα λόγω δίαιτας, αναστρέφει την αυξημένη έκφραση του T2R138 ποντικίων. Ενισχύεται επομένως η υπόθεση ότι ο T2R38 αλληλεπιδρά με τα



Σχήμα 6 : Η πυκνότητα T2R38 σε EEC κύτταρα σε OW/OB και NW άτομα

Α. T2R38/CgA-IR κύτταρα

Β. T2R38/PYY-IR κύτταρα

Γ. T2R38/CCK-IR κύτταρα

Δ. T2R38/GLP-1-IR κύτταρα

Έκφραση σαν μέση τιμή $\pm$ SEM. Στατιστικά σημαντική διαφορά $P = 0.01$ βρέθηκε στα T2R38/CgA-IR κύτταρα.

(Latorre et al. 2016)

εντερικά βακτήρια κατά ανάλογο τρόπο με ότι συμβαίνει στο αναπνευστικό σύστημα, όπου ο T2R38 ανιχνεύει βακτηριακά μηνύματα όπως τα μόρια αίσθησης μεγέθους πληθυσμού (quorum sensing molecules), όπως οι λακτόνες ομοσερίνης (AHLs) που ρυθμίζουν την επικοινωνία βακτηρίου-βακτηρίου ή βακτηρίου - ξενιστή και κινητοποιούν την άμυνα (Latorre et al. 2016).

Η ικανότητα των T2Rs, ως χημειοαισθητήρων, να ανιχνεύουν μεταβολές της φυσιολογίας του εντερικού αυλού σε περιπτώσεις αύξησης του σωματικού βάρους, προκαλούμενη από δίαιτα υψηλής ενεργειακής πρόσληψης, επισημαίνει τη σπουδαιότητά τους για νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις της παχυσαρκίας.

3.4.5 ΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΣΗ ΑΜΥΝΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ

Η μικροχλωρίδα του εντέρου των θηλαστικών απαρτίζεται από ποικιλία μικροοργανισμών, βακτήρια, ιούς, μύκητες και παράσιτα. Η μονή στοιβάδα του εντερικού επιθηλίου χρησιμοποιεί διάφορους τρόπους προστασίας από την παρουσία όλων αυτών των μικροβίων.

Το 2016 τρεις διαφορετικές ομάδες απέδειξαν ότι τα SCCs (ψηκτροειδή κύτταρα) χρησιμοποιούν την μεταγωγική οδό της γεύσης για να κινητοποιήσουν αμυντικούς μηχανισμούς ενάντια σε παθογόνα που συχνά αναπτύσσονται μαζί με τα συμβιωτικά μικρόβια.

Αναλυτικότερα τα ψηκτροειδή κύτταρα αντιλαμβάνονται την παρουσία των παθογόνων μέσω της κανονικής μεταγωγικής οδού γεύσης και εκκρίνουν IL-25, η οποία αυξάνει τον αριθμό των λεμφοκυττάρων ILC2s (innate lymphoid cells). Αυτά παράγουν κυτοκίνες IL-4 και IL-13, που προκαλούν την υπερπλασία των ψηκτροειδών και καλυκοειδών (goblet) κυττάρων, επιδρώντας στη διαφοροποίηση των πολυδύναμων εντερικών κυττάρων. Ο μηχανισμός δράσης αν δεν είναι απόλυτα γνωστός, θεωρείται πως προσομοιάζει με αυτόν των SCCs ή των κροσσωτών κυττάρων του αναπνευστικού (Lu et al. 2017)

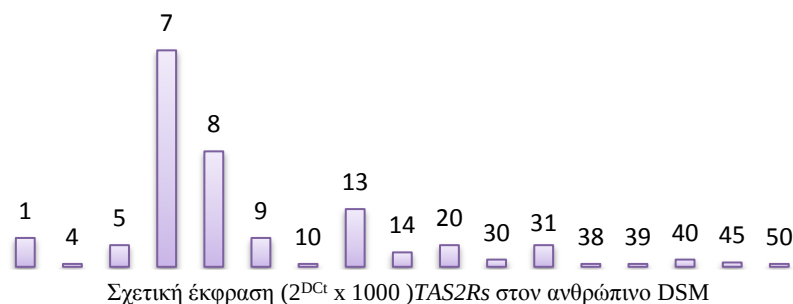
3.5 ΟΥΡΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

3.5.1 T2Rs : ΧΑΛΑΣΗ ΤΟΥ ΕΞΩΣΤΗΡΑ ΤΗΣ ΟΥΡΟΔΟΧΟΥ ΚΥΣΤΗΣ

Οι Zhai et al. (2016) απέδειξαν ότι η ενεργοποίηση των υποδοχέων πικρής γεύσης προκαλούν χαλάρωση του εξωστήρα μυ της ουροδόχου κύστης (DSM ,detrusor smooth muscle) και μπορούν να καταστείλουν τα συμπτώματα της νευρογενούς ουροδόχου κύστης.

Η ουροδόχος κύστη είναι το όργανο συλλογής των παραγομένων από τους νεφρούς ούρων, πριν αυτά απεκκριθούν από το σώμα. Δυσλειτουργίες της κύστης, όπως η υπερτονικότητα συνοδεύονται από δυσάρεστα συμπτώματα, όπως η επιτακτική ούρηση, η συχνουρία και η νυκτουρία και υποβιβάζουν την ποιότητα ζωής. Η αιτιολογία της νευρογενούς ή υπερδραστικής κύστης είναι σύνθετη. Πρωταρχική διαταραχή θεωρείται η ασυνέργεια συστολής του εξωστήρα μυ της κύστης και χαλασής του σφιγκτήρα. Ο επιπολασμός της ανέρχεται σε 11.8% στο γενικό πληθυσμό και εμφανίζει γραμμική αύξηση με την ηλικία, αγγίζοντας το 30.9% σε άτομα άνω των 65 ετών. Πρώτης γραμμής φάρμακα για την αντιμετώπιση της συμπτωματολογίας της μέχρι τώρα ήταν τα αντιχολινεργικά.

Μετά την ανακάλυψη της ευρύτατης κατανομής των υποδοχέων της υπεροικογένειας των GPCRs και ειδικότερα των TAS2Rs σε εξωστοματικούς ιστούς, αυτοί εύλογα αποτελούν το βασικό στόχο για το 40% περίπου των νεοεισερχομένων στην ιατρική πρακτική φαρμάκων.



Σχήμα 7: Τα γονίδια TAS2R που εκφράζονται στον DSM του ανθρώπου (Zhai et al. 2016)

Οι ερευνητές της ομάδας Zhai et al. (2016), μελέτησαν την έκφραση των TAS2Rs στον λείο μυϊκό ιστό του εξωστήρα μυ της κύστης, σε ιστοτεμάχια ανθρώπου και ποντικού. Απέδειξαν την έκφραση mRNA υποτύπων των

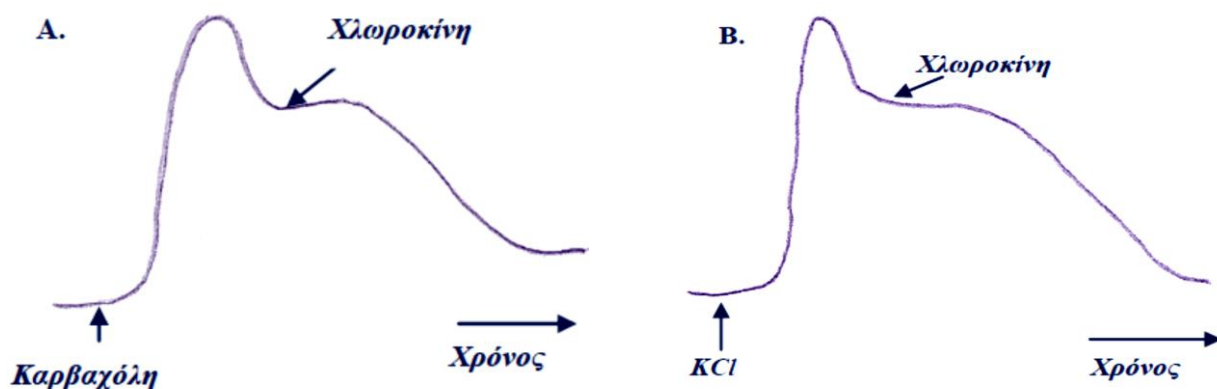
TAS2Rs χρησιμοποιώντας ποσοτική PCR αντίστροφης μεταγραφής (RTqPCR).

Τα αποτελέσματα για τον ανθρώπινο μυ ήταν πως τα TAS2R7,8 είναι τα συχνότερα εκφραζόμενα γονίδια. Ακολουθούν με σειρά συχνότητας έκφρασης τα:

TAS2R13 > TAS2R 1 ≈ TAS2R 9 > TAS2R 5 ≈ TAS2R 20 ≈ TAS2R 31. Ελάχιστα ήταν τα επίπεδα ανίχνευσης για τα TAS2R4,10,14,30,38,39,40,45,50. Δεν εκφράζονται οκτώ γονίδια: TAS2R3,16,19,41,42,43,46,60. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι αγωνιστές των TAS2Rs όπως η χλωροκίνη, το δενατόνιο και η κινίνη με δόσοεξαρτώμενη δράση , προκαλούν χαλάρωση ινών

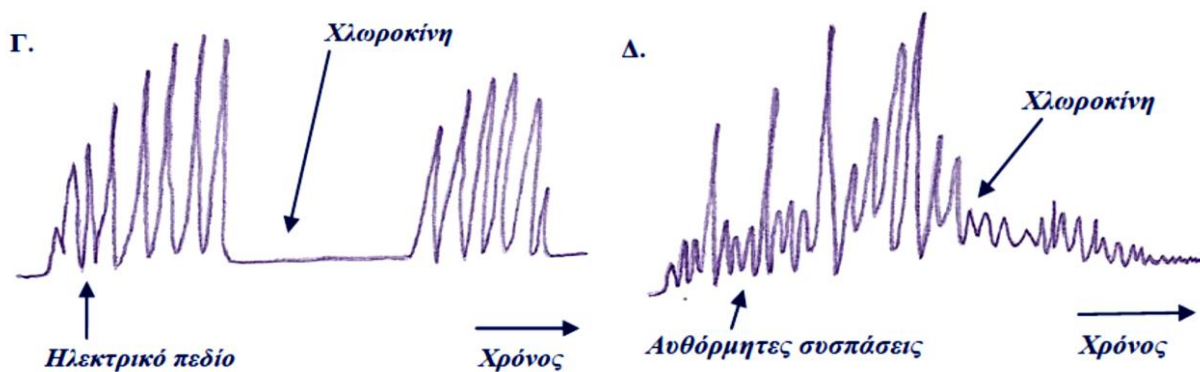
DSM ανθρώπου, που συσπάται υπό την επίδραση καρβαχόλης και KCl, ενώ 100μM χλωροκίνης εμποδίζουν την αυθόρμητη ή την προκαλούμενη από εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου σύσπαση του DSM.

Η χλωροκίνη διεγείρει τους T2R 3,7,10,39 υποδοχείς. Δεν επηρεάζει το βασικό μυϊκό τόνο αλλά επιφέρει χάλαση του μυός σε συγκεντρώσεις 100 nM- 3mM .



A. Επίδραση χλωροκίνης σε σύσπαση από καρβαχόλη

B. Επίδραση χλωροκίνης σε σύσπαση από KCl



Γ. Επίδραση χλωροκίνης σε σύσπαση μέσω ηλεκτρικού πεδίου

Δ. Επίδραση χλωροκίνης σε αυθόρμητες συσπάσεις

Σχήμα 8 : Η χαλαρωτική επίδραση της χλωροκίνης σε ανθρώπινο DSM

(Zhai et al. 2016)

In vitro αποδείχτηκε ότι η ενεργοποίηση των T2Rs προκαλεί χαλάρωση του εξωστήρα σε ανθρώπινο ιστό και ιστό ποντικίου. Εφόσον η χάλαση του εξωστήρα αποτελεί τη θεραπευτική προσέγγιση για τη νευρογενή κύστη, επόμενο βήμα των ερευνητών αποτέλεσε η θεραπευτική εφαρμογή της χλωροκίνης.

Η νευρογενής κύστη χαρακτηρίζεται από υπερτροφία του εξωστήρα, που επιφέρει αύξηση του πάχους του μυός και του βάρους της κύστης και αυξημένη εναπόθεση κολλαγόνου, με αποτέλεσμα την αύξηση του λόγου κολλαγόνο/μυς.

Η θεραπεία με 30mg/kg χλωροκίνης για 6 εβδομάδες είχε σαν αποτέλεσμα τη μορφολογική διαφοροποίηση της κύστης και τη βελτίωση της λειτουργικότητάς της, καθώς με την εφαρμογή της παρατηρήθηκε μείωση της υπερτροφίας του μυός και της εναπόθεσης κολλαγόνου. Μελλοντικό βήμα αποτελεί η μελέτη της έκφρασης των TAS2Rs στα επιθηλιακά κύτταρα της κύστης.

3.5.2 TAS2Rs: ΕΚΦΡΑΣΗ ΣΤΑ ΝΕΦΡΙΚΑ ΣΩΛΗΝΑΡΙΑ

Το 2017 η ομάδα των Liang et al., απέδειξε την έκφραση και τη λειτουργικότητα υποδοχέων πικρής γεύσης στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων και στα M-1 κύτταρα, μια κυτταρική σειρά των αθροιστικών σωληναρίων σε ποντίκια. Οι ίδιοι σε προγενέστερη μελέτη είχαν αποδείξει την παρουσία γονιδίων *Tas2r* στους νεφρώνες, τα σπειράματα και το νεφρικό σωληναριακό σύστημα (Liang et al.2017). Στους νεφρούς του ποντικίου εκφράζονται επτά T2Rs και η α-γευσίνη. Η εκτομή κυττάρων θετικών στους T2R105 προκαλεί αύξηση του μεγέθους του σπειράματος και των νεφρικών σωληναρίων, συνοδευόμενη από χαμηλότερη κυτταρική πυκνότητα στο σπείραμα. Από αυτά συμπεραίνεται ο σημαντικός ρόλος των T2R105 στην διατήρηση των δομών και της ομοιόστασης των υγρών και ηλεκτρολυτών του σώματος (Lu et al. 2017).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνάς τους, πικρά αλκαλοειδή όπως το φαινυλοθειοκαρβαμίδιο , η phellodendrine και η copstisine (συστατικά των παραδοσιακών φυτικών κινέζικων φαρμάκων, *Phellodendri chinensis cortex* και *Rhizoma coptidis*) μπορούν να μεταβάλλουν την φυσιολογική κατάσταση των σωληναριακών κυττάρων, με την ενεργοποίηση υποδοχέων πικρής γεύσης, μέσω ενός μηχανισμού εξαρτημένου από την φωσφολιπάση . Αυτές οι πικρές ουσίες φάνηκε να προκαλούν ταχεία αύξηση του ενδοκυττάριου Ca^{2+} , η οποία αναστέλλεται από το U-73122, έναν αναστολέα της φωσφολιπάσης.

Ενδιαφέρον είναι επίσης ότι κατά την ίδια έρευνα, τα *Tas2rs* απουσιάζουν από τους νεφρούς και το λεπτό έντερο νεογνών, την 1^η εβδομάδα μετά τη γέννηση. Εμφανίζονται αργότερα και η έκφρασή τους συμβαδίζει με την σταδιακή ωρίμανση των ιστών.

3.5.3 TAS2Rs: ΕΚΦΡΑΣΗ ΣΕ ΧΗΜΕΙΟΑΙΣΘΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΟΥΡΗΘΡΑΣ

Κατά τους Deckmann et al. (2014) χολινεργικά πολυμορφικά χημειοαισθητικά κύτταρα, με πολλές ομοιότητες με τα χημειοαισθητικά κύτταρα του αναπνευστικού, τα ψηκτροειδή κύτταρα που φέρουν μικρολάχνες στην κορυφαία επιφάνειά τους, εντοπίζονται στην ουρήθρα των

θηλαστικών. Αυτά τα κύτταρα έρχονται σε επαφή με βακτήρια και επιβλαβείς ουσίες, που εισέρχονται στο ουροποιητικό σύστημα. Χαρακτηρίζονται από την ικανότητα ανίχνευσης πιθανά επικίνδυνων ενώσεων (πικρών , ουμάμι) και παράγωγα παθογόνων βακτηρίων, διαθέτουν την κλασσική μεταγωγική οδό των TAS2Rs και απαντούν με απελευθέρωση ακετυλοχολίνης (Ach). Γειτνιάζουν με αισθητικές νευρικές ίνες που φέρουν υποδοχείς Ach.

Η ενεργοποίηση των T2Rs στα χημειοαισθητικά κύτταρα της ουρήθρας εκκινεί ένα αντανακλαστικό τόξο, με αποτέλεσμα την σύσπαση της κύστης (Lu et al. 2017).

Ιδιαίτερη σημασία αποδίδεται στο ότι η εφαρμογή μιας πικρής ουσίας στην ουρήθρα, ενισχύει την λειτουργία του εξωστήρα μυ της ουροδόχου κύστης, δράση με δυνητικές θεραπευτικές εφαρμογές.

Πάνω από 90% των χολινεργικών ψηκτροειδών κυττάρων της ουρήθρας απαντούν σε πικρούς (δενατόνιο) και ουμάμι (L-γλουταμινικό) προσδέτες, αλλά μόνο το ένα-τρίτο αυτών εκφράζουν την α -γευσίνη. Σημαίνουν χαρακτηριστικό των ουρηθρικών χημειοαισθητικών κυττάρων είναι η ταυτόχρονη έκφραση υποδοχέων T1R και T2R και η πολυμορφική απάντηση και στους δυο τύπους ερεθισμάτων, πικρών και ουμάμι. Αυτή η ταυτόχρονη έκφραση υποδοχέων δεν παρατηρείται στους γευστικούς κάλυκες της στοματικής κοιλότητας και του φάρυγγα. Η υποδοχή των ποιοτήτων της πικρής και της ουμάμι γεύσης στο στοματοφάρυγγα μέσω διαφορετικών κυττάρων, έχει λειτουργική σημασία, καθώς το πικρό αντιπροσωπεύει απεχθές ενώ το ουμάμι επιθυμητό ενεργειακά ερέθισμα. Αντίθετα, στο βλεννογόνο άλλων οργάνων και ιστών, όπως στο ουροθήλιο, και οι δυο ποιότητες υποδεικνύουν την παρουσία επιβλαβών ουσιών, στις οποίες συμπεριλαμβάνονται τα βακτηριακά παράγωγα. Κάποια βακτήρια συνθέτουν και εκκρίνουν ουσίες που διεγείρουν τους υποδοχείς του πικρού ,όπως το gram- βακτήριο, *Pseudomonas aeruginosa*, κύριο αίτιο των λοιμώξεων του ουροποιητικού , συχνά προκαλούμενων από τη χρήση ουροκαθετήρα. Η παθογονικότητα ενός άλλου βακτηρίου, του *Proteus mirabilis*, συσχετίζεται θετικά με ουσίες που διεγείρουν ουμάμι υποδοχείς, το γλουταμινικό και τα ελεύθερα αμινοξέα, τα οποία ευνοούν την ανάπτυξη του στα ούρα και το ουροποιητικό. Τα κύτταρα αναγνωρίζουν επίσης στελέχη του E-Coli, κυριότερου αιτίου ουρολοιμώξεων. Επομένως η πολυμορφικότητα των χημειοαισθητικών κυττάρων διευρύνει το φάσμα αντίληψης επικίνδυνων ουσιών στον αυλό της ουρήθρας.

Η ικανότητα των χημειοαισθητικών κυττάρων της ουρήθρας να ελέγχουν το μικροπεριβάλλον του αυλού της για δυνητικά επικίνδυνο περιεχόμενο, αποτελεί χρήσιμο εργαλείο για την ανάπτυξη μεθόδων ελέγχου της κύστης και νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων.

3.6 ΔΕΡΜΑ

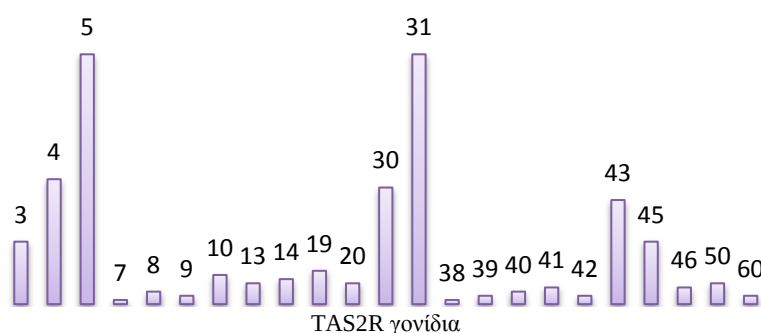
3.6.1 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ

Ο μεγάλος όγκος δεδομένων τα τελευταία χρόνια επιβεβαιώνει τον ευρύτερο ρόλο των T2Rs στην ανθρώπινη υγεία. Ανάμεσα στις εξωστοματικές εντοπίσεις έκφρασης των συγκεκριμένων γονιδίων είναι ιστοί και όργανα που λειτουργούν ως «φραγμοί εισόδου» του οργανισμού, όπως το δέρμα.

Οι Reszka et al (2015) μελέτησαν την έκφραση των T2Rs στο ανθρώπινο δέρμα, *in vitro* σε ιστοτεμάχια από την περιοχή του προσώπου, υγιών δοτών, οι οποίοι υπέστησαν σε χειρουργικές επεμβάσεις για αισθητικούς λόγους. Αναλύθηκε η έκφραση RNA μεταγράφων των 25 TAS2Rs στις βιοψίες (ιστοτεμάχιο 1cm²) 15 εθελοντών, 10 γυναικών και 5 ανδρών, μέσης ηλικίας 58 ετών. Η μέτρηση του επιπέδου μεταγράφων έγινε με ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου.

Αποτέλεσμα της μελέτης ήταν η καθαρή απόδειξη της παρουσίας TAS2Rs στο δέρμα και για άρση κάθε αμφιβολίας αυτού, επισημαίνεται ότι το πρότυπο έκφρασης διέφερε από το παρατηρούμενο σε ανθρώπινα λευκοκύτταρα, αποκλείοντας έτσι την πιθανότητα τα ευρήματα να αποδοθούν σε επιμόλυνση του ιστοτεμαχίου δέρματος από αίμα.

Την υψηλότερη έκφραση από τους 25 υποδοχείς εμφάνισε ο T2R31. Ενδεικτικά τα αποτελέσματα φαίνονται στο Σχήμα 9. Όλα τα μετάγραφα βρέθηκαν σε όλους εκτός των T2R7,8,9,20,38 και 39 που εντοπίστηκαν σε 13/15, 8/15, 13/15, 11/5, 9/15, 10/15 αντίστοιχα. Οι T2R1 και T2R16 δεν εκφράζονται στο δέρμα.



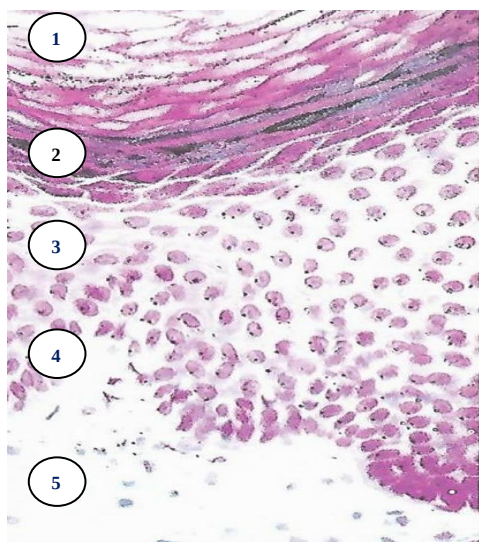
Σχήμα 9: Σχετική έκφραση των μεταγράφων TAS2R γονιδίων στο δέρμα (Reszka et al.2015)

Παράλληλα ευρήματα ήταν ότι η έκφραση των T2Rs διαφοροποιείται ανάλογα με τον τύπο των κυττάρων, με την ηλικία και υποκείμενες παθολογικές καταστάσεις. Ειδικότερα, ιδιαίτερο πρότυπο έκφρασης εμφανίζεται στα επιθηλιακά κύτταρα του μαστού, ενώ η έκφραση κάποιων υποτύπων

T2Rs ρυθμίζεται καθοδικά σε καρκινικά κύτταρα του επιθηλίου του μαστού. Επομένως πιθανότατα παίζουν ρόλο στην καρκινογένεση και δυνητικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην αντιμετώπισή της.

Η ανακάλυψη της έκφρασης των T2Rs στο δέρμα θα μπορούσε να σημάνει για την κλινική πρακτική την ανεύρεση φαρμάκων, T2R ανταγωνιστών και την ανάπτυξη νεοφανών θεραπειών για κατηγορίες νοσημάτων όπως αυτά που αποδίδονται στη μεσολάβηση IgE ανοσοσφαιρινών.

3.6.2 ΕΚΦΡΑΣΗ TAS2R1 ΚΑΙ TAS2R38 ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΤΤΑΡΑ



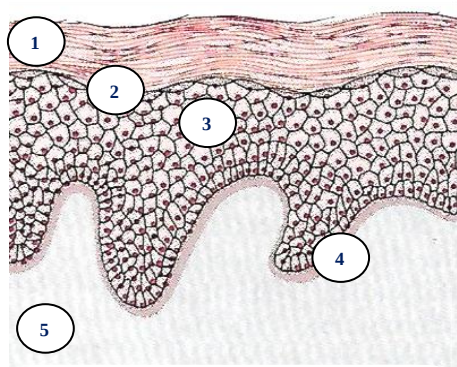
Εικόνα 13 : *Επιδερμίδα*

1. Κεράτινη στιβάδα
2. Κοκκώδης στιβάδα
3. Ακανθωτή στιβάδα
4. Βασική στιβάδα
5. Χόριο

Το δέρμα απαρτίζεται από την μια επιθηλιακή στιβάδα, εξωδερματικής προέλευσης, την επιδερμίδα και μια στιβάδα συνδετικού ιστού, μεσοδερματικής προέλευσης το χόριο. Η επιδερμίδα φέρει κερατινοποιημένο πολύστοιβο πλακώδες επιθήλιο. Λειτουργεί σαν εξωτερικός φραγμός του οργανισμού, παρεμποδίζει την αφυδάτωση μέσω εξάτμισης, προστατεύει από τους μηχανικούς τραυματισμούς τις εσώτερες στοιβάδες και εμποδίζει την είσοδο μικροβίων. Κερατινοκύτταρα καλούνται τα κερατινοποιημένα επιδερμικά κύτταρα. Είναι απύρνα, αποπλατυσμένα κύτταρα με χαρακτηριστικό την παρουσία στο κυτταρόπλασμα της νηματοειδούς σκληροπρωτεΐνης κερατίνης.

Ο Wölflle και οι συνεργάτες του (2015a) σε μελέτες *in situ* και σε καλλιέργειες κυττάρων απέδειξαν την έκφραση των T2R1 και T2R38 στα κερατινοκύτταρα ανθρώπου και ειδικότερα (με χρησιμοποίηση τεχνικών διπλής χρώσης) τη συνύπαρξη των T2R1, T2R38 με την α -γευσίνη σε κύτταρα της σειράς HaCaT και πρωτογενή κερατινοκύτταρα (HPK). Η λειτουργικότητα των υποδοχέων στα κύτταρα HaCaT διερευνήθηκε με τη χρήση δυο προσδετών των T2Rs, της διφαινιδόλης και της αμαρογεντίνης.

Η διφαινιδόλη είναι ένα αντιεμετικό φάρμακο συνθετικός αγωνιστής για 16 T2Rs. Η αμαρογεντίνη είναι η πιο πικρή ουσία στη φύση, συστατικό των φυτών *Swertia chirayita* και *Gentiana lutea*, αγωνιστής των T2R1, 4, 39, 43, 46, 47, 50. Η κυτταρική διέγερση με τις δυο ουσίες επέφερε αύξηση της συγκέντρωσης Ca^{2+} ενδοκυτταρικά, εύρημα σχετιζόμενο με την έκφραση των T2Rs. Ταυτόχρονα υπήρξε ένα δεύτερο εύρημα, η ενεργοποίηση της έκφρασης δεικτών διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων, όπως τα γονίδια της κερατίνης 10, της ινβολουκρίνης και της τρανσγλουταμινάσης 1, που παραπέμπει σε ενδεχόμενο ρόλο των T2Rs στην κυτταρική διαφοροποίηση. Η μελέτη της έκφρασης των δυο υποδοχέων έγινε ανοσοϊστοχημικά. Το πρότυπο χρώσης της επιδερμίδας έδειξε έκφραση των *TAS2R1* και



Εικόνα 14 : *Επιδερμίδα*

1. Κεράτινη στιβάδα
2. Κοκκώδης στιβάδα
3. Ακανθωτή στιβάδα
4. Βασική στιβάδα
5. Χόριο

TAS2R38 σε όλο το πάχος της επιδερμίδας. Στη βασική στιβάδα η χρώση εμφανίζεται μάλλον ασθενής, ενώ η ένταση βαίνει αυξανόμενη από την ακανθωτή προς την κεράτινη στιβάδα.

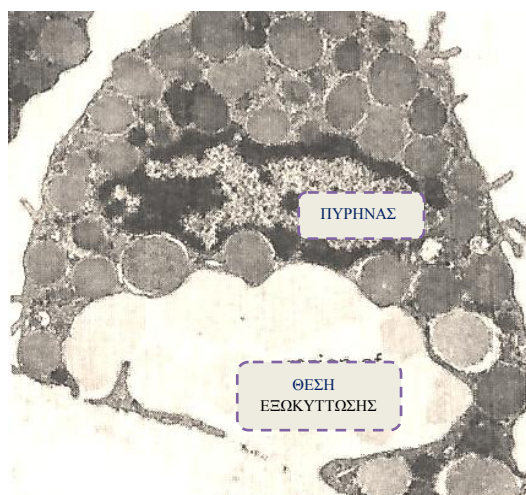
Αναμενόμενη ήταν η έκφραση υποδοχέων, άρα εντόπιση χρώσης στις μεμβράνες. Ωστόσο ανάλογα ευρήματα υπήρξαν στο κυτταρόπλασμα. Μια πρώτη ερμηνεία της κυτταροπλασματικής χρώσης αποτελεί η μεταφορά των T2Rs μετά τη σύνθεσή τους από το ενδοπλασματικό δίκτυο στο σύμπλεγμα Golgi, όπου πραγματοποιείται η επεξεργασία και το πακετάρισμα σε εκκριτικά κοκκία. Ακολουθεί η

ενσωμάτωση των υποδοχέων στην πλασματική μεμβράνη μέσω της σύντηξης των εκκριτικών κοκκίων με αυτήν. Δεύτερη ερμηνεία της εμφάνισης της χρώσης στο κυτταρόπλασμα παρέχουν οι εκτεταμένες μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις των νεοσυνθετιμένων T2Rs, όπως η γλυκοζυλίωση, ο σχηματισμός ολιγομερών και η σύνδεση με G πρωτεΐνες.

Τα ευρήματα των ερευνών των τελευταίων ετών ενισχύουν την άποψη πως ιστοί προερχόμενοι εμβρυολογικά από το εξώδερμα, όπως το δέρμα, τα επιθήλια του στομάχου και του ορθού εκφράζουν υποδοχείς πικρής γεύσης, σε αντίθεση με τους ιστούς που κατάγονται από το μεσόδερμα, όπως ο λεμφικός (Wölflle et al.2015a).

Θέμα για μελλοντική διερεύνηση αποτελεί η αναζήτηση ενδογενών προσδετών των κερατινοκυττάρων. Η τυροσίνη και η ιστιδίνη, γνωστά πικρά αμινοξέα, συστατικά των ενδογενών παραγόντων ενυδάτωσης του δέρματος πιθανότατα αποτελούν ενδογενείς προσδέτες.

3.6.3 ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΑΓΩΝΙΣΤΩΝ ΤΩΝ T2Rs

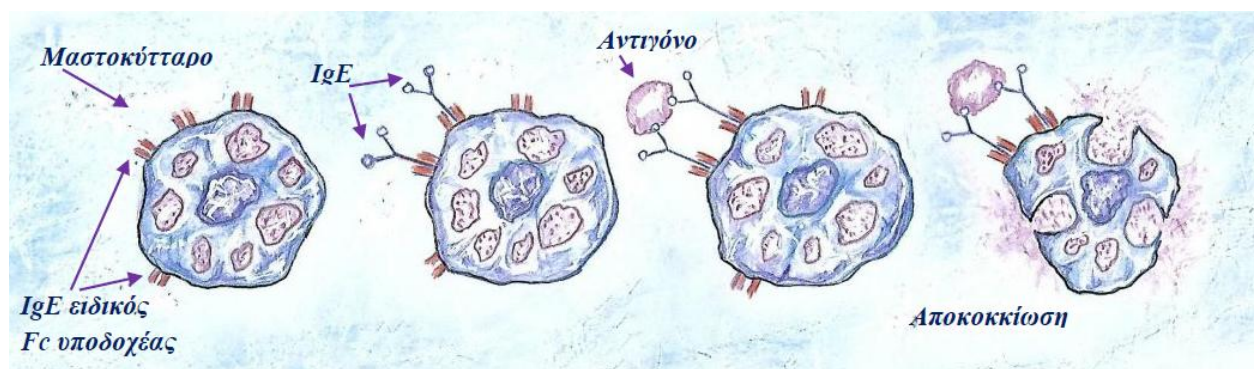


Τα μαστοκύτταρα είναι ένας άλλος τύπος κυττάρων του δέρματος που αποδείχτηκε πως εκφράζουν T2Rs. Βρίσκονται στην επιδερμίδα, όπου έρχονται σε επαφή με εισερχόμενα βακτήρια και εξωγενή αντιγόνα, που αποτελούν ερεθίσματα κινητοποίησης ανοσολογικής απάντησης. Βασικά χαρακτηριστικά των μαστοκυττάρων είναι η σύνθεση και αποθήκευση

Εικόνα 15 : *Μαστοκύτταρο.*

Έκκριση ισταμίνης, Κοκκία ισταμίνης, Εξωκύττωση

σε κυτταροπλασματικά κοκκία ισταμίνης και άλλων μεσολαβητών φλεγμονής (όπως κυτοκίνες, TNF- α) και η εντόπιση στην επιφάνειά τους υποδοχέων για το Fc κλάσμα των ανοσοσφαιρινών IgE. Τα αντιγόνα προσδένονται στις IgE, που βρίσκονται στην μεμβράνη των μαστοκυττάρων, με τρόπο που επιτρέπει να δημιουργούνται διασταυρούμενες συνδέσεις (cross-linking) ανάμεσα σε γειτονικές IgE (Alberts et al.1994). Η αντίδραση αυτή αντιγόνου - αντισώματος επιφέρει την αποκοκκίωση των μαστοκυττάρων και την απελευθέρωση των περιεχομένων μεσολαβητών φλεγμονής, κυρίως ισταμίνης, όπως φαίνεται στην εικόνα 16.



Εικόνα 16 : Αποκοκκίωση των μαστοκυττάρων

Η σύνδεση αντιγόνου στους IgE υποδοχείς στην επιφάνεια και το cross-linking προκαλεί την αποκοκκίωση

Η ισταμίνη σχετίζεται με την εκδήλωση αντιδράσεων υπερευαισθησίας άμεσου τύπου και ενέχεται σε διαδικασίες χρόνιας φλεγμονής, μέσω της πρόσδεσής της σε τέσσερις GPCRs, H1-H4. Υποδοχείς αυτού του τύπου εκφράζονται σε ποικιλία κυττάρων , όπως σε μονοκύτταρα, λεμφοκύτταρα, δενδριτικά κύτταρα, κερατινοκύτταρα. Ειδικότερα η ισταμίνη προάγει την ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων και διεγείρει τα κερατινοκύτταρα μέσω H1 υποδοχέων για αύξηση της έκφρασης προφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-6, χημειοκίνης IL-8, αυξητικού παράγοντα των νευρών (NGF), μεταλλοπρωτεϊνών της μεσοκυττάριας ουσίας (MMPs), ειδικά τις MMP-1 και MMP-9.

Ο NGF εξασφαλίζει τη διατήρηση και αναγέννηση των νευρικών ινών στο φυσιολογικό δέρμα. Ενέχεται επίσης στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων και των μελανοκυττάρων.

Η MMP-1 ή διάμεση κολλαγενάση, τέμνει το κολλαγόνο τύπου I στο χόριο και διεγείρει την MMP-9, που έχει ειδικότητα υποστρώματος για την ελαστίνη και την φμπριλλίνη.

Η τομή των συστατικών της βασικής μεμβράνης επιτρέπει σε T- λεμφοκύτταρα να εισέλθουν στην επιδερμίδα σε καταστάσεις φλεγμονής, όπου μαστοκύτταρα , T-λεμφοκύτταρα και κερατινοκύτταρα αλληλεπιδρούν δημιουργώντας τις φλεγμονώδεις διεργασίες (Wölflle et al.2015b).

Η αποκοκκίωση των μαστοκυττάρων σε χρόνιες φλεγμονές γίνεται μέσω διαφορετικού μηχανισμού, με την εμπλοκή ενός νευριπεπτιδίου, της νευροκινίνης (Substance P, SP). Η SP εκκρίνεται από τις απολήξεις αισθητικών νευρικών ινών και από κύτταρα όπως, μακροφάγα, ηωσινόφιλα, λεμφοκύτταρα, μαστοκύτταρα. Ασκει δράση με τη πρόσδεσή της σε υποδοχείς NK-1, που ανήκουν στην Class1 (προσομοιάζουσες στην ροδοψίνη), των GPCRs. Ενεργεί σαν προφλεγμονώδης παράγοντας και ενέχεται σε φλεγμονώδη νοσήματα του αναπνευστικού, γαστρεντερικού, μυοσκελετικού συστήματος και του δέρματος (O' Connor et al. 2004).

Στην επιδερμίδα υγιούς δέρματος ανευρίσκονται λίγα μαστοκύτταρα. Ο αριθμός των μαστοκυττάρων και το επίπεδο της παραγόμενης από αυτά ισταμίνης είναι εμφανώς υψηλότερα σε καταστάσεις χαρακτηριζόμενες από χρόνια φλεγμονή του δέρματος. Τέτοιες θεωρούνται η ψωρίαση, η ατοπική δερματίτιδα, τα χρόνια έλκη, ο επιθηλιακός δερματικός καρκίνος (Theoharides et al. 2012).

Ασθενείς με ατοπική δερματίτιδα εμφανίζουν ξηρό ρωγμώδες δέρμα. Χαρακτηριστικό στην επιδερμίδα τους είναι η μη φυσιολογική υψηλή πυκνότητα νευρικών ινών, καθώς και το μεγάλο μήκος αυτών, που τους επιτρέπει να φτάνουν στην δερματική επιφάνεια. Η διαταραγμένη νεύρωση ευθύνεται για τον έντονο κνησμό που εμφανίζεται στα άτομα αυτά. Την επέκταση και επιμήκυνση των νευρικών ινών προάγει ο παραγόμενος από τα κερατινοκύτταρα NGF. Αύξηση έκφρασης του NGF και των υποδοχέων του εμφανίζεται επίσης στις ψωριασικές δερματικές βλάβες, τις ψωριασικές πλάκες.

Η αύξηση της παραγωγής NGF από τα κερατινοκύτταρα διεγείρεται από την ισταμίνη και τον TNF- α , που εκκρίνουν τα μαστοκύτταρα της επιδερμίδας.

Μετά τη σταδιακή ανακάλυψη της έκφρασης των T2Rs σε ολόένα και περισσότερους εξωγευστικούς ιστούς, η έρευνα των φαρμακολογικών δράσεων των αγωνιστών τους τα τελευταία έτη διαρκώς διευρύνεται.

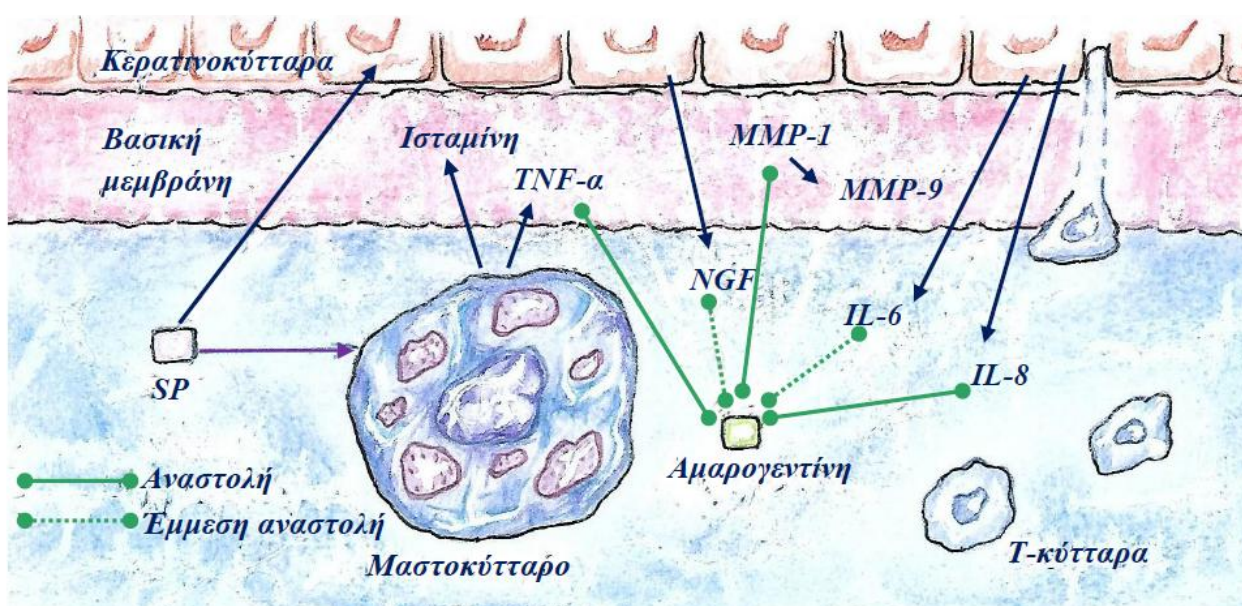
Μετά την ανακοίνωση από τους Kumer et al., ότι η αμαρογεντίνη μπορεί να τροποποιήσει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών (ανάμεσά τους ο TNF- α) σε ποντίκια πάσχοντα από αρθρίτιδα και με δεδομένη την έκφραση των T2Rs στα κερατινοκύτταρα, οι Wölflle et al. (2015b), ασχολήθηκαν με την δυνητικά ανοσοτροποποιητική δράση της ίδιας ουσίας στο δέρμα.

Με δεδομένα ότι τουλάχιστο δύο υποδοχείς οι T2R1, 38 εκφράζονται στα κερατινοκύτταρα της επιδερμίδας, ενώ η αμαρογεντίνη είναι αγωνιστής των T2R1,4,39,43,46,47,50, και επηρεάζει

τη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων (Wölfl et al.2015a), εύλογα διαμορφώθηκε η υπόθεση της ικανότητάς της να επιδράσει και να τροποποιήσει δερματικές φλεγμονές.

Οι ερευνητές επικεντρώθηκαν στην επίδραση της αμαρογεντίνης στην απελευθέρωση ισταμίνης και TNF-α από τα μαστοκύτταρα καθώς και στην αλληλεπίδραση των προφλεγμονωδών παραγόντων με τα κερατινοκύτταρα. Φυσικά απώτερο στόχο των ερευνών τέτοιου τύπου αποτελεί η θεραπευτική προσέγγιση των χρόνιων δερματικών φλεγμονών, της ατοπικής δερματίτιδας και τα ψωρίασης υπό το πρίσμα των αγωνιστών των T2Rs.

Η διερεύνηση της ανοσοτροποποιητικής δράσης της αμαρογεντίνης έγινε σε καλλιέργειες κυττάρων LAD-2, κυτταρική σειρά λευχαιμικών μαστοκυττάρων και κερατινοκυττάρων HaCaT. Συνοπτικά τα αποτελέσματα της έρευνας φαίνονται στην Εικόνα 17.



Εικόνα 17 : Η ανοσορυθμιστική δράση της αμαρογεντίνης.
Η αμαρογεντίνη αναστέλλει την παραγωγή των TNF-α , ισταμίνης και IL-8.
Έμμεση αναστολή (μέσω TNF-α και ισταμίνης) προκαλεί σε MMP-1 και IL-6.

Βρέθηκε ότι η αμαρογεντίνη στα LAD-2 παρεμποδίζει την παραγωγή του TNF-α, που επάγεται από την νευροκίνη (SP, substance P), αλλά δεν επιδρά στην αποκοκκίωση των μαστοκυττάρων και την απελευθέρωση της ισταμίνης που βρίσκεται αποθηκευμένη σε αυτά.

Στα κύτταρα HaCaT η αμαρογεντίνη ελαττώνει την έκφραση των IL-8 και MMP-1, που προκαλείται μέσω ισταμίνης και TNF-α. Έμμεση δράση μέσω της ισταμίνης και του TNF-α ασκείται και στην έκφραση NGF και IL-6.

Σε ανάλογη μελέτη οι Ekoff et al., ανέλυσαν την έκφραση εννέα T2Rs σε ανθρώπινα μαστοκύτταρα και την επίδραση αγωνιστών τους , όπως η χλωροκίνη και το δενατόνιο στην

παραγωγή ισταμίνης και προσταγλανδίνης D2. Τουλάχιστο για τους T2R4 και T2R46 τα ευρήματα των δυο ερευνών ομοφωνούν σχετικά με την έκφρασή τους στα μαστοκύτταρα .

Η ένδειξη έκφρασης T2Rs στην επιδερμίδα ενισχύει την υπόθεση ότι οι υποδοχείς πικρής γεύσης ενέχονται στις φλεγμονώδεις νόσους του δέρματος, όπως η ατοπική δερματίτιδα και η ψωρίαση. Αν θεωρηθεί δεδομένη η μείωση έκφρασής τους σε δερματικές βλάβες , η διέγερση των εναπομεινάντων υποδοχέων μέσω των κατάλληλων αγωνιστών προφανώς αποτελεί θεραπευτική επιλογή ικανή να βελτιώσει την κατάσταση του δέρματος (Wölfle et al.2015b).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Οι εκτεταμένες μελέτες της έκφρασης των T2Rs σε εξωστοματικούς ιστούς κατά τα τελευταία χρόνια έχουν αποκαλύψει τη σύνδεση των υποδοχέων πικρής γεύσης με πληθώρα παθολογικών καταστάσεων. Ειδικότερα οι μεταλλάξεις των γονιδίων που τους κωδικοποιούν αποτελούν εκλυτικό αίτιο ή συμβάλλουν στην εκδήλωση διαταραχών και νοσημάτων.

Τα γονίδια *TAS2Rs* δεν περικλείουν ιντρόνια στις κωδικεύουσες περιοχές τους και τα επίπεδα έκφρασής τους κάτω από φυσιολογικές συνθήκες είναι χαμηλά. Σε παθολογικές καταστάσεις αυτά τα χαρακτηριστικά οδηγούν σε αλλαγή του επιπέδου έκφρασης (Lu et al. 2017). Οι T2Rs και κάποιοι πολυμορφισμοί που σχετίζονται βιβλιογραφικά με συγκεκριμένες διαταραχές και νοσήματα εμφανίζονται στον Πίνακα 9.

T2Rs	ΕΠΙΔΡΑΣΗ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	Αναφορές
T2R38	Ανώτερο αναπνευστικό ανθρώπου	Ευαισθησία, σοβαρότητα και πρόγνωση χρόνιας παραρρινοκολπίτιδας	Lee et al., 2012 Lee and Cohen, 2013 Adappa et al., 2014, 2016
	Καρκίνος ορθού ανθρώπου	Μη λειτουργικά αλληλόμορφα σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο	Carrai et al., 2011
	Περιοδοντίτιδα ανθρώπου	Εγγενής αντοχή και κίνδυνος ανάπτυξης τερηδόνας	Wendell et al., 2010; Gil et al. 2015
	Βλεννογόνο του ορθού ανθρώπου	Αύξηση ανοσοδραστικών κυττάρων	Latorre et al., 2016
T2R19	Γλυκόζη πλάσματος	Ρύθμιση γλυκόζης και ινσουλίνης	Dotson et al., 2008
T2R50	Καρδιά ανθρώπου	Ο SNP (ID rs1376251) σχετίζεται ισχυρά με καρδιαγγειακή νόσο	Shiffman et al. 2008
T2R42	Θυρεοειδής ανθρώπου	Ο SNP (SNP type L196F) σχετίζεται με μεταβολή των επιπέδων των ορμονών στην κυκλοφορία	Clark et al. 2015
T2R16	Μακροβιότητα	Ένας πολυμορφισμός ανοδικά του σημείου έναρξης μεταγραφής σχετίζεται με μακροβιότητα.	Campa et al. 2012
T2Rs	Ανθρώπινα λευκοκύττρα	10 T2Rs έχουν αυξημένη έκφραση σε βαρείς ασθματικούς	Orsmark-Pietras et al. 2013
T2Rs	Εγκέφαλος ανθρώπων νοσούντων με Parkinson	T2R5 και T2R50 είναι μειωμένοι, T2R10 και T2R13 αυξημένοι στον μετωπιαίο λοβό	Garcia-Esparcia et al. 2013
	Εγκέφαλος ανθρώπων νοσούντων με σχιζοφρένεια	T2R4, T2R5, T2R14, and T2R50 είναι μειωμένοι στον έξω ραχιαίο προμετωπιαίο λοβό	Ansoleaga et al. 2015
T2R4	Καρκίνος μαστού ανθρώπου	T2R4 μειωμένος στα καρκινικά κύτταρα	Singh et al. 2014
T2R105	Όρχεις ποντικού	Η μείωση των T2R105 επιφέρει μικρότερους όρχεις και υπογονιμότητα	Li and Zhou. 2012
	Νεφρικό σπείραμα και νεφρικά σωληνάκια	Μείωση των T2R105-θετικών κυττάρων προκαλεί αύξηση του μεγέθους του σπειράματος και των σωληναρίων και μικρότερη κυτταρική πυκνότητα	Liu et al. 2015
T2R126, T2R135, T2R143	Καρδιά ποντικού	Η στέρηση τροφής προκαλεί αύξηση της έκφρασης των T2Rs στο δι-τριπλάσιο	Foster et al. 2013

ΠΙΝΑΚΑΣ 9 : Διαταραχές και νοσήματα σχετιζόμενα με τους T2Rs

(Lu et al. 2017)

4.1 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΩΝ T2Rs ΩΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Ιδιαίτερα μεγάλος αριθμός ερευνών αποδεικνύουν την ύπαρξη θετικής συσχέτισης ανάμεσα σε διάφορες μεταλλάξεις των T2Rs και στον κίνδυνο ανάπτυξης νοσημάτων ή γενικότερα εμφάνισης παθοφυσιολογικών διαταραχών, από διαφορετικά συστήματα του οργανισμού.

4.1.1 SNPs ΑΝΩΤΕΡΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ

Από όλα τα μέλη της οικογένειας των T2Rs ο T2R38 είναι ο εκτενέστερα μελετημένος, ως προς την εμφάνιση πολυμορφισμών και των απότοκων επιδράσεων αυτών.

Ο γνωστότερος πολυμορφισμός του T2R38, έχει δυο αλληλόμορφα τα *TAS2R38-PAV* *TAS2R38-AVI* και οι κωδικοποιούμενες πρωτεΐνες διαφέρουν σε τρία αμινοξέα στις θέσεις 49, 262, 269. Το λειτουργικό αλληλόμορφο περιέχει προλίνη, αλανίνη και βαλίνη σε αυτές τις θέσεις και ο απλότυπος ορίζεται σαν PAV, ενώ το μη λειτουργικό περιέχει αλανίνη, βαλίνη και ισολευκίνη διαμορφώνοντας τον απλότυπο AVI. Ο συνδυασμός των δυο αλληλομόρφων δημιουργεί τρεις κοινούς γονότυπους, δυο ομοζυγώτες PAV/PAV και AVI/AVI και έναν ετεροζυγώτη PAV/AVI .

Οι μελέτες απέδειξαν ότι άτομα με απλότυπο μη γεύστη AVI συσχετίζονται με ευπάθεια σε χρόνια παραρρινοκολπίτιδα (Shaik et al. 2016).

Ο λειτουργικός φαινότυπος PAV/PAV εμφανίζει πολύ χαμηλότερη συχνότητα λοίμωξης του ανώτερου αναπνευστικού από gram-αρνητικά βακτήρια σε σχέση με τους άλλους δυο φαινοτύπους (Lu et al. 2017).

Ασθενείς με χρόνια παραρρινοκολπίτιδα που υποβάλλονται σε ενδοσκοπική χειρουργική θεραπεία των παραρρινίων κόλπων είναι AVI/AVI και AVI/PAV σε ποσοστό >90%.

Βρέθηκε επίσης ότι ασθενείς με κυστική ίνωση ομοζυγώτες ΔF508, φέροντες το μη λειτουργικό αλληλόμορφο AVI, εκδηλώνουν σοβαρότερα συμπτώματα από τα παραρρίνια.

Ομοζυγώτες PAV παρουσιάζουν μετά από χειρουργείο παραρρινοκολπίτιδας βελτίωση σε τριπλάσιο ποσοστό, σχετικά με τους AVI.

Όλα αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο γονότυπος του T2R38 συσχετίζεται με την ευαισθησία, τη σοβαρότητα και την πρόγνωση διαταραχών του ανώτερου αναπνευστικού.

Ωστόσο σε μια πρόσφατη μελέτη σε Ιταλικό πληθυσμό από τους Gallo et al. το 2016 δεν καταγράφηκε συσχέτιση αλληλομόρφων του T2R38 και παραρρινοκολπίτιδας. Κατανοητό είναι πως απαιτούνται ευρύτερες μελέτες για να αποδειχτεί αδιαμφισβήτητα ο ρόλος του T2R38 στην παθογένεση της παραρρινοκολπίτιδας (Shaik et al. 2016).

4.1.2 SNPs ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ

Ενδιαφέρουσα μελέτη έγινε από τους Gil et al. το 2015, για την επίδραση του πολυμορφισμού PAV/AVI του T2R38 στην φυσική ανοσία της στοματικής κοιλότητας.

Η έκθεση σε βακτήρια *Streptococcus mutans* που προκαλούν τερηδόνα, φάνηκε να επιφέρει τον τετραπλασιασμό των επιπέδων μεταγραφής των *TAS2R38*, στα επιθηλιακά κύτταρα των ούλων σε άτομα PAV/PAV, αντίθετα από τα AVI/AVI, που δεν εμφάνισαν σημαντική αύξηση.

Η έκκριση IL-1α στους PAV/PAV ήταν η υψηλότερη ανάμεσα στους τρεις γονοτύπους.

Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν τον σημαντικό ρόλο των T2R38, στην ανοσία των ούλων και τη συσχέτιση του T2R38 με τον κίνδυνο ανάπτυξης τερηδόνας, κάνοντας τελικά το γενετικό καθορισμό να εμφανίζεται ισχυρότερος από την επίδραση των διατροφικών συνηθειών (Lu et al. 2017).

Οι Carrai et al. το 2011 έδειξαν ότι σε δυο Καυκάσιους πληθυσμούς, οι φορείς του διπλότυπου AVI/AVI του T2R38 βρέθηκε να έχουν αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο του ορθού συγκρινόμενοι με φορείς διπλότυπου PAV/PAV (Shaik et al. 2016).

Μελέτη των Dotson et al. το 2008, συσχέτισε πολυμορφισμό ενός άλλου υποδοχέα του T2R19 με διαταραγμένη ομοιόσταση γλυκόζης και ινσουλίνης (Shaik et al. 2016).

4.1.3 SNPs ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟΥ

Σε έρευνα με 4522 συμμετέχοντες, ηλικίας 65 ετών και πάνω, οι Shiffman et al. το 2008 ανέφεραν ότι μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός του ανθρώπινου T2R50, με SNPs ID rs1376251, συσχετίζεται με καρδιαγγειακά νοσήματα. Με δεδομένη την έκφραση του T2R50 στην καρδιά, ενισχύθηκε η υπόθεση της άμεσης αιτιολογικής συσχέτισης του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με καρδιαγγειακά νοσήματα, ενώ κατά την παλαιότερη θεώρηση οι T2Rs σχετίζονταν έμμεσα με αυτά, μέσω της επίδρασης τους στις διατροφικές προτιμήσεις και τη διαίτα.

Ευρήματα άλλης έρευνας έδειξαν ότι ο ίδιος SNP του T2R50 μεσολαβεί στην ελάττωση του καρδιαγγειακού κινδύνου που επιφέρουν οι στατίνες (Lu et al. 2017).

4.1.4 ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ SNPs ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Ο SNP του T2R42, τύπος L196F, εκφραζόμενος στο θυρεοειδή αδένα, σχετίζεται με διαφορές στα επίπεδα των θυρεοειδικών ορμονών στην κυκλοφορία. Ένας πολυμορφισμός του ανθρώπινου *TAS2R16*, στη θέση 212 bp ανοδικά του σημείου έναρξης μεταγραφής, σχετίζεται

με την μακροβιότητα και τη διαδικασία γήρανσης. Η συχνότητα των A/A ομοζυγωτών αυξάνεται σε μεγαλύτερες ηλικίες. Η αναφερόμενη θέση εντοπίζεται στην περιοχή του υποκινητή του *TAS2R16*, άρα έχει ρόλο ρυθμιστικό (Lu et al. 2017).

SNPs των γονιδίων *TAS2R13* (rs 1015443) και *TAS2R16* (rs846664) συνδέονται με αυξημένη εμφάνιση εξάρτησης από το αλκοόλ (Shaik et al. 2016).

4.2 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ TAS2Rs ΣΕ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΚΑΙ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

4.2.1 ΚΑΤΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ

Με δεδομένα ότι οι λείοι μύες των αεραγωγών εκφράζουν T2Rs και ότι πικρές ενώσεις μπορούν να χαλαρώσουν τη σύσπαση και να μειώσουν την αντίσταση των αεραγωγών σε ασθματικά ζωικά μοντέλα, ανακύπτουν δυο βασικά ερωτήματα.

Πρώτον, αν στους ασθματικούς ασθενείς είναι αλλαγμένα τα επίπεδα έκφρασης των T2Rs .

Δεύτερον, αν σε ασθματικούς οι T2Rs, απευαισθητοποιούνται όπως συμβαίνει με άλλες GPCRs.

Οι Robinett et al. το 2014 έδειξαν ότι τα επίπεδα έκφρασης των mRNA των *TAS2R10*, *14*, και *31* δεν διαφέρουν ανάμεσα σε ασθματικούς και μη ασθματικούς και ότι οι T2R αγωνιστές προκαλούν χαλάρωση στους αεραγωγούς σε υγιείς και ασθματικούς με τον ίδιο τρόπο (Shaik et al. 2016).

Η εφαρμογή ενός T2R αγωνιστή, της κινίνης, σε λεία μυϊκά κύτταρα αεραγωγών ανθρώπου επέφερε απευαισθητοποίηση στην απόκριση των υποδοχέων, με αποτέλεσμα σταδιακά να μην επέρχεται η αναμενόμενη αύξηση της συγκέντρωσης Ca^{2+} και η χαλάρωση των λείων μυών των αεραγωγών. Ωστόσο δεν παρατηρείται διασταυρούμενη απευαισθητοποίηση ως προς τη χαλαρωτική επίδραση μεταξύ T2R και $\beta 2$ αδρενεργικών υποδοχέων, γεγονός που σημαίνει πως και οι δυο θεραπείες θα μπορούσαν να συνδυαστούν για την αντιμετώπιση του άσθματος.

Οι T2P13, T2P14, T2P19 ρυθμίζονται αυξητικά σε λευκοκύτταρα της κυκλοφορίας σε σοβαρά ασθματικούς ασθενείς (Shaik et al. 2016). Η χρήση αγωνιστών T2R σε αυτούς μπορεί να αναστείλει την απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτοκινών και εικοσανοειδών από τα λευκοκύτταρα του αίματος. Οι αγωνιστές των T2R επομένως μπορούν άμεσα να δράσουν σε κύτταρα του αμυντικού με αντιφλεγμονώδη δράση (Lu et al. 2017).

Ασθενείς με κυστική ίνωση με γονότυπο *TAS2R38* PAV/PAV είναι λιγότερο επιρρεπείς σε σοβαρή χρόνια παραρρινοκολπίτιδα συγκρινόμενοι με φορείς άλλων γονοτύπων (Shaik et al. 2016).

4.2.2 ΑΝΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ

Οι T2R38 μεσολαβούν στην απόκριση του αμυντικού συστήματος, στις εκκρινόμενες από gram- βακτήρια AHL's (Acyl Homoserine Lactones), κατά τη διάρκεια εξάρσεων εποχιακών λοιμώξεων, που αναζωπυρώνουν τη χρόνια παραρρινοκολπίτιδα (Shaik et al. 2016)

4.2.3 ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ

Η εφαρμογή καλλιεργητικού υλικού χαμηλών λιπαρών ή μειωμένων στερολών σε κυτταρικές καλλιέργειες προκαλεί αύξηση έκφρασης των περισσότερων T2Rs στο έντερο ή την κυτταρική σειρά STC-1, τύπο εντερικών ECC, με επακόλουθο την αύξηση έκκρισης GLP-1 και CCK.

Σε ανθρώπινο βλεννογόνο του παχέος εντέρου ο αριθμός των ανοσοδραστικών T2R38 κυττάρων αυξάνεται σημαντικά σε υπέρβαρους και παχύσαρκους σε σχέση με λεπτόσωμα άτομα και συσχετίζεται με τις τιμές του BMI (Lu et al. 2017).

4.2.4 ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ

Υποδόρια χορήγηση νιτρογλυκερίνης, μυοκαρδιακό αντισχαιμικό, σε αρουραίους αυξάνει σημαντικά την έκφραση των T2R119 στην καρδιά και την αορτή. Το υπόδειγμα έκφρασης των TAS2Rs (108,126,135,137, 143) σε καρδιακό ιστό ελαττώνεται με την ηλικία. Σε καταστάσεις έλλειψης θρεπτικών συστατικών (σε στέρηση τροφής *in vitro* και *in vivo*) η έκφραση των T2Rs σε μυοκαρδιακά κύτταρα αρουραίου φάνηκε να ρυθμίζεται ανοδικά (Shaik et al. 2016).

Η έκφραση των T2R126, T2R135, και T2R143 στην καρδιά δι- ή τριπλασιάζεται (Lu et al. 2017).

Οι πικροί αγωνιστές νοσκαπίνη και χλωροκίνη επιφέρουν μια δόσοεξαρτώμενη χαλάρωση σε πνευμονικές αρτηρίες ανθρώπου (Shaik et al. 2016).

Η χορήγηση δενατονίου ελαττώνει την αρτηριακή πίεση σε αρουραίους (Shaik et al. 2016).

Μεσολαβούμενη από T2R1 σύσπαση προκαλείται με εφαρμογή δεξτρομεθορφάνης σε δακτυλίους πνευμονικών αρτηριών γουρουνιού και αντίθετα χαλάρωση σε δακτυλίους αεραγωγών (Shaik et al. 2016).

4.2.5 ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Έκφραση των T2R ανιχνεύεται σε όγκους και καρκινικά κύτταρα. Οι Singh et al. το 2014 βρήκαν ότι οι η έκφραση των T2R4 είναι μειωμένη σε καρκινικά κύτταρα στο μαστό συγκρινόμενη με την έκφρασή τους σε υγιή επιθηλιακά κύτταρα του μαστικού αδένα . Αυτό το εύρημα παραπέμπει σε μηχανισμό που έχουν αναπτύξει τα καρκινικά κύτταρα ώστε να αποφύγουν την απόπτωση τους υπό την επίδραση πικρών ενώσεων (Shaik et al. 2016) (Lu et al. 2017).

Οι Gaida et al. το 2016 μελετώντας καρκίνο του παγκρέατος βρήκαν ότι οι T2R38 εκφράζονται στα κύτταρα του όγκου σε ασθενείς με παγκρεατικό καρκίνο, αλλά και σε κυτταρικές σειρές προερχόμενες από όγκους.

Ο εκλεκτικός προσδέτης των T2R38 φαινυλοθειουρία ή ο φυσικός προσδέτης AHL-12 ενεργοποιούν τις πρωτεϊνικές κινάσες p38 και ERK1/2, που ενεργοποιούνται από μιτογόνα, και αυξάνουν τον παράγοντα NFATc1 κατά έναν G-πρωτεϊνοεξαρτώμενο τρόπο. Αν και δεν συσχετίζεται η συχνότητα των T2R38-θετικών καρκινικών κυττάρων με κλινικούς και παθολογικούς δείκτες οι προσδέτες των T2R38 αυξάνουν την έκφραση του μεταφορέα ABCB1 υποδεικνύοντας πιθανή δράση των T2R38 στην χημειοαντίσταση του καρκίνου του παγκρέατος (Lu et al. 2017).

Οι T2P38 εκφράζονται σε λιποσταγονίδια κυτταρικού όγκου ασθενών με καρκίνο του παγκρέατος και ενεργοποιούνται από AHL-12 (Acyl Homoserine Lactone-12), που παράγεται από βακτήρια (Shaik et al. 2016).

4.2.6 ΕΓΚΕΦΑΛΟΣ

Στον εγκέφαλο ασθενών με Parkinson οι υποδοχείς T2R5 και T2R50 είναι μειωμένοι , ενώ οι T2R10 και T2R13 είναι αυξημένοι στον μετωπιαίο λοβό. Οι T2R4, T2R5,T2R14 και T2R50 υποεκφράζονται στον έξω ραχιαίο προμετωπιαίο φλοιό σχιζοφρενών.

Γνωρίζοντας ότι η καρδιά δεν έρχεται άμεσα σε επαφή με το εξωτερικό περιβάλλον και ο εγκέφαλος βρίσκεται απομονωμένος μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού , οι μεταβολές των T2Rs σε αυτά τα όργανα υποδεικνύουν την ύπαρξη ενδογενών προσδετών των T2Rs σε ολόκληρο το ανθρώπινο σώμα (Shaik et al. 2016).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΑΤΕΝΙΖΟΝΤΑΣ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ

Η ΑΝΘΗΣΗ ΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΠΙΚΡΗΣ ΓΕΥΣΗΣ

Οι εξωστοματικοί T2R υποδοχείς έχουν σημαντικό ρόλο σε ποικίλες κυτταρικές λειτουργίες και η παθολογική έκφρασή τους σχετίζεται με πολλές ασθένειες και διαταραχές.

Οι πρόσφατες μελέτες πέρα από τα σημαντικά ευρήματα που ανέδειξαν, διαμορφώνουν νέα ερωτήματα για τους υποδοχείς και αποκαλύπτουν τις μελλοντικές προκλήσεις για την κατανόηση της βιολογίας τους. Η ευρύτητα των εξωστοματικών εντοπίσεων των T2Rs και οι εναλλακτικές λειτουργίες που συχνά αυτοί επιτελούν καθιστούν δελεαστική την διερεύνηση νέων φαρμακολογικών δράσεων των αγωνιστών και ανταγωνιστών τους και την καθιέρωση ανάλογων θεραπευτικών τακτικών.

Οι μελέτες των τελευταίων ετών της εξειδικευμένης δράσης των T2Rs ανά σύστημα, όργανο και ιστό αποκαλύπτουν αναρίθμητους πιθανούς στόχους για νέες τακτικές πρόληψης, διάγνωσης και θεραπευτικής αντιμετώπισης. Ακολουθεί αναφορά για μερικούς από τους τομείς όπου οι έρευνες συνεχίζονται και δημιουργούν προσδοκίες επωφελών εφαρμογών.

5.1 ΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ Η ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ

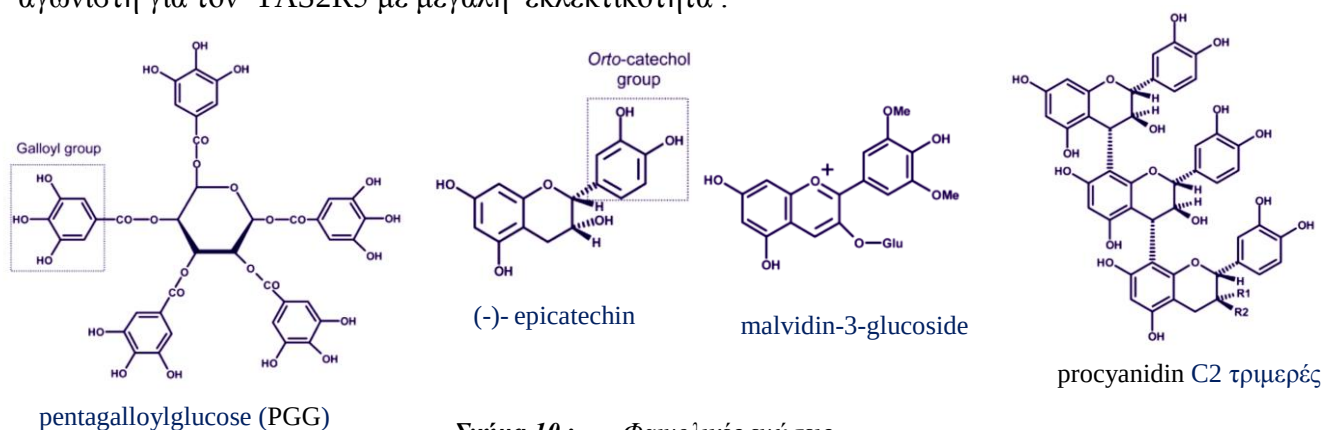
Εφόσον οι T2Rs εκφράζονται σε πληθώρα ιστών και οργάνων, είναι επόμενο η χορήγηση «πικρών» φαρμάκων πέρα από την επιθυμητή ενέργεια να ασκεί δράση σε άλλους ιστούς, όταν χορηγείται σε συγκεντρώσεις ικανές να ενεργοποιήσουν τους T2Rs. Ιδιαίτερα τα φάρμακα που απορροφώνται και εισέρχονται στην συστηματική κυκλοφορία μπορούν να φτάσουν δυνητικά στους T2Rs σε όλους τους ιστούς (Clark et al. 2012). Θεωρητικά λοιπόν, κατά την εφαρμοζόμενη πρακτική ανάπτυξης νέων φαρμάκων και θεραπειών θα πρέπει όλες οι νεοφανείς ουσίες να δοκιμάζονται ως προς την αποτελεσματικότητά τους να δρουν ως αγωνιστές T2Rs. Για παράδειγμα αν είναι αγωνιστές ισχυρής δραστηριότητας η χρήση τους απαιτεί μεγαλύτερη προσοχή ως προς τη συγκέντρωση ή την οδό χορήγησης, ώστε να αποφευχθούν ανεπιθύμητες ενέργειες. Αντίθετα οι αγωνιστές ή ανταγωνιστές των T2Rs με υψηλή εκλεκτικότητα σύνδεσης και περιορισμένο φάσμα συντονισμού φαντάζουν σαν πολύτιμα θεραπευτικά εργαλεία. Ενδιαφέρουσα προοπτική επίσης αποτελεί η χρήση φυτοχημικών με δραστηριότητα στους T2Rs.

5.1.1 ΦΑΙΝΟΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΣΑΝ ΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΩΝ T2RS

Πολλά κοινά τρόφιμα και ποτά, πλούσια σε πολυφαινόλες έχουν πικρή γεύση, όπως το κόκκινο κρασί, η μύρα, το τσάι η σοκολάτα. Ο χημειοπροστατευτικός ρόλος των πολυφαινόλων και τα οφέλη τους στην υγεία έχουν γίνει γνωστά τα τελευταία χρόνια.

Οι Soares et al., το 2013 μελέτησαν την ικανότητα τεσσάρων ενώσεων να αλληλεπιδρούν με T2Rs. Οι ουσίες που ελέγχθηκαν ήταν η pentagalloylglucose (PGG), μια υδατοδιαλυτή ταννίνη η (-)-epicatechin, πρόδρομος ταννινών, η procyanidin σε διμερή B3 και τριμερή μορφή C2, ταννίνη και οι malvidin-3-glucoside and cyanidin-3-glucoside, ανθοκυανίνες.

Η (-)-epicatechin ενεργοποίησε τους TAS2R4, TAS2R5, and TAS2R39. Η pentagalloylglucose (PGG), τους TAS2R5 και TAS2R39. Η malvidin-3-glucoside τον TAS2R7 και το τριμερές procyanidin τον TAS2R5. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι ταννίνες αποτελούν τον πρώτο φυσικό αγωνιστή για τον TAS2R5 με μεγάλη εκλεκτικότητα.



Σχήμα 10 : Φαινολικές ενώσεις

5.2 ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΤΟ ΑΝΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ

5.2.1 ΤΕΣΤ ΓΕΥΣΗΣ ΣΑΝ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ

Είναι δεδομένη η θετική συσχέτιση του κινδύνου εμφάνισης και της βαρύτητας εκδήλωσης χρόνιων λοιμώξεων των παραρρινίων κόλπων με συγκεκριμένους πολυμορφισμούς των T2Rs, με την έκφραση των γονοτύπων και φαινοτύπων τους. Άτομα με γονότυπο PAV/PAV, εμφανίζουν μειωμένη ευαισθησία στη λοίμωξη, παρουσιάζουν ταχύτερη βελτίωση και έχουν καλύτερη πρόγνωση.

Εύλογα διατυπώνεται η υπόθεση ότι ένας απλός προσυμπτωματικός έλεγχος της ικανότητας αντίληψης της γεύσης πικρών ουσιών - δεικτών θα βοηθούσε στην πρόληψη της

παραρρινοκολπίτιδας σε άτομα υψηλού κινδύνου και θα επέτρεπε την έγκαιρη εφαρμογή επιθετικής θεραπείας ήδη ασθενών (Devillier et al. 2015).

5.3 ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΤΟ ΚΑΤΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ

5.3.1 ΕΙΣΠΝΕΟΜΕΝΑ ΒΡΟΓΧΟΔΙΑΣΤΑΛΤΙΚΑ

Μετά την ανακάλυψη της έκφρασης T2Rs στο κατώτερο αναπνευστικό και την δυνατότητά τους να προκαλούν αποτελεσματική βρογχοδιαστολή ανέκυψε μια νέα μεγάλη κατηγορία βρογχοδιασταλτικών, οι αγωνιστές των T2Rs.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι γνωστές φυσικές και συνθετικές πικρές ενώσεις είναι χιλιάδες. Πολλές από αυτές, εντελώς διαφορετικές μεταξύ τους, αποτελούν αγωνιστές για τους T2Rs .

Ο μεγάλος αριθμός και η ποικιλομορφία των T2Rs αγωνιστών παρέχει μια έτοιμη, τεράστια πηγή χημικών παραγόντων, που μένει να ερευνηθούν για την ανάπτυξη νέων βρογχοδιασταλτικών φαρμάκων εισπνεόμενων (Ligett 2013) ή και συστηματικά χορηγούμενων.

5.3.2 ΣΥΝΕΡΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΑΓΩΝΙΣΤΩΝ

ΤΩΝ T2R ΚΑΙ ΤΩΝ B2 – ΑΔΡΕΝΕΡΓΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ

Τα ευρύτερα χρησιμοποιούμενα φάρμακα ως άμεσα βρογχοδιασταλτικά είναι οι αγωνιστές των β2- αδρενεργικών υποδοχέων (β2-AR). Τα τελευταία χρόνια ανακαλύφθηκε ότι εκτεταμένη χάλαση των λείων μυϊκών ινών των βρόγχων μπορεί να γίνει επίσης με τη διέγερση των T2Rs μέσω διαφορετικού μηχανισμού. Οι T2Rs επιφέρουν χάλαση μέσω της αύξησης της ενδοκυτταρικής $[Ca^{2+}]$ μέσω οδού μη εξαρτώμενης από το c-AMP. Οι β2-AR προκαλούν χάλαση μέσω αύξησης c-AMP και μηχανισμό εξαρτώμενο από την πρωτεϊνική κίνηση. Μερικοί αγωνιστές των T2Rs εμφανίζουν πολύ ισχυρότερη βρογχοδιασταλτική δράση από τους αγωνιστές των β2-AR. Η ιδέα της χρήσης και των δυο κατηγοριών αγωνιστών, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό για την αποτελεσματικότερη θεραπεία αποφρακτικού τύπου πνευμονοπαθειών, αποτέλεσε και αποτελεί αντικείμενο ερευνών.

Οι Kim et al. το 2016 ανέφεραν μετά από σχετική μελέτη ότι β2- αδρενεργικοί υποδοχείς λειτουργούν σαν συνοδοί πρωτεΐνες (chaperons), δεσμεύουν και σταθεροποιούν τον T2R14 στην κυτταρική επιφάνεια σχηματίζοντας ετεροδιμερές με αυτόν . Διευκρινίζεται ότι συνοδοί πρωτεΐνες (chaperons) θεωρούνται πρωτεΐνες με βασικό ρόλο τη σταθεροποίηση άλλων

πρωτεϊνικών μορίων, ώστε αυτά να μπορούν να ενσωματωθούν, να μετακινηθούν κατά μήκος ή διαμέσου των μεμβρανών, που επιτυγχάνεται με την αναδιαμόρφωση της δομής τους.

Κατά τους Kim et al., σε κύτταρα HEK- 293T βρέθηκε «συνέκφραση» β2-AR και T2R14 στην κυτταρική επιφάνεια υπό μορφή ετεροδιμερών β2AR : T2R14 . Αυτή η συνέκφραση είχε σαν αποτέλεσμα τον πενταπλασιασμό της έκφρασης του T2R14 στην μεμβράνη. Η παρατηρούμενη αύξηση της έκφρασης αποδίδεται σε σταθεροποίηση του ασταθούς και ταχέως αποδομούμενου T2R14.

Οι T2Rs γενικά έχουν βραχεία εξωκυττάρια N-τελικά και ενδοκυττάρια C-τελικά άκρα και θηλιές που ενώνουν τα διαμεμβρανικά τμήματα. Οι β2-ARs έχουν μεγαλύτερα αντίστοιχα τελικά τμήματα και ενδοκυτταρικές θηλιές παρέχοντας μεγαλύτερη σταθερότητα κατά το σχηματισμό ετεροδιμερών.

Υπό το πρίσμα της χρήσης των T2R αγωνιστών σαν βρογχοδιασταλτικά η ταυτόχρονη έκφραση των β2-ARs, που προκαλεί αύξηση της έκφρασης T2Rs, μπορεί να επιτύχει το βέλτιστο θεραπευτικό αποτέλεσμα.

Μετά το σχηματισμό των ετεροδιμερών, ο T2R14 εισέρχεται στην κυτταρική μεμβράνη και είναι λειτουργικός, ακολουθώντας την κανονική οδό μεταγωγής με εμφανή αύξηση της $[Ca^{2+}]$.

Φαινόμενα απευαισθητοποίησης των β2-AR στη δράση των β-αγωνιστών (ελάττωση της άμεσης δραστηριότητας, ταχυφυλαξία) που εμφανίζονται μετά από μακροχρόνιες θεραπείες, θα μπορούσαν να αντιμετωπιστούν πιθανότατα με τη συνεργική δράση των δυο υποδοχέων.

Ωστόσο, η έρευνα σε αυτόν τον τομέα είναι σε αρχικό στάδιο και υπάρχουν ακόμα πολλές αδιευκρίνιστες πτυχές, έως ότου οι ιδέες υλοποιηθούν. Για παράδειγμα ένα δυσεπίλυτο θέμα, που ανέκυψε κατά την πειραματική διαδικασία , ήταν ότι μόλις ο β-αγωνιστής ενωθεί με τον β2-AR του ετεροδιμερούς, προκαλεί αλλαγή στην τριτοταγή δομή του. Η νέα διαμόρφωση δεν ευνοεί τη σύζευξη και μειώνει τη λειτουργικότητα του T2R14.

5.4 ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΤΟ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟ

ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ

Η επιβεβαίωση της επίδρασης των υποδοχέων πικρής γεύσης στην θερμιδική πρόσληψη και η ανάπτυξη παραγόντων με δυνατότητα δράσης επί των υποδοχέων για αυτό το σκοπό, αποτελεί πεδίο έρευνας εξαιρετικού ενδιαφέροντος. Η τροποποίηση της δράσης των T2Rs φαντάζει ως εναλλακτική τακτική για την αντιμετώπιση διατροφικών διαταραχών, υπερφαγικών καταστάσεων και της παχυσαρκίας (Andreozzi et al.2015).

5.5 ΕΡΕΥΝΕΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΔΙΑΒΗΤΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ

Το GLP-1 αποτελεί δυνητικά μια ορμόνη με δράση έναντι της υπεργλυκαιμίας, καθώς ενέχεται στην γλυκοζο-εξαρτώμενη έκκριση ινσουλίνης και την αναστολή έκκρισης γλουκαγόνης. Έχει χρόνο ημιζωής στην κυκλοφορία 2 λεπτά. Θετική ιδιότητα της γλυκοζο-εξαρτώμενη δράσης του είναι ότι όταν η συγκέντρωση γλυκόζης πλάσματος είναι χαμηλή το GLP-1 δεν διεγείρει την έκκριση ινσουλίνης, επομένως δεν προκαλεί υπογλυκαιμία. Έχει επίσης την ικανότητα να επαναφέρει την ευαισθησία των β κυττάρων του παγκρέατος στην γλυκόζη, μέσω αύξησης της έκφρασης GLUT2 και γλυκοκινάσης. Μεταξύ των δράσεών του είναι η αναστολή της γαστρικής έκκρισης και της εντερικής κινητικότητας, που επιφέρουν καθυστέρηση της γαστρικής κένωσης, προάγουν το αίσθημα κορεσμού και πιθανότατα την απώλεια βάρους (Pham et al. 2016). Ανάλογα του GLP-1 είναι αποτελεσματικά στη θεραπεία του διαβήτη τύπου II, του τύπου που σχετίζεται με την παχυσαρκία (Pham et al. 2016).

Η ενεργοποίηση του TAS2R38 προκαλεί απελευθέρωση από το έντερο GLP-1, κάνοντας τον υποδοχέα νέο στόχο θεραπευτικής αντιμετώπισης του διαβήτη. Απομένει η διερεύνηση των υποκυτταρικών οδών έκκρισης του πεπτιδίου και οι πιθανές διαφορές για απλότυπους *hTAS2R38-PAV* και *hTAS2R38-AVI*.

Οι Abrol et al. το 2015 μελετώντας την επίδραση φαινυλοθειουρακίλης PTU και PTC σε γεύστες και μη γεύστες, ως προς την έκκριση GLP-1 από τα L- κύτταρα, παρατήρησαν διαφορετικό τρόπο σύνδεσης των προσδετών, που απέδωσαν στην παρουσία ενός δεσμού υδρογόνου στην θέση 262, των γευστών (απλότυπος PAV), σημαντικού για την ενεργοποίηση του υποδοχέα (Pham et al. 2016).

Ενώσεις με πικρή γεύση που εμπεριέχονται στα τρόφιμα, χωρίς να είναι επιβλαβείς, κατά τους Abrol et al. (2015) θα μπορούσαν να συνεισφέρουν θεραπευτικά σε μεταβολικές διαταραχές.

5.5 Η ΠΡΩΤΗ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΙΜΕΝΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΤΗ ΠΙΚΡΗ ΓΕΥΣΗ

Για τους ερευνητές τίποτα δεν θεωρείται δεδομένο αν δεν αποδειχτεί μεθοδολογικά. Αν και η γενετική βάση της ευαισθησίας στην αντίληψη της πικρής γεύσης για τις ουσίες σταθμούς στην ιστορία του «πικρού» PTC και PROP ήταν γνωστή από το 1932, το 2016 τελικά επήλθε η πρώτη αντικειμενική αξιολόγηση της.

Μέχρι τώρα η ικανότητα γεύσης και η ευαισθησία στην αίσθηση του πικρού κρινόταν μόνο από το γευόμενο άτομο και ο χαρακτηρισμός «γεύστης» ή «μη γεύστης» βασιζόταν στην υποκειμενική εκτίμηση. Όπως είναι γνωστό η ικανότητα αντίληψης της πικρής γεύσης της PROP ελέγχεται γενετικά από τρεις πολυμορφισμούς (A49P, V262A, I296V) του γονίδιο TAS2R38, οι οποίοι διαμορφώνουν τους δυο κοινούς απλότυπους, τον κυρίαρχο PAV, του γεύστη και τον υπολειπόμενο AVI, του μη γεύστη. Ικανοί να γευθούν την PROP είναι άτομα με διπλότυπο PAV/PAV και PAV/AVI, ενώ μη γευόμενοι είναι οι AVI/AVI. Σπάνιοι απλότυποι είναι οι AAV, AAI, PVI, PAI.

Οι Sollai et al., ανέφεραν την άμεση μέτρηση του βαθμού ενεργοποίησης των διεγερμένων γευστικών κυττάρων. Η μελέτη βασίστηκε σε ηλεκτροφυσιολογικές καταγραφές από τη γλώσσα ατόμων διαχωρισμένων σε γεύστες και μη γεύστες ανάλογα με τις αναφορές τους και την ανάλυση του γονοτύπου τους για τον TAS2R38.

Παράμετρος που λήφθηκε υπόψη ήταν η πυκνότητα των γευστικών θηλών. Κατά τους ερευνητές η ευαισθησία στην PROP συσχετίζεται θετικά με την πυκνότητα των μυκητοειδών θηλών στην άνω επιφάνεια της γλώσσας.

Η διέγερση με PROP δημιούργησε αργά μονοφασικά αρνητικά δυναμικά, ενδεικτικά της εκπόλωσης των γευστικών κυττάρων.

Η μελέτη παρέχει ένα καινούριο εργαλείο ποσοτικής μέτρησης της περιφερικής γευστικής λειτουργικότητας, ικανό να φωτίσει τα αντικρουόμενα αποτελέσματα του ρόλου του φαινότυπου PROP στην αντίληψη γεύσης και στις γευστικές προτιμήσεις και πιθανά χρήσιμο στην αξιολόγηση της διατροφικής κατάστασης και της υγείας (Sollai et al.2016).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η έρευνα των τελευταίων δεκαετιών γύρω από τους υποδοχείς γεύσης αποσαφήνισε τη γενετική και τη φυσιολογία τους. Μεγαλύτερο ερευνητικό επίτευγμα αποτέλεσε η ανακάλυψη της έκφρασης των γευστικών υποδοχέων και ειδικότερα των υποδοχέων πικρής γεύσης, σε πολλαπλές εξωστοματικές εντοπίσεις.

Η λειτουργία των υποδοχέων, που δεδομένα προστατεύει τον οργανισμό από την έκθεση σε δηλητηριώδεις ουσίες, αναδεικνύεται ταυτόχρονα σε ευρύτατα χρησιμοποιούμενο μηχανισμό σε ολόκληρο το σώμα. Η αντίληψη της πικρής γεύσης από «υπόθεση γλωσσική» μετατρέπεται σε εσωτερική διεργασία, ένα «πολυχρηστικό εργαλείο», με εναλλακτικές δυνατότητες.

Οι αναδυόμενες μελέτες επικεντρώνονται στις εξωστοματικές εντοπίσεις όπου ανοίγονται νέοι ορίζοντες και διαμορφώνονται καινούριοι τομείς δράσης.

Οι αμέτρητες πικρές ενώσεις, φυσικές και συνθετικές, αποτελούν δυνητικά αγωνιστές ή ανταγωνιστές των υποδοχέων πικρής γεύσης και δημιουργούν μια έτοιμη βάση δεδομένων, με ενδιαφέρουσες προοπτικές για τη φαρμακολογία αλλά και τη βιομηχανία τροφίμων.

Οι φυσιολογικές και παθοφυσιολογικές επιδράσεις των υποδοχέων πικρής γεύσης και των πολυμορφισμών τους στη λειτουργία ιστών και οργάνων, υποδεικνύουν το ρόλο τους σε διαταραχές, παθολογικές καταστάσεις και νοσήματα διαμορφώνοντας νεοφανείς τακτικές αντιμετώπισης και ελπιδοφόρες θεραπείες.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

Abrol R, Tan J, Hui H, Goddard W, Pandol S, 2015, “Structural basis for bitter taste receptor activation and its potential role in targeting diabetes”, *Functional Foods in Health and Disease*, 2015;5(3):117-125, accessed 5 May 2017.

https://www.researchgate.net/publication/291801664_Structural_basis_for_bitter_taste_receptor_activation_and_its_potential_role_in_targeting_diabetes

Adler E, Hoon M, Mueller K, Chandrashekar J, Ryba N, 2000, “A Novel Family of Mammalian Taste Receptors”, *Cell*, Vol. 100, 693–702, March 17, 2000, accessed 20 March 2017.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867400807059>

Alberts B, Bray D, Lewis J, Rolf M, Roberts K, Watson J, 1994, “*Molecular Biology of the Cell*”, 3rd edition, Garland Science, New York.

Andreozzi P, Sarnelli G, Pesce M, Zito F, D’Alessandro A, Verlezza V, Palumbo I, Turco F, Esposito K, Cuomo R, 2015, “The Bitter Taste Receptor Agonist Quinine Reduces Calorie Intake and Increases the Postprandial Release of Cholecystokinin in Healthy Subjects”, *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, Vol. 21 No. 4 October, 2015, pISSN: 2093-0879 eISSN: 2093-0887, accessed 20 March 2017.

<http://www.jnmjournal.org/journal/view.html?uid=1018&vmd=Full>

Avau B, Rotondo A, Thijs T, Andrews C, Janssen P, Tack J, Depoortere I, 2015, “Targeting extra-oral bitter taste receptors modulates gastrointestinal motility with effects on satiation”, *Scientific Reports* | 5:15985 | DOI: 10.1038/srep15985, accessed 20 March 2017.

<https://www.nature.com/articles/srep15985>

Avau B & Depoortere I, 2016, “The bitter truth about bitter taste receptors: beyond sensing bitter in the oral cavity”, *Acta Physiologica*, 2016, 216, 407–420, accessed 20 February 2017.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/apha.12621/>

Bachmanov, A & Beauchamp, G, 2007, «Taste Receptor Genes», Published in final edited form as: *Annu Rev Nutr.*, 2007; 27: 389–414, doi:10.1146/annurev.nutr.26.061505.111329, Author manuscript; available in PMC 2009 August 5, accessed 11 October 2016.

https://www.researchgate.net/publication/6383611_Taste_Receptor_Genes

Behrens M & Meyerhof W, 2011, “Gustatory and extragustatory functions of mammalian taste receptors”, *Physiology & Behavior*, accessed 20 March 2017.

https://www.researchgate.net/publication/49839008_Gustatory_and_extragustatory_functions_of_mammalian_taste_receptors

Behrens M & Meyerhof W, 2013, “Bitter taste receptor research comes of age: From characterization to modulation of TAS2Rs”, Review, *Seminars in Cell & Developmental Biology* 24 (2013) 215–221, accessed 11 October 2016.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1084952112001474?via%3Dihub>

Bezencon C, Forholz A, Raymond F, Mansourian R, Mitairon S, Le Coutre L, Damak S, 2008, “Murine intestinal cells expressing Trpm5 are mostly brush cells and express markers of neuronal and inflammatory cells”, *J. Comp. Neurol.* 509:514–525, accessed 11 November 2016.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cne.21768/abstract;jsessionid=05F3862B6AD407605B0FEA0C980713FD.f03t0>

Bitter DB <http://bitterdb.agri.huji.ac.il/dbbitter.php>

Βλάχος Δ, 1985, «Κεντρικό Νευρικό Σύστημα και αισθητήρια», Επιστημονικές Εκδόσεις Γ. Παριζιάνος, ΑΘΗΝΑ.

Breslin P & Spector A, “Mammalian taste perception”, *Current Biology*, Vol 18 ,No 4, R148, accessed 11 October 2016.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982207023706>

Carey R, Adappa N, Palmer J, Lee R, Cohen N, 2016, “Taste Receptors: Regulators of Sinonasal Innate Immunity” , *Laryngoscope Investigative Otolaryngology* 1: August 2016, DOI: 10.1002/lio2.26 , accessed 10 October 2016.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/lio2.26/full>

Carrai M, Steinke V, Vodicka P, Pardini B, Rahner N, Holinski-Feder E, Morak M, Schackert, Görgens H, Stemmler S, 2011, “Association between TAS2R38 gene polymorphisms and colorectal cancer risk: a case-control study in two independent populations of Caucasian origin”, *PLOS One*. 6, accessed 10 October 2016.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3107225/>

Chandrashekar J, Hoon M, Ryba N, Zuker Ch, 2006, “The receptors and cells for mammalian taste”, REVIEW, *NATURE*, Vol 444, 16 November 2006, doi: 10.1038/nature05401, accessed 11 October 2016.

https://www.researchgate.net/publication/232779441_The_receptors_and_cells_for_mammalian_taste

Chaudhari N, & Roper S, «The cell biology of taste», *JCB: Review*, VOLUME 190, NUMBER 3, August 9, 2010. Pages 285–296, accessed 11 October 2016.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2958472/>

Clark A , Liggett S, Munger S, 2012, “Extraoral bitter taste receptors mediators of off-target drug effects”, *The FASEB Journal*, 2012 Dec, 26(12):4827-4831, accessed 20 March 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3509062/>

Deckmann K, Filipkisa K, Krasteva-Christa G, Froniuse M, Althausd M, Rafiqa A, Papadakisa T, Rennoa L, Jurastowa I, Wesselsa L, Wolffa M, Schütze B, Weiheb E, Chubanovf V, Gudermannb T, Kleing J, Bschleipferh T, Kummeraet W, 2014, "Bitter triggers acetylcholine release from polymodal urethral chemosensory cells and bladder reflexes” , *PNAS* | June 3, 2014| vol. 111 | no. 22 | 8287–8292 , accessed 10 April 2017.

www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1402436111

Devillier Ph, Naline E, Grassin-Delyle S , 2015, “The pharmacology of bitter taste receptors and their role in human airways” , *Pharmacology & Therapeutics*, accessed 20 March 2017.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016372581500159X>

Deshpande D, Wang W, Mc Ilmoyle E, Robinett K, Schillinger R, An S, Sham J, Liggett S, 2010, “Bitter taste receptors on airway smooth muscle bronchodilate by localized calcium signaling and reverse obstruction”, *Nat. Med.* 16:1299–1304 ,accessed 20 March 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3066567/>

- Dotson D, Zhang L, Xu H, Shin Y, Vigues S, Ott S, Elson A, Choi H, Shaw H, Egan J, 2008, “Bitter taste receptors influence glucose homeostasis”. *PLOS One*. 3, accessed 3 March 2017.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2597743/>
- Ekoff M, Choi J, James A, Dahlen B, Nilsson G, Dahlen S, 2014, “Bitter taste receptor (TAS2R) agonists inhibit IgE-dependent mast cell activation”, *JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY*, AUGUST 2014, accessed 7 April 2017.
[http://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(14\)00294-2/fulltext](http://www.jacionline.org/article/S0091-6749(14)00294-2/fulltext)
- Feeney E and Hayes J, 2015, “Regional differences in suprathreshold intensity for bitter and umami stimuli”, *Chemosens Percept.* Author manuscript; available in PMC 2015 December 01, accessed 2 June 2017.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4254731/>
- Finger T, Böttger B, Hansen A, Anderson K, Alimohammadi H, Silver W, 2003, “Solitary chemoreceptor cells in the nasal cavity serve as sentinels of respiration”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 100:8981–8986, accessed 7 April 2017.
<http://www.pnas.org/content/100/15/8981.full>
- Fischer M, Cruickshanks K, Schubert C, Alex Pinto A, Klein R, Pankratz N, Pankow J, Huang G, 2013, “Factors Related to Fungiform Papillae Density: The Beaver Dam Offspring Study”, *Chem. Senses* 38: 669–677, 2013 doi:10.1093/chemse/bjt033, Advance Access publication July 2, 2013, accessed 2 June 2017.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3777560/>
- Gaida M, Mayer C, Dapunt U, Stegmaier S, Schirmacher P, Wabnitz G, Hönsch G, 2016, “Expression of the bitter receptor T2R38 in pancreatic cancer: localization in lipid droplets and activation by a bacteria-derived quorum-sensing molecule”, *Oncotarget*. 7:12623–12632, accessed 2 April 2017.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4914309/>
- Gallo S, Grossi S, Montrasio G, Binelli G, Cinquetti R, Simmen D, Castelnovo P, Campomenosi P, 2016, “TAS2R38 taste receptor gene and chronic rhinosinusitis: new data from an Italian population”, *BMC Med. Genet.* 17, accessed 12 February 2017.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4982233/>
- Gilbertson T, Damak S, Margolskee R, 2000, “The molecular physiology of taste transduction”, *Current Opinion in Neurobiology*, 10:519–527, accessed 11 October 2016.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959438800001185>
- Gil S, Coldwell S, Drury J, Arroyo F, Phi T, Saadat S, Kwong D, Chung W, 2015, “Genotype-specific regulation of oral innate immunity by T2R38 taste receptor”, *Mol. Immunol.* 68(2, 2 Pt C):663–670, accessed 7 April 2017.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4679585/>
- Grassin-Delyle S, Abrial C, Fayad-Kobeissi S, Brollo M, Faisy C, Alvarez J, Naline E, Devillier P, 2013, “The expression and relaxant effect of bitter taste receptors in human bronchi”, *Respir. Res.* 14, accessed 7 April 2017.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4176101/>

Hariri B and Cohen N, “New insights into upper airway innate immunity”, *American Journal of Rhinology & Allergy*, September–October 2016, Vol. 30, No. 5, doi: 10.2500/ajra.2016.30.4360, accessed 7 March 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5013235/>

Höfer D, Poschel B, Drenckhahn D, 1996, “Taste receptor-like cells in the rat gut identified by expression of α -gustducin”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 93:6631–6634, accessed 7 April 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC39077/>

Iwatsuki K & Uneyama H, 2012, “Sense of Taste in the Gastrointestinal Tract”, *Journal of Pharmacological Sciences*, 118, 123 – 128 (2012),_doi: 10.1254/jphs.11R08CP, accessed 17 February 2017.

https://www.jstage.jst.go.jp/article/jphs/118/2/118_11R08CP/_pdf

Jaggupillia A, Howarda H, Upadhyayaa J, Bhullara R, Chelikania P,2016, “Bitter taste receptors: Novel insights into the biochemistry and pharmacology”, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 77 (2016) 184–196, accessed 13 January 2017.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272516300590?via%3Dihub>

Jeon T, Zhu B, Larson J, Osborne T,2008,” SREBP-2 regulates gut peptide secretion through intestinal bitter taste receptor signaling in mice”, *J. Clin. Invest.* 118:3693–3700, accessed 7 April 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2564613/>

Kim D, Pauer S, Yong H, An S, Liggett S, 2016, “Adrenergic Receptors Chaperone Trapped Bitter Taste Receptor 14 to the Cell Surface as a Heterodimer and Exert Unidirectional Desensitization of Taste Receptor Function” „*THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*,VOL. 291, NO. 34, pp. 17616–17628, accessed 30 October 2016.

<http://www.jbc.org/>

Kumar V and Chandra S, 2015, “LC-ESI/MS determination of xanthone and secoiridoid glycosides from in vitro regenerated and in vivo *Swertia chirayita*”, *Physiol Mol Biol Plants*, (January–March 2015) 21(1):51–60, DOI 10.1007/s12298-014-0276-9, accessed 7 April 2017.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4312337/pdf/12298_2014_Article_276.pdf

Latorre R, Huynh J, Mazzoni M, Gupta A, Bonora E, Clavenzani P, Chang L, Mayer E, De Giorgio R, Sternini C, 2016, “Expression of the Bitter Taste Receptor, T2R38, in Enteroendocrine Cells of the Colonic Mucosa of Overweight/Obese vs. Lean Subjects”, RESEARCH ARTICLE, *PLOS ONE* DOI:10.1371/journal.pone.0147468 February 11, 2016, accessed 7 April 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4750998/>

Liang J, Chen F, Gu F, Li F, Du D, 2017, “Expression and functional activity of bitter taste receptors in primary renal tubular epithelial cells and M-1 cells” *Mol Cell Biochem* (2017) 428:193–202 doi:10.1007/s11010-016-2929-1, accessed 12 May 2017.

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11010-016-292>

Liggett S, 2013, “Bitter Taste Receptors on Airway Smooth Muscle as Targets for Novel Bronchodilators”, *Expert Opin Ther Targets*. 2013 June; 17(6): 721–731. doi:10.1517/14728222.2013.782395, accessed 7 April 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4437536/>

Lu P, Zhang Ch, Lifshitz L, ZhuGe R, 2017, “Extraoral bitter taste receptors in health and disease”, *The Journal of General Physiology*, Vol. 149 No. 2 181–197, accessed 10 March 2017.

<http://jgp.rupress.org/content/149/2/181>

Margolskee R, 2001, “ Molecular Mechanisms of Bitter and Sweet Taste Transduction”, *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*, Vol. 277, No. 1, Issue of January 4, pp. 1–4, 2002, Published, JBC Papers in Press, November 5, 2001, DOI 10.1074/jbc.R100054200 , accessed 7 April 2017.

<http://www.jbc.org/content/277/1/1.full>

Meyerhof W, Born S, Brockhoff A, Behrens M , 2011, “Molecular biology of mammalian bitter taste receptors”, A review, *Flavour Fragrance Journal* , 2011, DOI 10.1002/ffj.2041 accessed 20 March 2017.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ffj.2041/full>

Mc Laughlin S, McKinnon P, Margolskee R, 1992, “Gustducin is a taste-cell-specific G protein closely related to the transducins”, *Nature*, 357:563–569, accessed 7 April 2017.

<http://www.nature.com/nature/journal/v357/n6379/abs/357563a0.html>

O’Connor T, O’Connell J, O’Brien D, Goode T, Bredin C, Shanahan F, 2004, “The Role of Substance P in Inflammatory Disease”, *JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY*, 201:167–180 ,accessed 12 May 2017.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.20061/abstract;jsessionid=66CA92FE3FDFAE74BE79E908599E8CC9.f04t03>

Pham H , Huib H, Morvaridia S, Caic J, Zhangd S, Tane J, Wug V, Levinh N, Knudsena B, Goddard W, Pandola S, Abrolaet R, 2016, “A bitter pill for type 2 diabetes? The activation of bitter taste receptor TAS2R38 can stimulate GLP-1 release from enteroendocrine L-cells”, *Biochem Biophys Res Commun.* , 2016 July 1; 475(3): 295–300. doi:10.1016/j.bbrc.2016.04.149, accessed 7 April 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4918516/>

Pydi S, Jafurulla M, Wai L, Rajinder P, Bhullar R, Chelikani P, Chattopadhyay A, 2016, “Cholesterol modulates bitter taste receptor function”, *Biochimica et Biophysica Acta* 1858 (2016) 2081–2087, accessed 20 March 2017.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273616302139>

Reszka E, Nowakowska-Świrta E, Kupczyk M, Dudek W, Świerczyńska-Machura D, Wittczak T, Rykała J, Przybek M, Jabłońska E, Kręcis B, Kuna P, Wąsowicz W, Pałczyński C, 2015, “Expression of Bitter Taste Receptors in the Human Skin In Vitro”, *J Clinic Research and Bioethics*, accessed 12 May 2017.

<https://www.omicsonline.org/open-access/expression-of-bitter-taste-receptors-in-the-human-skin-in-vitro-2155-9627-1000218.php?aid=5159>

Robinett K, Koziol-White C, Akoluk A, An S, Panettieri R, Liggett S, 2014, “Bitter taste receptor function in asthmatic and nonasthmatic human airway smooth muscle cells”, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 50:678–683, accessed 7 April 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4068928/>

Rozengurt E, 2006, “Taste Receptors in the Gastrointestinal Tract. I. Bitter taste receptors and -gustducin in the mammalian gut”, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291: G171–G177, 2006; doi:10.1152/ajpgi.00073.2006, accessed 9 June 2017, by 10.220.33.3, accessed 7 April 2017.

<http://ajpgi.physiology.org/>

Rozengurt E & Sternini C, 2007, “Taste receptor signaling in the mammalian gut”, *Current Opinion in Pharmacology* 2007, 7:557–562 ,DOI 10.1016/j.coph.2007.10.002, accessed 25 April 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2753238/>

Shaika F A, Singha N, Arakawaa M, Duana K, R, Chelikania P, 2016, “Bitter taste receptors: Extraoral roles in pathophysiology”, *The International Journal of biochemistry & Cell Biology*, 77(2016)197-204, _accessed 3 April 2017.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272516300656?via%3Dihub>

Shiffman D, O’Meara E, Bare L, Rowland C, Louie J, Arellano A, Lumley T, Rice K, Iakoubova O, Luke M, 2008, “Association of gene variants with incident myocardial infarction in the cardiovascular health study”, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 28:173–179, accessed 7 April 2017.

<http://atvb.ahajournals.org/content/atvbaha/28/1/173.full.pdf>

Singh N, Chakraborty R, Bhullar R, Chelikani P, 2014, “Differential expression of bitter taste receptors in non-cancerous breast epithelial and breast cancer cells”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 446:499–503, accessed 7 April 2017.

https://www.researchgate.net/publication/260682326_Differential_Expression_of_Bitter_Taste_Receptors_in_Non-cancerous_Breast_Epithelial_and_Breast_Cancer_Cells

Soares S, Kohl S, Thalmann S, Mateus N, Meyerhof W, De Freitas V, 2013, “Different Phenolic Compounds Activate Distinct Human Bitter Taste Receptors”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61, 1525–1533, dx.doi.org/10.1021/jf304198k, accessed 27 May 2017.

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf304198k>

Sollai G , Melis M, Pani D, Cosseddu P, Usai I, Crnjar R, Annalisa Bonfiglio A, Barbarossa I T, 2017, “First objective evaluation of taste sensitivity to 6-n-propylthiouracil (PROP), a paradigm gustatory stimulus in humans”, *Scientific Reports* | 7:40353 | DOI:10.1038/srep40353, accessed 20 March 2017.

<https://www.nature.com/articles/srep40353>

Soranzo N, Bufe B, Sabeti P, Wilson J, Weale M, Marguerie R, Meyerhof W, Goldstein D, 2005, “Positive Selection on a High-Sensitivity Allele of the Human Bitter-Taste Receptor TAS2R16”, *Current Biology*, Vol. 15, 1257–1265, July 26, 2005, DOI 10.1016/j.cub.2005.06.042, accessed 2 June 2017.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982205006779>

Sutherland K, Young R, Cooper N, Horowitz M, Blackshaw L, 2007, “Phenotypic characterization of taste cells of the mouse small intestine”, *Am. J. Physiol.* 292, G1420–G1428, accessed 17 April 2017.

<http://ajpgi.physiology.org/content/292/5/G1420.long>

Tan X, and Sanderson M, 2014, “Bitter tasting compounds dilate airways by inhibiting airway smooth muscle calcium oscillations and calcium sensitivity”, *Br. J. Pharmacol.* 171:646–662, accessed 7 April 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3969078/>

Tazzeo T, Bates G, Roman H, Lauzon A, Khasnis M, Eto M, Janssen L, 2012, “Caffeine relaxes smooth muscle through actin depolymerization”, *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 303:L334–L342. <http://dx.doi.org/10.1152/ajplung.00103.2012>, accessed 7 April 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3774218/>

Theoharides Th, Alysandratos K, Angelidou A, Delivanis D, Sismanopoulos N, Zhang B, Asadi S, Vasiadi M, Weng Z, Miniati A, 2012, “Mast cells and inflammation”, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, Volume 1822, Issue 1, 2012, 21-33, accessed 12 May 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3318920/>

Tomobe K, Yamamoto E, Kholmurodov K, Yasuoka K, 2017, “Water permeation through the internal water pathway in activated GPCR rhodopsin”, RESEARCH ARTICLE, *PLOS ONE*, May 11, 2017, accessed 20 May 2017.

<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0176876>

Wölfle U, Elsholz F, Kersten A, Haarhaus B, Muller W, Schempp Ch, 2015a, “Expression and Functional Activity of the Bitter Taste Receptors TAS2R1 and TAS2R38 in Human Keratinocytes” *Skin Pharmacology and Physiology* 2015;28:137–146

DOI: 10.1159/0003676, accessed 12 May 2017.

<https://www.karger.com/Article/FullText/367631>

Wölfle U, Haarhaus B and Christoph M. Schempp Ch, 2015b, “Amarogentin Displays Immunomodulatory Effects in Human Mast Cells and Keratinocytes”, Research Article, *Mediators of Inflammation*, Volume 2015, Article ID 630128, accessed 12 May 2017.

<http://dx.doi.org/10.1155/2015/630128>

Wu S, Rozengurt N, Yang M, Young S, Sinnott-Smith J, Rozengurt E, 2002, “Expression of bitter taste receptors of the T2R family in the gastrointestinal tract and enteroendocrine STC-1 cells”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99:2392–2397, accessed 7 April 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC122375/>

Yamamoto K & Ishimaru Y, 2013, “Oral and extra-oral taste perception”, Review, *Seminars in Cell & Developmental Biology* 24 (2013) 240–246, accessed 20 March 2017.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1084952112001462?via%3Dihub>

Yuan S, Filipek S, Palczewski K, Vogel H, “Activation of G-protein-coupled receptors correlates with the formation of a continuous internal water pathway”, *NATURE COMMUNICATIONS* | 5:4733 | DOI: 10.1038/ncomms5733 |, accessed 7 April 2017.

<https://www.nature.com/articles/ncomms5733>

Zhai K, Yang Z, Zhu X, Nyirimigabo E, Mi Y, Wang Y, Liu Q, Man L, Wu S, Jin J, Ji G, 2016, “Activation of bitter taste receptors (tas2rs) relaxes detrusor smooth muscle and suppresses overactive bladder symptoms”, *Oncotarget*, Vol. 7, No. 16, accessed 12 May 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5008275/>