

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za kemiju
Preddiplomski studij kemije

Ivona Dabić

Receptori osjeta mirisa i okusa

Završni rad

Mentor: doc. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik

Osijek, 2019.

SAŽETAK

Osjetila se mirisa i okusa koriste kemoreceptorima kako bi prenijela podražaje putem signalnih kaskada do mozga. Njuh je osjetilo mirisa koji je rezultat interakcije odoransa koji se u okolišu nalaze u obliku aerosola sa određenim receptorima u nosu, dok je okus osjet koji nastaje pobuđivanjem okusnih receptora u usnoj šupljini. Receptori oba osjetila većinom pripadaju skupini receptora vezanih s G-proteinom iako se neki podražaji, kao što su slano i kiselo, prenose putem ionskih kanala. Kod njuha, pomoću malog broja receptora možemo osjetiti jako velik broj spojeva, dok je okus ograničen na pet osnovnih vrsta. Suradnja ova dva osjetila omogućava nam kvalitetnu percepciju tvari iz okoline i naziva se kemoreceptivna senzorna interakcija.

KLJUČNE RIJEČI: okus, miris, kemoreceptori, receptori vezani s G-proteinom

ABSTRACT

Olfaction and taste use chemoreceptors to transduce stimuli using signal cascades to the brain. Olfaction is the sense of odors that results from the detection of substances which are aerosolized in the environment. In contrast, taste is evoked by stimulation of taste receptors located in the oral cavity. The receptors are mostly G-protein binding receptors although some stimuli such as salt and sour are transmitted through ion channels. Sense of olfaction uses small number of receptors, but we can feel a very large number of compounds, while the taste is limited to five basic types. Collaboration of these two senses allows a high quality perception of the substances from the environment and is called a chemoreceptive sensory interaction.

KEYWORDS: taste, olfaction, chemoreceptors, G-protein binding receptors,

SADRŽAJ

1. UVOD	5
2. OSJET MIRISA	6
2.1. Središnji njušni putevi	7
2.2. Kako dolazi do osjeta mirisa?	9
2.3. Razvoj osjeta njuha tijekom života i poremećaji	13
3. OSJET OKUSA	14
3.1. RECEPTORI OKUSA	14
3.2. GORKO, SLATKO I UMAMI	16
3.2.1. Okusni receptori tipa 1	17
3.2.2. Okusni receptori tipa 2	19
3.3. SLANO I KISELO	20
3.4. OKUS MASTI	23
4. ZAKLJUČAK	25
5. LITERATURA	26

1. UVOD

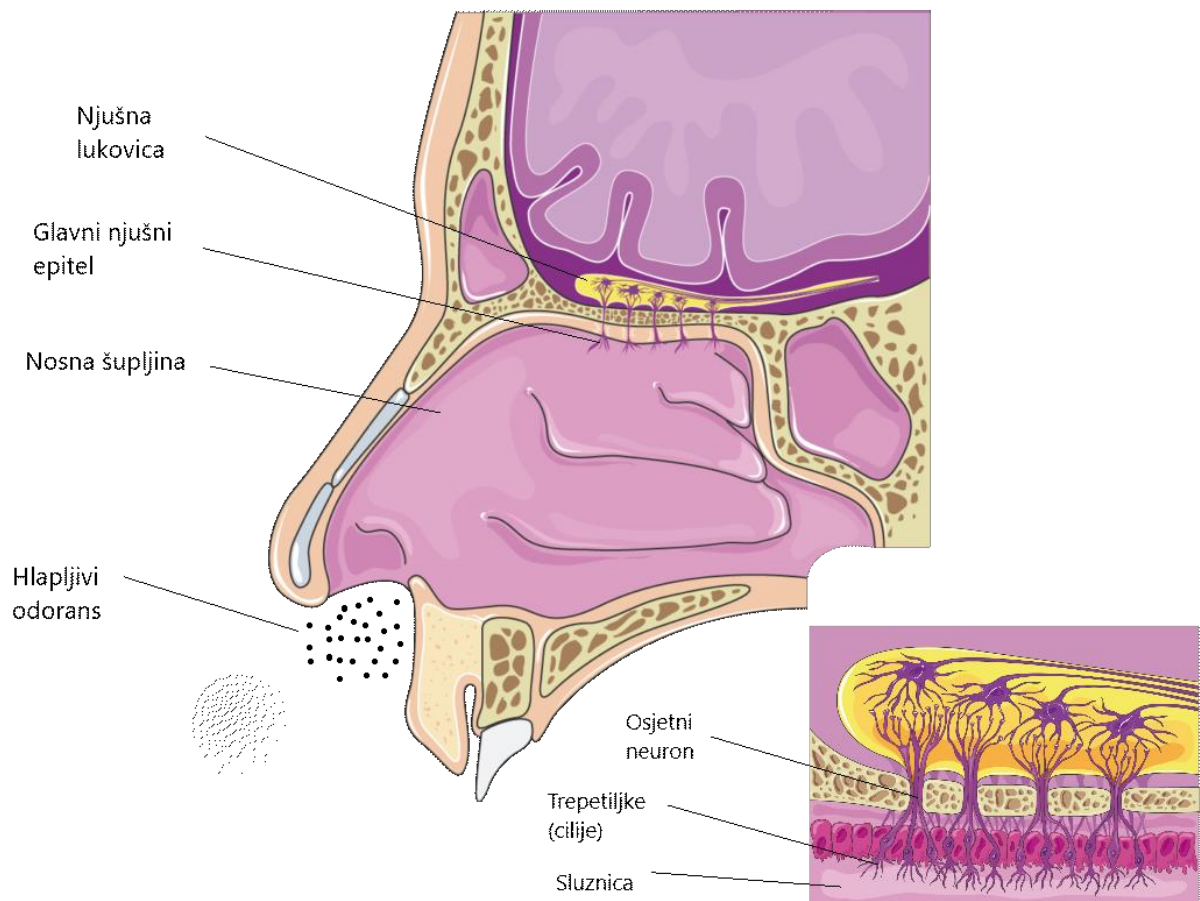
Osjeti mirisa i okusa omogućavaju nam da doživimo okolinu na potpuno drugačiji način. Njima otkrivamo kemijske tvari i razvrstavamo ih po kategorijama. Osjetni sustavi rade na temelju podržaja koji se prevode u opažaje što rezultira osjetnim iskustvom. Sustavi koji prepoznaju signale nazivaju se receptorima, a budući da osjetila njuha i okusa reagiraju na kemijske podražaje ove receptore nazivamo kemoreceptorima.

Čovjek njuhom može razlikovati veliki broj spojeva. Većina mirisnih tvari ili odoransa su organski spojevi male molekulske mase i brze hlapivosti te upravo zbog tog svojstva mogu dospjeti do nosa. Svojstva molekula odgovorna za njihov miris su oblik i njezina fizikalna svojstva pri čemu je oblik važniji. Organ njuha, receptori mirisa te prijenos mirisnih podražaja za razliku od okusa uvelike su istraženi i imamo dobar uvid u to kako dolazi do osjeta mirisa [1].

Osjet okusa obuhvaća 5 različitih osnovnih okusa: slatko, gorko, umami, slano i kiselo, a u posljednje vrijeme istraživanja pokazuju da postoji i poseban okus masti. Receptori okusa nisu istraženi opširno kao receptori mirisa, te su čak i neki mehanizmi još neotkriveni i o njima postoje samo pretpostavke. Slatko, gorko i umami otkrivaju se preko posebnih tipa receptora koje imaju male strukturne razlike i pripadaju skupini G proteina dok se podražaji za slano i kiselo prenose izravnim dodirrom molekula s različitim ionskim kanalima [2].

2. OSJET MIRISA

Miris neke tvari najviše ovisi o međudjelovanju spoja i površine na koju se veže – najčešće je to proteinski receptor. Svaki odorans, tvar koja posjeduje miris, u različitoj mjeri aktivira nekoliko receptora, također svaki od tih receptora može biti aktiviran s više odoransa. Međutim, bitno je da svaki odorans aktivira jedinstvenu kombinaciju receptora. Upravo takav kombinacijski mehanizam omogućuje razlikovanje velikog broja odoransa s pomoću malog broja receptora [3].



Slika 1: Temeljni njušni epitel[1]

Mirisi se zamjećuju u posebnom dijelu nosa koji se naziva temeljni njušni epitel, a nalazi se na krovu nosne šupljine (Slika 1). Na površini nosne sluznice, u trepetiljkama (cilijama), završava oko milijun osjetnih neurona koji sadržavaju proteinske receptora za različite mirise.

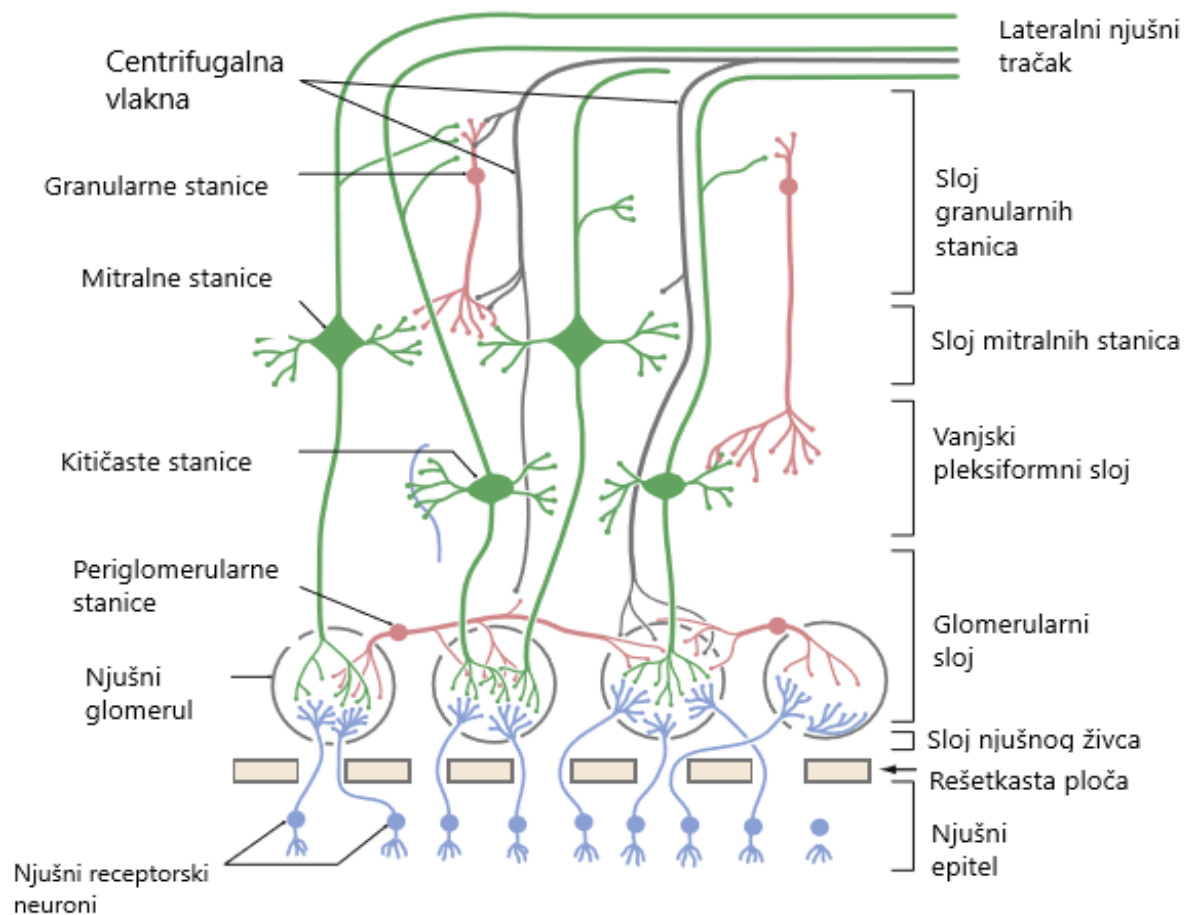
Porodica njušnih odnosno olfaktornih receptora (OR) jako je velika. Ljudski genom kodira oko 350 njušnih receptora, a uz to je još uključeno oko 500 pseudogena za OR. Ova je porodica receptora jedna od najvećih u čovjeka [1]. Početna pretpostavka bila je da se OR nalaze samo u nosu, ali otkriveno je da se ektopski¹ izražavaju i u drugim tkivima iako njihova uloga još nije otkrivena zato što nisu poznati ni odoransi koji ih aktiviraju [4].

Njuh je blisko povezan sa okusom, kao i sa drugim osjetilima; vidom, sluhom i dodirom, također blisko je povezan i sa sjećanjem zbog blizine živčanih puteva koji idu do onog dijela mozga koji je odgovoran za emocije i pamćenje. Miris surađuje s okusom kako bi se percipirale složene interakcije što se naziva kemoreceptivnom senzornom interakcijom. Ako su osjet mirisa ili okusa narušeni hrana i piće mogu mirisati drugačije ili imati drugačiji okus. To je jedan od razloga zašto je osjet njuha neophodan u životu; zapravo oko 5% ljudske DNA posvećeno je ovom osjetilu. U ranim godinama života osjet njuha može usmjeriti orijentaciju i pokrete novorođenčadi prema majčinom mirisu, a u kasnijim godinama ovaj osjet može potaknuti ljude da slijede trag mirisa [5].

2.1. Središnji njušni putevi

Središnji njušni putevi se odnose na dijelove njušnog sustava u središnjem živčanom sustavu, a sastoje se od njušne lukovice (lat. *bulbus olfactorius*), njušnog tračka (lat. *tractus olfactorius*) i bazalnog njušnog polja (lat. *area olfactoria basalis*). Njušna lukovica nalazi se na rešetkastoj ploči (lat. *lamina cribiformis*) etmoidne kosti i sa ostatkom mozga je povezana pomoću njušnog tračka. Donji dio njušnog tračka je put kojim prolaze mnoga centrifugalna vlakna kako bi došla do njušne lukovice. Njušna lukovica se sastoji od pet jasno definiranih slojeva stanica i vlakana koji joj daju laminarnu strukturu. Od površine prema unutra to su sloj njušnog živca, glomerularni sloj, vanjski pleksiformni sloj, sloj mitralnih stanica i sloj granularnih (zrnatih) stanica (Slika 2). Projekcije koje dolaze iz njušnog epitela formiraju mirisni živčani sloj na površini njušne lukovice. Ovi aksoni završavaju isključivo u mirisnim glomerulima koji se nalaze u glomerularnom sloju lukovice. Akson svakog mirisnog neurona ima sinapse sa samo jednim glomerulom. Završeci ovih aksona raspoređeni su tako da neuroni koji izražavaju isti podtip receptora ciljaju na nekoliko istih glomerula. Prema tome može se zaključiti da svaki glomerul prima samo jedan tip receptora.

¹ ektopski – sve što se događa izvan mjesta ili se nalazi u abnormalnom ili neočekivanom položaju



Slika 2: Shema njušne lukovice [2]

Glomeruli su najistaknutije obilježje njušne lukovice. Jezgra njušnog glomerula sastoji se od aksona njušnih neurona koji se granaju i završavaju na razgranatom kraju primarnih dendrita, dendrita koji imaju mitralne i kitičaste stanice. Ove dvije vrste stanica su funkcionalno slične i zajedno čine eferetne neurone njušne lukovice. Uz glomerul se nalaze mali interneuroni od kojih su glavne periglomerularne stanice. Postoji značajna konvergencija na razini mirisnih glomerula; tisuće mirisnih receptorskih neurona tvore pobuđivačke (glutaminergične) aksodendritske sinapse na mitralnim, kitičastim i periglomerularnim stanicama. Druge značajne sinaptičke poveznice unutar glomerula su recipročne i serijske dendro-dendritske sinapse između mitralnih ili kitičastih i periglomerularnih stanica. Sinapse mitralnih i kitičastih stanica na periglomerularnim stanicama su pobuđivačke (glutaminergične) dok su sinapse periglomerularnih stanica na mitralnim i kitičastim

stanicama inhibitorne (GABA²-ergične). Glomerularni sloj prima i signale iz drugih područja središnjeg živčanog sustava preko centrifugalnih³ osjetnih vlakana (aferenata) koji koriste široki raspon neurotransmitera i neuromodulatora. Pobuđivačke aminokiseline kao naprimjer glutamat prisutne su u centrifugalnim vlaknima koji nastaju u kortikalnim strukturama. Vanjski sloj vanjskog pleksiforma sastoji se od some mitralnih i kitičastih stanica i apikalnih dendrita stanica granula. Unutar tog sloja apikalni dendriti stanica granula formiraju recipročne dendrodendritske GABAergične sinapse sa sekundarnim dendritima mitralnih i kitičastih stanica. [2]

2.2. Kako dolazi do osjeta mirisa?

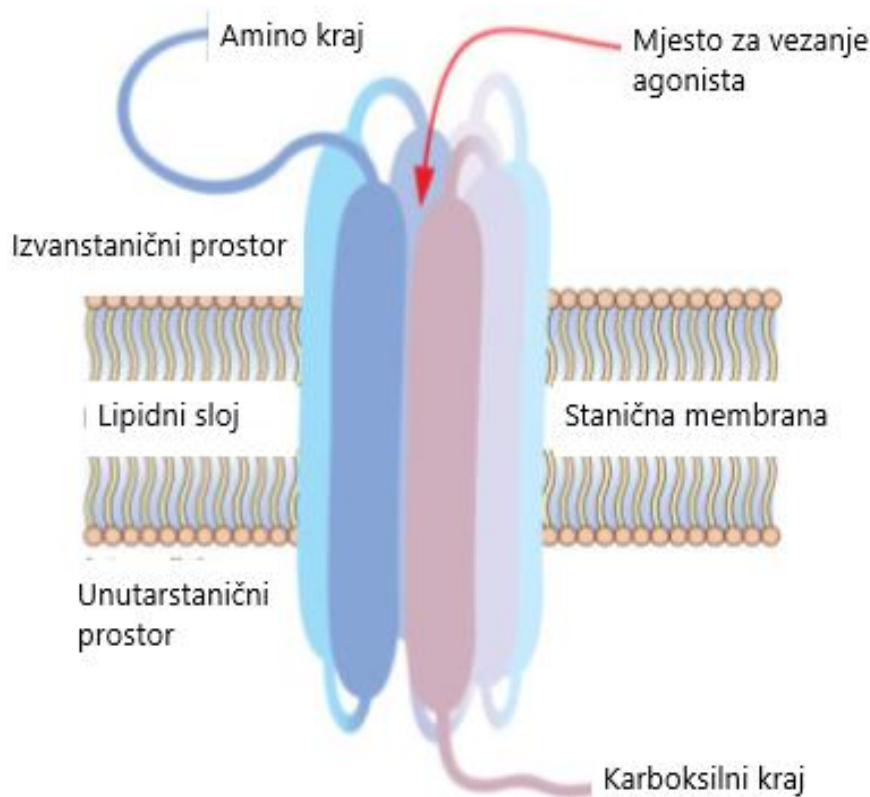
Molekule mirisa odnosno odoransi su spojevi koji isparavaju i putuju zrakom do nosnica. Obično se mirisi susreću s trepetiljkama (lat. *ciliae*) osjetilnih neurona koje su uronjene u sloj sluznice na krovu svake nosnice gdje disociraju [4]. Osjetilni receptori, koji se nazivaju još i kemoreceptori, nalaze se u njušnom epitelu koji se nalazi visoko u nosnoj šupljini [6].

Njušni epitel sastoji se od osjetilnih neurona od kojih svaki sadržava osjetne stanice (glavnu ciliju), potporne stanice i bazalne stanice [4]. Bazalne stanice stvaraju nove receptorske stanice svakih mjesec ili dva kako bi nadomjestile neurone koji propadaju zbog izlaganja okolišu. Potporne stanice su epitelne stanice bogate enzimima koje oksidiraju hidrofobne hlapljive odoranse čime te molekule čine manje topljivima u lipidima i tako onemogućavaju njihov prolaz kroz membrane i ulazak u mozak [7]. Njušni epitel je mjesto u kojemu neuroni detektiraju različite mirise. Ti neuroni sposobni su detektirati tisuće različitih mirisa i zato je njihova cjelovitost od velike važnosti. Nakon što molekule mirisa disociraju u sluznici one se vežu za receptore na cilijama [4]. Ti receptori pripadaju skupini 7TM transmembranskih receptora koji su izrazito važni. Ljudski genom ima 750 sekvencija za ove receptore i upravo su oni mete 30% lijekova. Struktura ovih receptora sastoji od N-terminalnog dijela polipeptidnog lanca koji je na vanjskoj strani membrane, a polipeptid prolazi kroz membranu sedam puta tako da je drugi dio, C-terminalni, na unutarnjoj, citoplazmatskoj strani membrane. Izvanstanične petlje posjeduju receptorsko mjesto za

²γ-aminomaslačna kiselina

³ Onih koji idu od živčanih centara do periferije

prigodnog agonista (ligand ili lijek) čije vezanje mijenja trodimenzionalnu konformaciju receptorskog proteina (Slika 3).

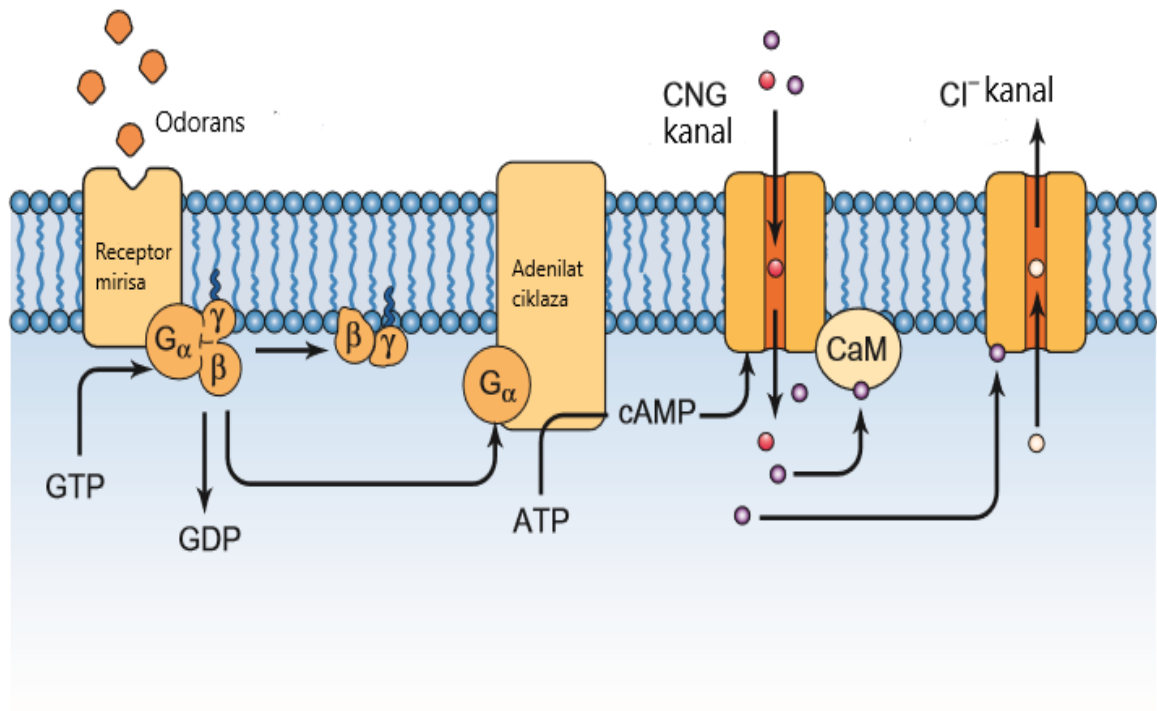


Slika 3: Struktura 7TMr receptora [8]

Konformacijske promjene u unutarstaničnim petljama aktiviraju G protein. [8]. Ovaj protein je heterotrimer i sastoji se od α , β i γ podjedinica, a na početku se nalazi u obliku koji veže GDP. Nakon aktivacije, G-protein otpušta GDP, umjesto njega veže GTP i otpušta $\beta\gamma$ podjedinicu. Nakon toga, α podjedinica aktivira adenilat ciklazu, enzim koji se nalazi unutra plazmatske membrane cilija. Adenilat-ciklaza katalizira pretvorbu ATP-a u ciklički adenosin monofosfat (cAMP). Porast koncentracije cAMP-a u njušnim cilijama aktivira otvaranje kanala ovisnih o cikličkim nukleotidima (eng. *cyclic nucleotide gated*, CNG) što dovodi do porasta unutarstanične koncentracije kationa, uključujući i ione kalcija te dolazi do depolarizacije membrane i započinje odašiljanje akcijskog potencijala [9].

Njušni neuroni sadržavaju veoma visoku koncentraciju unutarstaničnog Cl^- tako da je pokretačka sila za ione klora iz unutrašnjosti stanice prema van. Porast koncentracije Ca^{2+} aktivira Cl^- kanal cilija koji se naziva anoktamin 2 (ANO2) [10]. Aktivacija provodnosti klora

dodatno depolarizira stanicu. Ta dodatna depolarizacija može biti važna za očuvanje ionskih pogonskih sila preko membrane u odjeljku koji nije posebno reguliran; promjena koncentracije iona u sluznici može utjecati na pogonsku silu iona tako da mirisni neuron održava vlastitu pokretačku snagu održavanjem visoke unutarstanične koncentracije Cl_2 . Stanične membrane posjeduju električni potencijal i zbog toga je moguće da aktivacija nekoliko desetaka kanala dovodi membranu do praga za stvaranje akcijskog potencijala [11]. Tri molekule cAMP-a potrebne su da se otvori jedan kanal, ali tisuće iona mogu kroz njega proći membranu. Postoji mogućnost da jedna molekula odoransa proizvede mjerljivi električni potencijal u njušnom senzornom neuronu, amoguće je i da aktivacija nekoliko kanala dovede membranu do praga za stvaranje akcijskog potencijala. Prema tome je u teoriji moguće da granica detekcije mirisa bude jedna molekula [12]. Tok kationa kroz kationski kanal uzrokuje depolarizaciju neuronske membrane i tako započinje odašiljanje akcijskog potencijala. Taj akcijski potencijal udružen s akcijskim potencijalima drugih njušnih neurona dovodi do svjesnog opažanja odnosno percepcije mirisa [1]. Ovaj proces provodi se duž njušnog živca sve do njušne lukovice u stražnjem dijelu nosa gdje se identificiraju mirisi i pobuđuju sjećanja i emocije. Osjetilni receptori u njušnoj lukovici to postižu tako što šalju poruke najprimitivnijim dijelovima mozga (strukturama limbičkog sustava zaduženim za emocije i pamćenje). Limbički sustav sastoji se od povezanih struktura unutar sredine mozga i povezan je sa središnjim živčanim sustavom. Ove strukture zajedničkim radom utječu na razna ponašanja koja uključuju emocije, pamćenje i motivaciju, odnosno ona ponašanja koja su više automatska i instiktivna. Kada primitivni i viši centri mozga surađuju mogu percipirati mirise pristupajući memoriji mirisa i pobuditi razne emocije povezane sa određenim mirisima [5].



Slika 4: Depolarizacija mirisnog neurona [11]

Postoje dokazi o još jednom unutarstaničnom putu drugog glasnika u prijenosu mirisa. Za ovaj se put, koji uključuje inozitol-1,4,5–trifosfat (IP3) smatra da djeluje ili odvojeno ili zajedno sputem cAMP-a. U njemu, vezanje mirisa na receptore aktivira G protein koji aktivira fosfolipazu C i dolazi do proizvodnje IP3. IP3 otvara kanal u cilijarnoj membrani koji omogućuje ulazak kalcija.

Istraživanja pokazuju da njušni neuroni izražavaju samo jedan tip mirisnih receptora i da su specifični podtipovi receptora prvenstveno podijeljeni unutar jedne od ukupno četiri bilateralno simetrične zone njušnog epitela. Ovakva specifičnost omogućava stvaranje predložaka dobivenih informacija kako bi semogle dalje obraditi u njušnoj lukovici [2].

Ljudski osjet mirisa je više osjetljiv nego ostala osjetila i prepoznavanje mirisa može biti trenutačno za razliku od osjeta okusa i dodira koji moraju komunicirati preko neurona kroz ljudsko tijelo i leđnu moždinu prije nego što dođu do mozga. Ovaj sustav omogućava direktno izlaganje središnjeg živčanog sustava okolini i zbog toga neki toksični mirisi mogu biti opasni [5].

2.3. Razvoj osjeta njuha tijekom života i poremećaji

Naše osjetilo njuha aktivno je čak i u najranijim razdobljima životima, fetus može detektirati mirise i prije rođenja zato što mirisi mogu proći plodnu vodu i upravo zato je osjetilo njuha dominantno. Nakon prvog tromjesečja trudnoće, fetus već može detektirati mirise hrane i piće koje majka konzumira. Osjetilo mirisa i okusa najjači su pri rođenju, a već do prve godine života dijete može percipirati okuse hrane i pića. Kasnije, u odrasloj dobi do smanjenja osjeta mirisa može doći bilo kada tijekom životnog ciklusa, zbog čimbenika kao što su obična prehlada ili gripa, trauma glave, blokiranje nosa ili sinusa, ali veće promjene pojavljuju se sa starenjem. Akutni miris može trajati do 50 ili 60 godina, a nakon toga starije osobe mogu iskusiti određeni pad, s većim promjenama u 70-im i 80-ima. Pojedinci koji izgube osjećaj mirisa tijekom starenja mogu biti izloženi većem riziku od neuroloških poremećaja, osobito Alzheimerove i Parkinsonove bolesti [5]. Najpoznatiji poremećaji njušnog sustava su anozmija ili hipozmija, nemogućnost ili smanjena mogućnost osjećanja mirisa. Ovi poremećaji umanjuju sposobnost osjetila da detektira upozoravajuće mirise u hrani i okolišu, te ometaju kvalitetu života. Posebna vrsta anozmije je specifična anozmija, a odnosi se na pretpostavku da svaki pojedinac ne može detektirati barem jedan miris koji je "slijepa točka" i vjerojatno je naslijeđen. Najbolji način prevencije poremećaja je olfaktorni trening, odnosno treniranje osjetila budući da specifični tretmani liječenja nisu definirani [13].

3. OSJET OKUSA

Osjetom okusa možemo razlikovati znatno manje kategorija nego njuhom. Imamo pet osnovnih okusa: gorko, slatko, kiselo, slano i umami. Ovih pet okusa služe nam da stvari razvrstamo u hranjive i korisne (umami, slatko, slano) te potencijalno štetne i otrovne (kiselo, gorko).

Molekule koje osjećamo okusom nazivaju se gustansi. Gustansi iz pet skupina okusa pokazuju znatne strukturne razlike, a razlike u njihovoj specifičnosti prisutne su zbog razlike u biokemijskim mehanizmima kojima djeluju. Gustanse osjećamo tvorbama koje se nazivaju okusni pupoljci, nalaze se u okusnim papilama i imaju oko 150 stanica. Mikroresice strše s jednog kraja svake osjetne stanice do površine jezika i bogate su okusnim receptorima. Živčana vlakna koja su povezana sa bazalnom površinom osjetnih stanica vode električne podražaje u mozak kao rezultat na podražaj gustansima [1].

Među ljudima postoje razlike u interpretaciji okusa, odnosno okus je na neki način subjektivan doživljaj te se populacija može podijeliti na ljude koji okuse osjećaju jako, srednje te slabo ili nikako. Rezultati nekih istraživanja pokazuju da 25% populacije okuse osjećaju jako pri čemu je u ovoj skupini više ženskih osoba (34%) nego muških (22%), 50% okuse osjeća srednje te preostalih 25% slabo. Osobe koje jako osjećaju okuse imaju pojačan okus gorkoga te je manje vjerojatno da će gorke okuse alkohola i kofeinskih napitaka smatrati ugodnima. Iako je ova podjela najviše usmjerena na okus gorkoga, vrijedi i za ostale [14].

3.1. RECEPTORI OKUSA

Receptorske stanice okusa organizirane su u okusne pupoljke. Okusni pupoljci su polarizirane strukture s uskim apikalnim otvorom koji se naziva okusna pora i bazolateralnim sinapsama s aferentnim živčanim vlaknima. Kemijska detekcija podražaja odvija se u specijaliziranim epitelnim stanicama receptora okusa (eng. *taste receptor cells*, TRCs). Kod kralježnjaka, okusne receptorske stanice najčešće se nalaze u okusnim pupoljcima koje čine ovalni skupovi od 50 do 100 stanica. Ti su pupoljci uklopljeni u jezični epitel i smješteni su unutar papila [11]. Razlikuju se četiri vrste papila: nitaste (lat.

papillae filiformes), okružene (lat. *papillae circumvallatae*), gljivaste (lat. *papillae fungiformes*) i listaste (lat. *papillae foliatae*). Okusni pupoljci na prednje dvije trećine jezika nalaze se u gljivastim papilama. Oni su raspršeni između nitastih papila koje se nalaze na površini jezika i ne sudjeluju u okusu. Veličina, oblik i broj gljivastih papila varira i obično se na dorzalnom epitelu nalaze dva do četiri okusna pupoljka. Okružene papile nalaze se na dorzalnoj površini jezika na spoju oralne i ždrijelne šupljine, ima ih od 8 do 12, a svaka se sastoji od središnje papile koja je okružena rascjepom u čijem se epitelu nalaze okusni pupoljci. Jedna listasta papila na svakoj strani jezika pojavljuje se kao niz rascjepa duž lateralnog ruba. Svaka se papila sastoji od 2 do 9 rascjepa, a najčešće ih je pet.

Okusni pupoljci se sastoje od četiri tipa stanica; potporne stanice koje obavljaju glijalne funkcije; receptorske stanice koje imaju receptore koji vežu G-protein za gorko, slatko i umami; presinaptičke stanice koje nemaju receptore okusa koji vežu G-protein, ali imaju kanale koji provode kiseline i imaju ulogu u detekciji kiselih podražaja. Posljednji tip su bazalne stanice koje su progenitorne.

Okusne stanice se protežu od bazalne lamine do površine epitela. Apikalni krajevi ovih stanica pokriveni su mikrovilama različite duljine koje se pružaju do okusnih pora (lat. *porus gustatorius*). Pora formira džep kroz koji slina, s otopljenim komadićima hrane, dolazi do apikalne površine stanica u okusnim pupoljcima. Svaki okusni pupoljak je inerviran sa više od jednog aferentnog vlakna, a jedno vlakno može inervirati više okusnih pupoljaka [2].

Senzorna vlakna koja podražavaju okusne pupoljke putuju u 7., 9. i 10. moždani živac. Vlakna *chordae tympani*, 7. moždanog živca (lat. *nervus facialis*), inerviraju okusne pupoljke na prednjem dijelu jezika, unutar gljivičnih i prednjih listastih papila [11]. Veliki površinski petrozni živac, također grana sedmog živca, inervira okusne pupoljke na mekom nepcu [2]. Jezična grana jezično – ždrijelnog živca, 9. moždanog živca (lat. *nervus glossopharyngeus*) inervira okusne pupoljke unutar okruženih papila i stražnjih listastih papila dok gornja grkljanska grana lutajućeg (10.) moždanog živca (lat. *nervus vagus*) inervira okusne pupoljke nepčane resice i jednjaka. Ovi živci prenose informacije o okusu kako do okusnih područja u moždanom deblu tako i do krugova koji su uključeni u oralno-motorne reflekse [11].

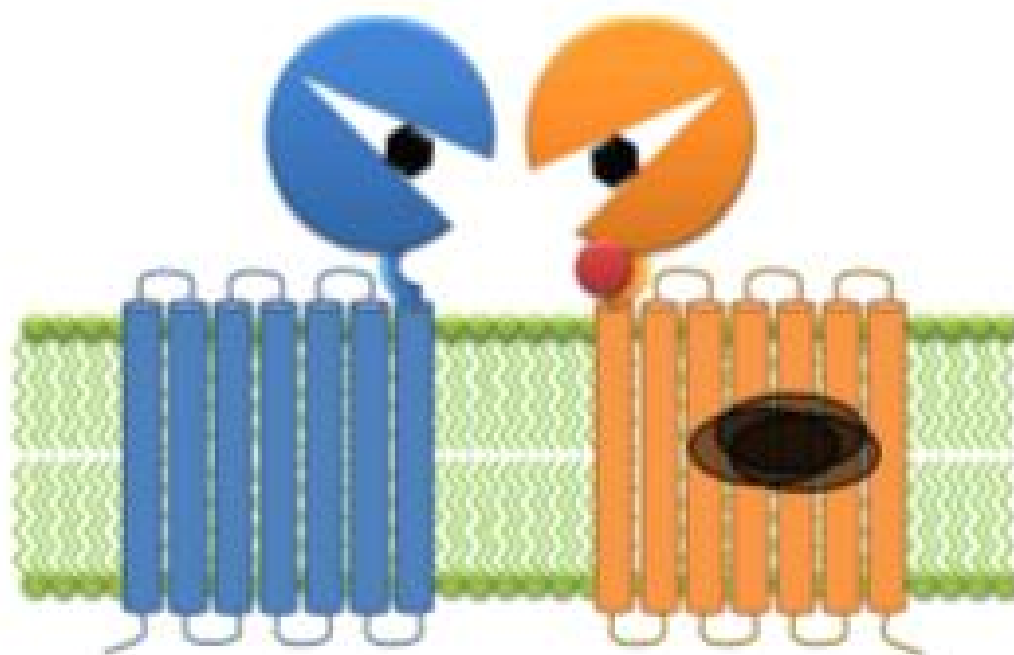
3.2. GORKO, SLATKO I UMAMI

Ovi okusi uključuju receptore koji vežu G-protein, a za otkrivanje detalja ovih osjeta bilo je potrebno dugo vremena zbog nedostupnosti okusnih receptora i manjka visoko-afinitetnih liganada specifičnih za receptore okusa [11]. Slatko, gorko i umami podražaji provode se signalnim kaskadama povezanim s G-proteinima, a gorki spojevi se obično detektiraju na nižim koncentracijama nego slatko i umami [15].

Kaskada prijenosa okusa nije u potpunosti objašnjena kao što je mirisna, ali postignut je velik napredak u otkrivanju ključnih molekularnih komponenti. Prva heterotrimerna podjedinica G-proteina uključena u proces percepcije okusa je α -gustducin. Ta je podjedinica klonirana iz okusnog tkiva i izražena je u oko 25-30% okusnih receptorskih stanica okruženih, listastih i gljivastih papila. α -Gustducin je blisko povezan sa transducinom, fotoreceptorskom α podjedinicom G-proteina ($G\alpha_{14}$) koja je također izražena u okusnim stanicama. α -Gustducin ima ulogu u slatkome, gorkome i umami okusu. U TRC-u α -gustducin povezan je sa β i γ podjedinicama G-proteina, $G\beta_3$ i $G\gamma_{13}$. Ove podjedinice aktiviraju efektorski enzim fosfolipazu C- β_2 (PLC β_2) koja proizvodi druge glasnike, IP $_3$ i diacilglicerol cijepanjem membranskog fosfolipida fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfata. U mnogim stanicama signaliziranje putem fosfoinozitida dovodi do porasta unutarstanične koncentracije kalcija kroz njegovo oslobađanje iz unutarstaničnih zaliha uslijed otvaranja ili zatvaranja IP $_3$ -ovisnih kanala u endoplazmatskog epitela. Nepoznato je da li IP $_3$ ima ekvivalentnu ulogu u transdukciji TRC, no takav bi utjecaj bio u skladu s time da okusne stanice posjeduju kationske kanale koji se aktiviraju putem Ca^{2+} . TRP kanal (eng. *transient receptor potential channels*) tipa M5 (TRPM5) neophodan je za normalnu funkciju slatkog, gorkog i umami okusa. Pored toga u prijenosu mirisa određenu ulogu ima i cAMP, najvjerojatnije kao posrednik prilagodbe okusa. Postoji regionalizacija osjetljivosti koja je u skladu sa opažanjem da su okusni receptori i unutarstanične signalne komponente različito lokalizirane duž okusnog epitela. Naprimjer, α -gustducin je izražen samo u podskupu TRC-a iako se nalazi duž epitela, a $G\alpha_{14}$ se najvećim dijelom nalazi na stražnjem dijelu jezika. T1R1, T1R2 i T2R također su različito raspoređeni. Ti različiti obrasci izražavanja naglašavaju funkcionalnu i molekularnu složenost prijenosa okusa i razumijevanja različitih signalnih kaskada u okusnom sustavu [11].

3.2.1. Okusni receptori tipa 1

Okusni receptori tipa 1, T1R receptori (eng. *type 1 taste receptors, T1Rs*) prepoznaju podražaje slatkog i umami okusa. Prvi receptori koji vežu G-protein identificirani su 1999. godine, a danas se nazivaju T1R1 i T1R2. Ovi receptori pripadaju skupini C GPCR proteina i kao N-kraj imaju izvanstaničnu VFT (eng. *venus flytrap*) domenu koja podsjeća na listove biljke venerine muholovke po čemu je i dobila ime. Ona je povezana sa 7TM domenom preko domene bogate cisteinom [16] (Slika 5). VFT se sastoji od dva režnja koji mogu imati otvorenu (neaktivnu) i zatvorenu (aktivnu) konformaciju [15]. Pored T1R1 i T1R2 otkriven je i gen koji kodira trećeg člana obitelji - T1R3. T1R su različito raspodijeljeni u okusnom epitelu: T1R1 i T1R2 izraženi su u posebnim populacijama TRC-ova (T1R1 nalazi se pretežno na prednjem jeziku, a T1R2 pretežno na stražnjem jeziku), ali uvijek su izraženi zajedno sa T1R3, te ta različita raspodjela upućuje na različite funkcije T1R1 i T1R2. Određene mutacije u mišjem *Tas1r3* genu (koji kodira T1R3) povezane su sa smanjenom osjetljivošću na slatke spojeve, uključujući saharin i druge prirodne šećere. Identifikacija *Tas1r3* kao gena osjetljivog na saharin uputila je na to da bi T1R-ovi mogli biti odgovorni za okus slatkog. T1R funkcioniraju kao heteromerni receptori (najvjerojatnije dimeri), a kombinacijom T1R2 i T1R3 nastaje receptor za spojeve slatkog okusa kao što su šećeri, zaslađivači i neke D-aminokiseline.

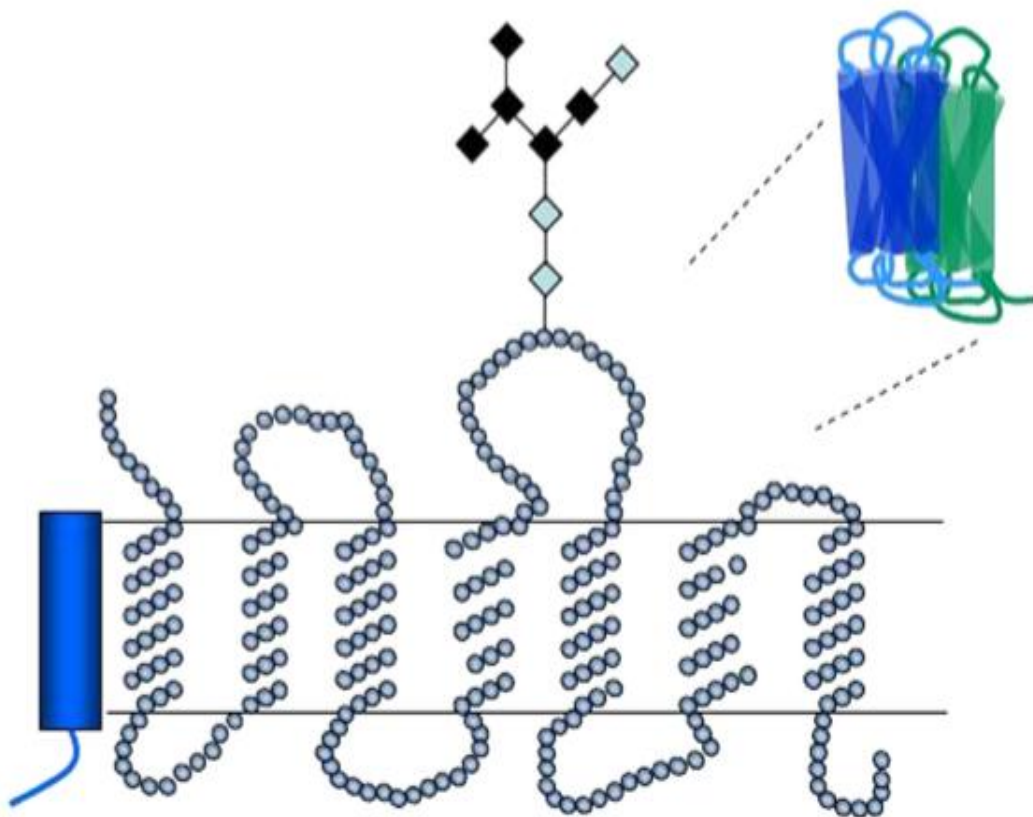


Slika 5: Struktura receptora tipa 1 – Podjedinica TAS1R2 (plavo) i podjedinica TAS1R3 (narančasto) nalaze se u lipidnom sloju membrane (zeleno). Vezna mjesta za mono- i disaharide (crni heksagon) nalaze se unutar VFT domene kao, a vezno mjesto za slatke proteine (crveni krug) na cisteinn bogatoj domeni [16].

Za razliku od gore navedenog, T1R1/T1R3 heteromeri nisu osjetljivi na sladak okus nego reagiraju na umami, koji uključuju L-aminokiseline. T1R1/ T1R3 odgovori potencirani su 5'-ribonukleotidima što je karakteristično za umami okus [11]. Ljudski receptori umami okusa reagiraju na L-glutamat i u manjoj mjeri na L-aspartat. Struktura ovih receptora identična je kao i kod receptora za slatko. Vežanje L-glutamata odvija se na umami-specifičnoj podjedinici T1R1 unutar VFT domene. 5'-ribonukleotidi kao što je inozin-monofosfat (IMP) također reagiraju sa VFT domenom. Agonist, L-glutamat prvi se veže na domenu, a naknadno vežanje IMP stabilizira aktivnu konformaciju što objašnjava pojačavanja u odgovoru receptora. TAS1R1/TAS1R3 su primarni receptori umami okusa iako postoje još neki okusni receptori za L-glutamat [16].

3.2.2. Okusni receptori tipa 2

Određena obitelj receptora koja je zadužena za detekciju gorkih okusa su okusni receptori tipa 2 (eng. *type 2 taste receptors*). Gorki gustansi strukturno su raznoliki, uključuju ione, peptide, alkaloida, polifenole, glukozinolate, što upućuje na višestruke receptore i/ili puteve detektiranja. Ključnu ulogu u otkrivanju gorkih spojeva imaju GPCR. T2R obitelj sadrži oko 30 GPCR-ova čiji su geni (*Tas2rs*) prvi identificirani na temelju njihove blizine genskim lokusima odgovornim za gorak okus, te pripadaju skupini A GPCR i čine drugu po veličinu osjetilnu GPCR obitelj, poslije one u osjetilu njuha [15]. Ovi receptori često su izdvojeni kao posebna grupa GPCR zato što se razlikuju od T1R, ali imaju neke slične strukture, N-terminalni dio im je izvanstanični, a karboksilni dio unutarstanični dok su im transmembranske domene povezane sa tri izvanstanične i unutarstanične petlje [11]. T2R su glikoproteini s ključnim mjestom za glikozilaciju na amidnom dušiku asparagina (N-veza) koji se nalazi u drugoj izvanstaničnoj petlji; dodatna mjesta za N-glikozilaciju prisutna su u nekim T2R (Slika 6). Glikozilacija je dokazana i jako važna za funkciju receptora [16].

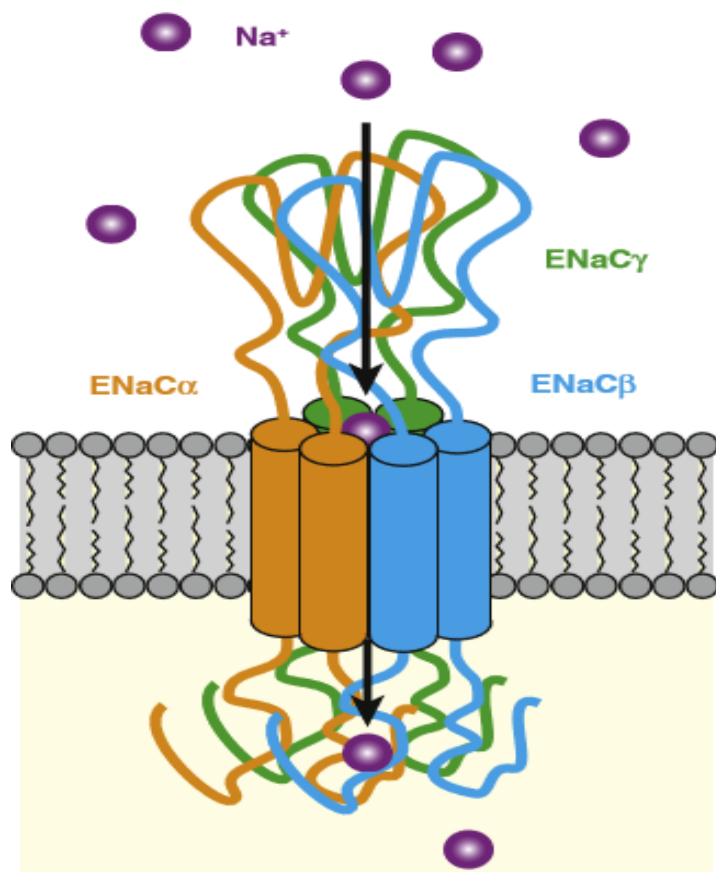


Slika 6: Struktura receptora tipa 2– aminokiselinski slijed receptora prikazan je u središtu u obliku zmijske, a N terminalni dio nalazi se na vrhu jedne od petlji [16]

3.3.SLANO I KISELO

Prijenos podražaja koji dovode do slanog i vjerojatno nekih kiselih i gorkih okusa rezultat je direktne interakcije određenih molekula sa specifičnim ionskim kanalima koji se nalaze u apikalnim membranama stanica [2]. Neke soli kao što su NaCl i KCl mogu izazvati percepciju slanog okusa. Najmanje dva različita molekulska mehanizma posreduju u okusu soli kod sisavaca: jedan je Na⁺ specifičan dok drugi odgovara na sve slane podražaje [11]. Mehanizam za prijenos podražaja natrijevih soli uključuje prolazak natrija kroz kationske natrijeve kanale osjetljive na amilorid⁴ (eng. *amiloride-sensitive epithelial sodium channels, EnaCs*) [2]. EnaC je heteromer (najvjerojatnije trimer) koji se sastoji od α , β i γ podjedinica, a one su smještene na apikalnoj membrani TRC-a. Ovi kanali sastoje se od dvije transmembranske podjedinice povezane izvanstaničnom petljom, nisu osjetljivi na napon i selektivni su za Na⁺ ione (Slika 7). Važna uloga EnaC je regulacija toka iona natrija kroz epitele raznih tkiva, a sudjeluju i u održavanju homeostaze između soli i vode u bubrezima [17].

⁴ diuretik, derivat pteridina



Slika 7: Struktura ENaC-a [17]

Na^+ -specifična komponenta okusa soli može se blokirati pomoću amilorida u jako malim koncentracijama. Ovaj mehanizam nedavno je potvrđen demonstracijom na miševima kojima je nedostajala ENaC α podjedinica i u ukusnim pupoljcima bilo je manje Na^+ specifičnog slanog okusa [11]. Za kalijeve soli mehanizam je sličan, a put za prijenos nekih kiselih i gorkih podražaja uključuje blokiranje apikalnih kalijevih kanala ovisnih o naponu. Kada je potencijal u mirovanju postoji mala kalijeva struja iz unutrašnjosti stanice prema van. Protoni koji dolaze od kiselih podražaja kao što je recimo HCl blokiraju tu kalijevu struju i depolariziraju stanicu.

Kiseli je okus funkcija kiselosti otopina i ovisi najviše o koncentraciji protona, a manje o vrsti aniona. Predloženo je nekoliko mehanizama za posredovanje kiselog okusa, uključujući i otvaranje ionskih kanala ovisno o protonima ili pH, izravan tok protona kroz ionske kanale ili unutarstanično zakiseljavanje ionskih kanala [2]. Glavni odgovoran za podražaj kiselog je proton (H^+ odnosno hidronijev ion HCO_3^+) koji djeluje na različite

načine, ovisno o izvoru. Slabe organske kiseline najvjerojatnije prolaze kroz plazmatske membrane kao neutralne molekule, a njihova disocijacija unutar citoplazme uzrokuje unutarstanično zakiseljavanje. Točan mehanizam još nije poznat, ali zakiseljavanje je najvjerojatnije rezultat stanične depolarizacije koja nastaje zbog inhibicije kalijevih kanala ili aktivacije nekih drugih kationskih kanala. Protoni jakih kiselina, koje su potpuno disocirane u izvanstaničnim otopinama, ulaze u TRC kroz kanale plazmatskih membrana. Ovaj tok protona može istovremeno uzrokovati početnu depolarizaciju TRC-a kao i doprinijeti unutarstaničnom zakiseljavanju drugih proteina, uključujući i ionske kanale. Kanali i transporteri koji su predloženi kao receptori kiselog okusa su: kationski kanal osjetljiv na amilorid (eng. *amiloride-sensitive cation channel 1*, ACCN1); ciklički nukleotidni kanal aktiviran hiperpolarizacijom (eng. *hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 1*, HCN1) i HCN4; kalijev kanal s dvije pore (eng. *the two-pore potassium channel*, KCNK3 TASK-1) i izmjenjivački izoform Na^+/H^+ (eng. *Na⁺-H⁺ exchanger isoform 1*, NHE-1). Smatra se da izvanstanični izooblik ugljične anhidraze, CAR4, ima ulogu u prijenosu neuobičajenog kiselog podražaja, onog koji dolazi od plinovitog CO_2 , ali CAR4 najvjerojatnije ima ulogu u katalizi CO_2 pri čemu se otpuštaju protoni koji onda zakiseljavaju TRC [17].

3.4.OKUS MASTI

U posljednje vrijeme istraživanja pokazuju postojanje još jednog, šestog, okusa, a to je okus masti koji se percipira u unutrašnjosti usne šupljine. Neke molekule koje doprinose percepciji okusa masti pripadaju skupini GPCR, dok neke ne pripadaju. Pretpostavlja se da molekule koje se nalaze u usnoj šupljini pripadaju skupini "odgođenih ispravljča" kalijevih kanala (eng. *delayed rectifying K⁺ channels, DRK*), a prvo su identificirani u okusnim pupoljcima glodavaca dok kod ljudi još nisu dokazani [16]. Nalaze se unutar apikalne membrane jezičnih okusnih stanica što omogućava protok iona kalija u izvanstanični prostor, a blokiraju ih polinezasićene masne kiseline, direktno ili indirektno što dovodi do depolarizacije stanice i prijenosa signala. Drugi protein odgovoran za orosenzornu percepciju masti je prijenosnik masnih kiselina CD36. Aminokiselinski slijed CD36 pokazuje da je to transmembranski glikoprotein koji ima izvanstanični hidrofobni džep između citoplazmatskih amino i karboksilnih terminalnih dijelova što omogućava ulazak signala u stanicu [18]. Višestruka mjesta glikolizacije i disulfidni mostovi neophodni su za unutarstaničnu obradu podataka [19]. Jedna od uloga CD36 je vezanje oksidiranih LDL što pospješuje nakupljanje kolesterola u krvi i stvaranje plakova što dovodi do ateroskleroze, a pored toga utječe i na pojavu pretilosti te dijabetesa tipa 2 [20].

Otkriveno je da su slobodne masne kiseline primarni stimulans za okus masti kod glodavaca i ljudi, a GPCR koji odgovaraju na taj podražaj su GPR41, GPR43, GPR84 i GPR120. Ovi receptori reagiraju na masne kiseline različitih duljina lanca: dva receptora, GPR41 i GPR43 reagiraju na kratkolančane masne kiseline s duljinom lanca do 7 C atoma. Receptor GPR84 aktiviraju masne kiseline koje imaju lanac srednje dužine, od 9 do 14 C atoma, GPR40 aktiviraju masne kiseline srednjih i dugih lanaca (C7) dok GPR120 odgovara na podražaje masnih kiselina sa 8 i više C atoma. Svi ovi receptori pronađeni su u okusnom epitelu, a postoje i dokazi o prisustvu GPR40 i u jezičnom epitelu [16].

Pretpostavke su da okusni receptori i ionski kanali zajedno reguliraju prijenos signala za otkrivanje masnih kiselina. Dugolančane masne kiseline vežu se na CD36 nakon čega komuniciraju sa GPCR (najvjerojatnije GPR120) i tako pokreću unutarstanični prijenos signala. Osnova za ovaj mehanizam bila je koekspresija CD36 i GPCR120, a podržan je činjenicom da CD36 ima veći afinitet za vezanje masnih kiselina od GPR120. Neka istraživanja pokazuju da je CD36 primarni receptor dok je GPR120 aktivan samo pri visokim

koncentracijama masnih kiselina. Porast unutarstanične razine kalcija u CD36 ili GPR120 nakon što su inducirani masnim kiselinama nije uvjetovan unakrsnom komunikacijom između CD36 i GPR120. U usporedbi sa slatkim, gorkim i umami okusima, neurotransmiteri koji se oslobađaju kao odgovor na stimulaciju slobodnih masnih kiselina dolaze iz same stanice receptora i nema potrebe za komunikacijom između stanica, odnosno aktivacijom određenih kanala ili proteina [19].

4. ZAKLJUČAK

Osjeti njuha i okusa jako blisko su povezani, te možemo reći da su to sestrinski osjeti. Osjet njuha u velikoj mjeri doprinosi osjetu okusa iako u provođenju podražaja ovih osjeta kao i ustroju organa kojima ih osjećamo postoje brojne razlike. Receptori mirisa i okusa također se razlikuju, ali i kod okusa kao i kod mirisa važnu ulogu ima G-protein odnosno receptori koji vežu G-protein pokreću signalne kaskade te dovode do prijenosa odgovarajućih podražaja do mozga gdje zapravo dolazi do percepcije osjeta.

Njuhom možemo razlikovati znatno više spojeva nego okusom. Postoji samo pet osnovnih vrsta okusa, a to su slano, slatko, gorko kiselo i umami. Novija istraživanja pokazuju da postoji i šesti okus, a to je okus masti koji još nije dovoljno istražen. Buduća istraživanja vjerojatno će se usmjeriti na objašnjavanje svih mehanizama osjeta okusa kako bi se određene pretpostavke koje su do sada nastale zapravo i dokazale.

Osjetila mirisa i okusa nisu neophodna za život, ali uveliko doprinose doživljavanju okoline tako što nas upozoravaju na opasne i otrovne tvari neugodnim mirisima i okusima, kao što gorki spojevi izazivaju odbojnu reakciju u raznim vrstama i smatraju se zaštitom od otrova iako nisu svi toksini gorki i obrnuto, nisu svi gorki spojevi otrovni. Osim što nas štite, ova osjetila poboljšavaju i kvalitetu našeg života.

5. LITERATURA

- [1] J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer, *Biokemija*, Školska knjiga, Zagreb, 2013
- [2] K.L. Simpson, R.D. Sweazey *Olfaction and Taste* u D.E. Haines, G.A. Mihailoff, *Fundamental Neuroscience for Basic and Clinical Applications*, Elsevier, SAD, 2018, 334-344
- [3] K. Touhara, Y. Niimura, S. Ihar, *Vertebrate Odorant Receptors* u F. Zufall, S. Munger, *Chemosensory Transduction*, Academic Press, New York, 2016, 49-62
- [4] D. Maßberg, H. Hatt, *Physiol rev*, 98 (2018), 1739-1763
- [5] J.B. Marcus, *Aging, Nutrition and Taste*, Academic Press, New York, 2019, 143-149.
- [6] K.M. Van de Graaf, R.W. Rhees, *Schaum's easy outline of Human Anatomy and Physiology*, The McGraw-Hill, SAD, 2001
- [7] S.I. Fox, *Human Physiology*, McGraw-Hill, New York, 2011
- [8] D.G. Waller, A.P. Sampson, *Medical Pharmacology and Therapeutics*, Elsevier, Ujedinjeno Kraljevstvo, 2018
- [9] G. Antunes & F.M. Simoes de Souza, *Method Cell Biol*, **132**(2016), 127–145.
- [10] R-C Li, Y. Ben-Chaim, K-W Yau, C-C Lin, *P Natl Acad Sci USA*, **113**, (2010), 11078–11087
- [11] S.D. Munger, *Molecular basis of Olfaction and Taste, Basic Neurochemistry* (S.T. Brady, G.J. Siegel, R.W. Albers, D.L. Price), Academic Press, New York, 2012, 904-915
- [12] S. Firestein, *How the olfactory system makes sense of scents*, Nature, London, 2011
- [13] S. Boesveldt, E.M. Postma, D. Boak, A. Welge-Luessen, V. Schöpf, J.D. Mainland, J. Martens, J. Ngai, V. Duffy, *Chem Sens*, **42**(2017), 513-523
- [14] C. Spence, *Food Qual Prefer*, **73**(2019), 38-45
- [15] A. Di Pizio, Y.B. Shoshan-Galeczki, J.E. Hayes, M. Y. Niv, *Neurosci Lett*, **700** (2018), 56-63

- [16] M. Behrens, W. Meyerhof, *Chem Sens*, **43** (2018), 81-87
- [17] S.D. Munger, *The mechanisms of salty and sour taste* u F. Zufall, S. Munger, *Chemosensory Transduction*, Academic Press, New York, (2016), 287-294
- [18] D. Liu, N. Archer, K. Duesing, G. Hannan, & R. Keast, *Prog Lipid Res* **63** (2016), 41-49.
- [19] P. Besnard, P. Passilly-Degrace, N.A. Khan, *Physiol Rev*, **96** (2016), 151-176.
- [20] A.G. Jay, J.A. Hamilton, *ProstagLeukotr and Ess*, **138** (2016), 64-70