

## PŘEHLEDY A ODBORNÁ SDĚLENÍ

**Bunkové a molekulové mechanizmy účinku horčín: aktuálne poznatky a perspektíva\*****Cellular and molecular mechanisms of action of bitter compounds: recent knowledge and perspective**

Milan Nagy • Pavel Mučaji

Došlo: 15 júla 2016 / Prijaté: 15 augusta 2016

**Súhrn**

Táto prehľadová práca v úvodnej časti popisuje horko chutiace rastlinné drogy v kontexte ich tradičného používania pri nechutenstve a tráviacich ťažkostiach. Následne uvádza súčasné poznatky vzniku vzruchu v receptoroch horkej chuti, ktoré vedú v rôznych typoch tkanív k doteraz neočakávaným fyziologickým procesom. Novo pozorované biologické účinky horkých látok sú dané do súvislosti s moderným smerovaním ich komplexného štúdia za účelom vývoja nových liečiv s primárnym účinkom na receptory horkej chuti.

**Kľúčové slová:** T2R • receptor horkej chuti • GPCR • horčiny • homeostáza glukózy • astma • ghrelín • GLP-1 • solitary chemosensory cells

**Summary**

This overview paper describes in its introductory part bitter-tasting herbal drugs in the context of their traditional use in the loss of appetite and digestive disorders. Then, it mentions current knowledge on signals origin in bitter taste receptors leading to different, unexpected physiological processes. Newly observed biological effects of bitter tastants are correlated with modern trends of their complex study with an aim to develop new drugs primarily acting on bitter taste receptors.

**Key words:** T2R • bitter taste receptors • GPCR • bitters • glucose homeostasis • asthma • ghrelin • GLP-1 • solitary chemosensory cells

**Pohľad do histórie**

Už v dielach antických autorov (Theofrastos z Erezu, Plínius st., Pedanios Dioskorides, Galénos) sa opakovane vyskytuje myšlienka, že horká chuť rastlín je dôkazom ich liečivých účinkov<sup>1)</sup>. O vysokom statuse niektorých ich zmesí svedčí aj termín „(h)iera picra“, „posvätné horčiny“, ktoré časom nadobudli povest všeliekov<sup>2)</sup>. Skutočnosť, že mnohé horko chutiace rastliny môžu byť pre ľudí jedovaté, si vtedajší liečitelia uvedomovali a vo svojich textoch upozorňovali na primeranosť dávky.

V starogréckych textoch sa tieto rastliny a prípravky z nich pomenúvajú „pikros“ (πικρός), v latinčine sa používajú ekvivalenty „amarus/amara/amarum“. V priebehu stoviek rokov sa vyprofilovali aj názvy, ktoré bližšie popisujú prípadné sprievodné látky (typy sekundárnych metabolitov) v horkých rastlinách:

- *amara pura* = *amara simplicia* = *amara tonica*: výrazne sú prítomné len horčiny
- *amara acria*: prítomné horčiny a korenisté látky
- *amara aromatica*: prítomné horčiny a silica
- *amara astringentia*: prítomné horčiny a triesloviny
- *amara mucilaginoso*: prítomné horčiny a slizy

Práve komplexne pripravované zmesi horčín a vyššie uvedených typov látok zaručovali zamýšľaný účinok antických receptúr. Ich prvotným účinkom bolo zlepšenie trávenia. Tradiciu pitia horkých nápojov pred jedlom (aperitívy) možno spätne dokladovať až do čias Rímskej ríše<sup>3)</sup>.

Podľa doterajších poznatkov sa pre vysvetlenie pozitívneho účinku horčín používajú tri teórie (prvé dve častejšie), z ktorých má každá svoje nedostatky<sup>4)</sup>:

1. **cefalicko-vagálny reflex:** Podnet vyvolaný (horkou) látkou postupuje jazyko-hltanovým nervom k špeciálnym bunkám mozgovej kôry. Tam je inter-

prof. Ing. Milan Nagy, CSc. (✉) • P. Mučaji  
Katedra farmakognózie a botaniky  
Famaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave  
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, SR  
e-mail: nagy@fpharm.uniba.sk

\*Venované Dr.h.c. prof. RNDr. Václavovi Suchému, DrSc. pri príležitosti jeho životného jubilea.

pretovaný ako pôsobenie horčiny, čo spôsobí prenos podnetu cez *nervus vagus* k slinným žľazám a do žalúdka, kde sa začne vylučovať žalúdočná šťava.

2. **lokálna stimulácia:** Horčiny stimulujú dávno známe receptory horkej chuti v ústnej dutine a hltane ako aj novo popísané v tráviacom trakte.
3. **hyperémia:** Nastáva pôsobením horčín alebo alkoholu v žalúdku, kde dochádza k zvýšenej cirkulácii krvi. To má za následok tvorbu tráviacich štiav, pohybu natráveniny, absorpciu živín a odstraňovanie metabolického odpadu.

### Súčasnosť

Počas ostatného desaťročia prudko vzrástol záujem o štúdium receptorov horkej chuti (T2R), ktoré patria k receptorom spriahnutým s G-proteínmi (GPCR). V ľudskom tele bolo doteraz popísaných 25 subtypov. Prednostne sa nachádzajú v ústnej dutine, najmä na jazyku v chuťových bunkách typu II, ale boli v menšom množstve potvrdené aj v epitelových bunkách a hladkom svalstve dýchacej sústavy<sup>5)</sup>, v črevách<sup>6)</sup>, v štítnej žľaze<sup>7)</sup> a v srdci<sup>8)</sup>. Podľa databázy The Gene Expression Omnibus collection (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>) sú T2R exprimované aj v mozgu, pečeni, maternici a tukovom tkanive pobrušnice. Výskyt T2R v ústnej dutine sa vysvetľuje evolučnou potrebou živočíchov zábrany skonzumovania potenciálne toxického stravy<sup>9)</sup>. Empiricky a neskôr aj experimentálne sa totiž zistilo, že drvivá väčšina rastlinných toxínov a znehodnotenej mäsitej stravy má práve horkú chuť. Rozmiestnenie T2R v podstate v celom ľudskom tele však evokuje potenciál horko chuťiacich látok ovplyvňovať – priaznivo aj nepriaznivo – viaceré jeho fyziologické funkcie. Nezodpovedanou zatiaľ ostáva otázka, či pre receptory horkej chuti existujú endogénne ligandy.

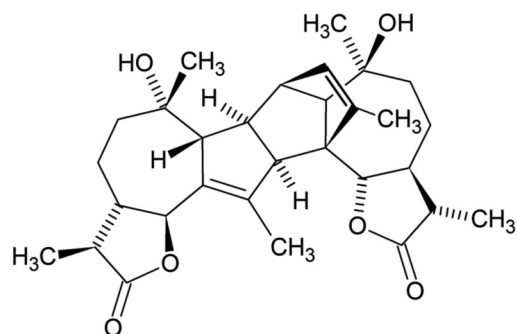
Z farmakognostického pohľadu rastlinné horké sekundárne metabolity (horčiny) majú terpénovú alebo neterpénovú štruktúru<sup>10)</sup>. V skupine terpénových horčín sú najznámejšie:

- monoterpény – gáfor,  $\alpha$ -tujón
- iridoidy – amarogentín, genciopikrín, swertiamarín, swerozid
- seskviterpény – absintín, artabsín, cynaropikrín, knicín, lactucopikrín, partenolid
- diterpény – andrografolid, karnozol, leocardín, marrubiín
- triterpény – kondurangín, kukurbitacíny, limonín, quassín

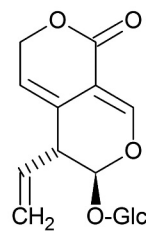
Medzi neterpénové horčiny patria najmä alkaloidy (atropín, cytizín, emetín, chinín, noskapín, strychnín), fenoly a polyfenoly (antokyaníny, arbutín, bergaptén, daidzeín, homoeriodiktyol, izopimpinín, katechíny, naringín, neohesperidín, pentagaloylglukóza, polymetoxylavony, dimérne a trimérne proantokyanidíny, salicín), florigluciny (humulón, izohumulón, izolupulón, lupulón), glukozinoláty (glukoputranjivín, goitrín, sinigrín), oligosacharidy (gencianóza, genciobióza) alebo xantínové deriváty (kofeín).

Presný počet rastlinných druhov nebude zrejme nikdy známy. Aktuálny odhad pre kvitnúce druhy osciluje okolo 268 000, pre machy okolo 16 000 a pre paprade okolo 12 000<sup>11)</sup>. Predpokladá sa, že doteraz bolo chemicky analyzovaných asi 15 % z nich<sup>12)</sup>. Celkový počet rastlinných sekundárnych metabolitov je pochopiteľne nemožné číselne ohraničiť. V súčasnosti najväčšia databáza prírodných látok obsahuje 325 509 nízkomolekulových zlúčenín<sup>13)</sup>. Tieto majú veľký počet stereogénnych centier, väčší výskyt kondenzovaných, premostených alebo spiránových cyklických štruktúr, väčší podiel atómov uhlíka s hybridizáciou  $sp^3$  na stavbe molekuly v porovnaní s uhlíkmi s hybridizáciou  $sp^2$  a  $sp^1$ , menší počet atómov dusíka, síry a halogénov a väčší počet atómov kyslíka v molekule, veľa solvatovateľných funkčných skupín – donorov alebo akceptorov vodíka a menší počet väzieb s voľnou otáčavosťou. To všetko zvyšuje rozmanitosť štruktúr sekundárnych metabolitov a následne pravdepodobnosť unikátnych interakcií na bunkovej a molekulovej úrovni. Zo státisícov nízkomolekulových prírodných zlúčenín je v súčasnosti evidovaných v špecializovanej databáze horkých látok asi 200 molekúl<sup>14)</sup>. Pre mnohé z nich sú uvedené aj interagujúce subtypy T2R, napr.: absintín (T2R10, T2R14, T2R46, T2R47), amarogentín (T2R1, T2R4, T2R39, T2R43, T2R46, T2R47, T2R50), arbutín (T2R16), epigalokatechín galát (T2R39), gáfor (T2R4, T2R10, T2R14, T2R47), humulón (T2R1, T2R40), chinín (T2R4, T2R7, T2R10, T2R14, T2R39, T2R40, T2R43, T2R44, T2R46), kofeín (T2R7, T2R10, T2R14, T2R43, T2R46), knicín (T2R46), kukurbitacín E (T2R10), lupulón (T2R1, T2R14), resveratrol (T2R14, T2R39), sinigrín (T2R16, T2R38), strychnín (T2R10, T2R46),  $\alpha$ -tujón (T2R10, T2R14)<sup>14)</sup>.

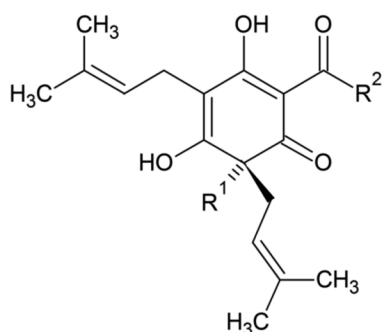
Počet identifikovaných subtypov T2R pre danú látku nie je priamo úmerný intenzite jej horkosti. Interakcia každej horčiny s jednotlivými subtypmi T2R vyvoláva rôzne silný vnem a celková horká chuť je potom kombináciou, ktorá závisí aj od množstva jednotlivých subtypov T2R na jazyku a v ústnej dutine jednotlivca. Pre jednotlivý subtyp T2R býva tzv. efektívna koncentrácia rôzna, napr. pre T2R14 to pre kofeín je 300  $\mu$ M, pre absintín 100  $\mu$ M, pre chinín 10  $\mu$ M, pre lupulón 3  $\mu$ M, pre *trans*-izohumulón 1  $\mu$ M a pre *cis*-izohumulón iba 0,3  $\mu$ M. Horká chuť látok je vnímaná ako intenzívna, ak hodnota efektívnej koncentrácie je pod 10  $\mu$ M. Efektívna koncentrácia jednej látky nemusí byť pre všetky jej popísané subtypy T2R totožná: pre absintín a T2R14, to je 100  $\mu$ M, pre T2R46 1  $\mu$ M a pre T2R47 0,1  $\mu$ M. Naopak, kofeín vykazuje pre všetky svoje známe subtypy T2R (7, 10, 14, 43 a 46) rovnakú hodnotu – 300  $\mu$ M. Efektívna koncentrácia pre dvojicu štruktúrnych homologov sa môže, ale nemusí meniť: pre T2R1 to pre lupulón ( $C_{26}H_{38}O_4$ ) aj pre kolupulón ( $C_{25}H_{36}O_4$ ) je rovnako 0,1  $\mu$ M. Avšak pre T2R40 to sú 3  $\mu$ M, resp. 0,03  $\mu$ M. V prípade kohumulónu ( $C_{20}H_{28}O_5$ ) je efektívna koncentrácia pre obidva uvedené subtypy rozdielna, 0,03  $\mu$ M, resp. 0,003  $\mu$ M, ale pre jeho homológ humulón ( $C_{21}H_{30}O_5$ ) rovnaká – 0,1  $\mu$ M.



**absintín**



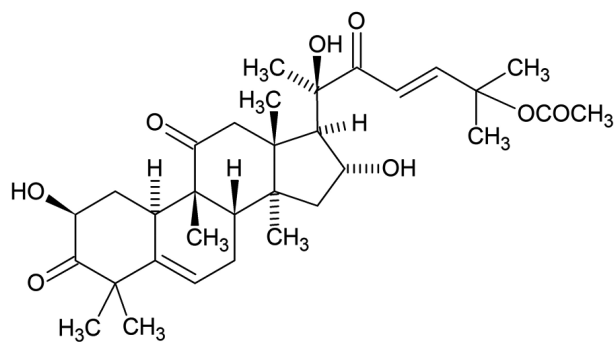
**genciopikrín**



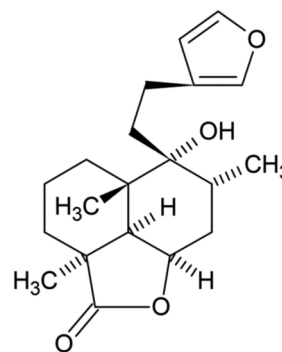
**humulón**

**lupulón**

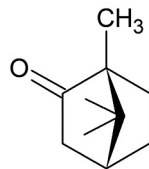
$R^1$	$R^2$
OH	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
izopentenylyl	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$



**kukurbitacín B**



**marrubiín**



**(+)-gáfor**

Obr. 1. Chemické vzorce terpénových horčín

Schopnosť vyvolať horký vnem majú aj sacharidy. Jediný horký monosacharid je  $\beta$ -D-manóza. V izomérskej dvojici disacharidov genciobióza (= 6-O- $\beta$ -D-glukopyranozylglukóza) a izomaltóza (= 6-O- $\alpha$ -D-glukopyranozylglukóza) je prvý horký, druhý sladký. Sacharidový reťazec v glykozidoch takisto môže, ale aj nemusí podľa svojej štruktúry vyvolávať horkú chuť: 6-O-L-ramnopyranozyl-D-glukóza naviazaná na aglykóny flavanónov nespôsobuje ich horkú chuť, kým izomérska 2-O-L-ram-

nopyranozyl-D-glukóza áno. Náhrada L-ramnózy v reťazci hesperidózy (= 6-O- $\alpha$ -L-ramnózy-3-D-glukopyranóza) v molekule naringínu za  $\alpha$ -L-chinovózu zdvojnásobuje jeho horkosť, kým náhrada za  $\beta$ -L-chinovózu spôsobí stratu horkej chuti<sup>15)</sup>.

#### Prenos vzruchu v T2R

Vzruch je spustený interakciou agonistu (horkej látky) s príslušným receptorom. V receptoroch nachádzajúcich

sa v ústnej dutine a hltane to pravdepodobne spôsobuje jeho konformačné zmeny a následne aktiváciu intracelulárneho heterotrimérneho komplexu G-proteínu<sup>16)</sup>, ktorý sa skladá z  $G\alpha_{\text{gustducin}}$  a podjednotiek  $\beta_3\gamma_{13}$ <sup>17)</sup>.  $G\alpha_{\text{gustducin}}$  po aktivácii z uvedeného komplexu disociuje a aktiváciou fosfodiesterázy znižuje hladinu cAMP, kým novo vzniknutý dimér  $\beta_3\gamma_{13}$  aktivuje fosfolipázu  $C\beta_2$ . Táto pôsobí na membránovo viazaný fosfatidylinozitol-4,5-difosfát za vzniku inozitol-1,4,5-trifosfátu (IP3) a diacylglycerol. Vzniknutý IP3 aktivuje svoje špecifické receptory na endoplazmatickom retikule, ktoré uvoľňuje ióny vápnika<sup>16)</sup>. Jeho zvýšená hladina otvára iónový kanál TRPM5. To vedie k depolarizácii membrány a následnému uvoľneniu neurotransmiterov a signalizácii do mozgu. V iných tkanivách (napr. hladké svalstvo dýchacieho systému) však aktivácia T2R vedie aj k blokade aktivovaných napäťovo závislých vápnikových kanálov L-typu, čo spôsobuje bronchodilatáciu<sup>18)</sup>. *In vivo* pokusy s  $\alpha_{\text{gustducin}}$ -deficientnými myšami však naznačujú existenciu ďalšieho, zatiaľ neznámeho signálneho mechanizmu<sup>17)</sup>.

#### Dýchací systém

T2R sú exprimované v epitelových a tzv. „solitary chemosensory“ bunkách (SCC) v nosovej a prínosovej dutine, kde ako chemoreceptory zabezpečujú rozpoznávanie mikrobiálnych a vírusových infekcií a spúšťajú obrannú kaskádu. Aktivácia subtypu T2R38 produktom metabolizmu *Pseudomonas aeruginosa*, acetylhomoserínolaktónom, spúšťa produkciu NO. Ten penetruje do baktérie a zneškodňuje ju<sup>19)</sup>. Horká látka denatónium vyvoláva *in vitro* v ľudských SCC produkciu antimikrobiálne aktívnych peptidov. Pri akútnej infekcii baktérie spotrebúvajú glukózu, ktorá je prirodzene obsiahnutá v surfaktante horných dýchacích ciest, čo deaktivuje receptory sladkej chuti T1R2/3 a aktivuje s nimi spriahnuté receptory horkej chuti na produkciu spomenutých antimikrobiálne aktívnych peptidov<sup>20)</sup>.

Blokáda aktivovaných napäťovo závislých vápnikových kanálov L-typu prostredníctvom aktivácie subtypov T2R5, T2R10 a T2R14 a následná bronchodilatácia<sup>18)</sup> sa javí ako perspektívny mechanizmus liečby astmy, najmä ak zlyháva klasická terapia  $\beta$ -agonistami. Navyše *in vitro* experimenty ukázali, že agonisty T2R na rozdiel od  $\beta$ -agonistov majú antimitogénny účinok na zdravé aj astmatické bunky dýchacieho systému a môžu byť teda schopné inhibovať remodeláciu dýchacích ciest, čo je vážna klinická komplikácia terapie astmy<sup>21)</sup>.

#### Tráviaci systém

V dávnejšej štúdií s vyše 1300 probandmi s diagnostikovaným diabetes mellitus 2. typu sa potvrdila jeho súvislosť s výskytom genetickej poruchy vedúcej k zníženej funkčnosti T2R<sup>22)</sup>. Následne bolo viackrát popísané zlepšenie homeostázy glukózy po pôsobení horkých látok na T2R v črevách vďaka zvýšenému vylučovaniu GLP-1 (glucagon-like peptide-1). Horkými látkami boli syntetické molekuly<sup>23, 24)</sup>, ale aj rastlinné extrakty<sup>25–29)</sup> či rastlinné izoláty<sup>30, 31)</sup>. Ovplyvnené receptory horkej chuti boli subtypy T2R5 a T2R38. Výsledky

sa nedajú zovšeobecniť na všetky na jazyku horké zlúčeniny, pretože nie sú známe všetky subtypy T2R v črevách a prípadné ich interakcie nemusia vždy viesť k zvýšenej sekrécii GLP-1. Aj tak možno získané poznatky aplikovať pri vývoji nových antidiabetík.

Pomerne nedávno bola na myšacom modeli potvrdená spoluúčasť T2R na postupne narastajúcej sekrécii ghrelínu („hormón hladu“) v žalúdku s maximom okolo 40. minúty po gaváži horkého roztoku. Tento efekt je súčasne sprevádzaný zvýšením chuti do jedla, čo zodpovedá efektu tradičného používania aperitívov. Po cca 40. minúte nastal nielen pokles hladiny ghrelínu, ale aj pokles chuti do jedla počas nasledujúcich cca 4 hodín. Rozdielny bol efekt rôznych agonistov T2R na dobu vyprázdnenia žalúdka po gaváži: Denatónium a chinín ju neovplyvnili, salicín ju skrátil, fenyltiokarbamid predĺžil. Výsledky naznačujú, že rôzne horké látky interagujú s viacerými, nie vždy totožnými T2R, čo sa prejaví v rozdielnom výslednom účinku<sup>3)</sup>.

Podobne ako GLP-1, aj cholecystokinín (CCK) patrí k hormónom čriev znižujúcim chuť do jedla. Jeho zvýšené vylučovanie bolo potvrdené *in vivo* použitím acidorezistentných kapsúl obsahujúcich chinín. Znížený príjem stravy 20 zdravých dobrovoľníkov nebol spôsobený poklesom hladiny ghrelínu ani spomalením vyprázdňovania žalúdka, ale len nárastom hladiny CCK<sup>32)</sup>. Tento následne stimuluje enterocyty k zvýšenej produkcii efluxného transportéra ABCB 1, ktorého substrátmi sú mnohé xenobiotiká, a teda prípadne toxické látky<sup>33)</sup>. Tento proces môže byť:

- doplnkovým obranným mechanizmom organizmu (popri vneme nepríjemnej horkej chuti v ústach) pred prípadnou otravou jedlom, ktorý spúšťajú agonisty T2R
- novým smerom výskumu liečiv pre kontrolu nadmerného príjmu potravy

#### Kardiovaskulárny systém

Priekopnícka štúdia Glatzela<sup>34)</sup> o vplyve vypitia 25 ml roztokov obsahujúcich 0,25 ml vodno-etanolového (70 % V/V) extraktu jednotlivých drog (*Aloe*, *Artemisiae folium*, *Gentianae radix*, *Lupuli flos*, *Pericarpium aurantii*, *Rhei radix*) na tepovú frekvenciu, vývrhový objem srdca počas jednej systoly a krvný tlak ostala nepovšimnutá vyše 40 rokov. Autor popísal rôznorodý vplyv drog na vývrhový objem srdca počas jednej systoly, zanedbateľný vplyv na tepovú frekvenciu a na tlak krvi. Nedávno publikované výsledky testovania viacerých syntetických a prírodných horkých látok, agonistov subtypov T2R108, T2R137 a T2R143, na perfúznom modeli myšacieho srdca poukázali na ich negatívny inotropný efekt<sup>35)</sup>. Rovnako aj výsledky experimentov so zdravými dobrovoľníkmi a s enkapsulovanou drogou *Gentiane radix*, resp. *Artemisiae herba* ako aj z nich pripravenými etanolovými extraktmi potvrdili nárast tónusu ciev pri súčasnom poklese aktivity srdca<sup>36)</sup>. Interakcie horkej látky denatónia so subtypom T2R46 nachádzajúcim sa v hladkom svalstve ciev potkanov a následným poklesom krvného tlaku takisto naznačujú oprávnenie užívania horčínových drog pri kardiovaskulárnych problémoch<sup>37)</sup>.



### Nervový systém

Zaujímavé výsledky boli popísané pri štúdiu vplyvu chinínu na výkonnosť cyklistov počas 30-sekundového šprintu<sup>38</sup>). Kým samotné vypláchnutie úst 2 mM alebo 10 mM roztokom chinínu nemalo žiadny vplyv na výkon cyklistov, vypláchnutie a prehltnutie týchto roztokov zvýšilo ich výkonnosť na ergometri o 3,9 % ( $p < 0,05$ ), pričom hladiny laktátu a glukózy boli nezmenené. Autori predpokladajú, že prostredníctvom T2R sú aktivované limbické oblasti mozgu považované za emočné centrum, ako aj autonómny nervový systém. Nevylúčili však aj aktiváciu sympatiky. Priamu spoluúčasť nervového systému na popísanom efekte podporuje aj potvrdená existencia prenosu signálov z čriev do mozgu vagálnymi a spinálnymi neurónmi, mediátormi imunitnej odpovede a hormónmi<sup>39</sup>). Možná je však aj priama stimulácia neurónov mozgu horkými látkami, keďže sa potvrdila expresia subtypov T2R4, T2R38 a T2R107 v mozgovom kmeni potkanov<sup>40</sup>), ale aj subtypu T2R16 v bunkovej línii ľudského neuroblastómu SH-SY5Y<sup>41</sup>).

Mimoriadne prekvapujúca je korelácia medzi citlivosťou na horkú chuť a emociálno-psychologickým profilom ľudí. Pre skupinu ľudí mimoriadne citlivých na horkú chuť, tzv. supertasters, je typická výrazná citová vzrušivosť a sklon k depresiam, kým tzv. non-tasters bývajú uvoľnení a pokojní<sup>42, 43</sup>). Aktuálne štúdie dokonca spájajú preferenciu k horkej chuti so sklonom k nepriateľskému správaniu<sup>44</sup>) a ku zlomyseľnosti<sup>45</sup>).

### Močové cesty

Nedávno sa potvrdilo, že „solitary chemosensory“ bunky (SCC) sú súčasťou aj sliznice ústia močovej rúry a zohrávajú dôležitú úlohu v kaskáde obranných mechanizmov voči uropatogénu *Escherichia coli*. SCC obsahujú subtypy T2R1, T2R3 a T2R108, ktoré interagujú s metabolitmi produkovanými patogénom. Na tento podnet SCC vylučujú acetylcholín, ktorý aktivuje sťahy svaloviny močového mechúra. Nastupujúce močenie tak môže napomôcť k odstráneniu patogénu z močovej rúry<sup>46</sup>).

V bunkách ľudskej svaloviny močového mechúra boli nedávno nájdené subtypy T2R7, T2R8 a T2R40, v myšacej svalovine ich homológy. Tri horké látky, denatónium, chinín a chlorochín, vyvolali relaxáciu myšacej svaloviny, nie však ľudskej. Predpoklad, že by horké látky mohli týmto procesom zmierniť symptómy hyperaktívneho močového mechúra, sa v štúdiu nepotvrdil. Dôvodom rozdielneho správania svalovín môže byť rozdielna citlivosť a aktivita homologických subtypov T2R pri použitých horkých látkach<sup>47</sup>).

### Štítina žľaza

V ľudských folikulárných bunkách (tyrocytoch) bol potvrdený výskyt subtypov T2R38 a T2R42. Ich stimulácia agonistami vyvolala nárast efluxu jodidu, ktorý je nevyhnutný pre tvorbu trijódtyronínu a tyroxínu. T2R v tyrocytoch sa teda môžu stať cieľom regulácie aktivity štítnej žľazy<sup>48</sup>).

### Biele krvinky

V leukocytoch detí trpiacich astmou bola pozorovaná upregulácia mnohých subtypov T2R (4, 5, 10, 13, 14, 19, 20, 31, 45, 46 a 50). Uvoľňovanie zápalových mediáto-

rov z takýchto leukocytov bolo inhibované horkými látkami chlorochínom a denatóniom<sup>49</sup>). Podobné zistenia boli popísané prednedávnom aj pre pľúcne makrofágy<sup>50</sup>) a mastocyty<sup>51</sup>). V nich dokázali T2R agonisty denatónium, chlorochín a noskapín inhibovať imunoglobulínom E indukované uvoľňovanie histamínu a prostaglandínu D<sub>2</sub>. Tieto mechanizmy môžu prispieť spolu s bronchodilatačným účinkom horkých látok, ktorý je popísaný v časti *Prenos vzruchu v T2R*, k prípadnému terapeutickému účinku horkých látok.

Pre drvivú väčšinu horkých látok nie je konkrétny subtyp T2R známy. Najlepšou možnosťou, ako to určiť, sú experimenty s bunkovými líniami, ktoré majú exprimované jednotlivé subtypy receptorov alebo transgénnymi živočíchmi, ktoré majú expresiu týchto subtypov zablokovanú. Takto bolo z 25 ľudských T2R „deorfanzovaných“ 21 z nich<sup>52</sup>). Dostupné sú už však aj elektronické senzory horkej chuti, fungujúce na rozličných princípoch (voltametria, potenciometria, impedancia a optické metódy), ktoré sa používajú najmä vo farmaceutickom priemysle<sup>53, 54</sup>).

Výsledky biologických testov sa dajú potvrdiť použitím dokovacích metód. Ich využitie na predpoveď agonistickej interakcie s T2R je však menej presné. Napríklad server BitterX správne predpovedá pre L-gáfor interagujúce subtypy T2R10 a T2R14, ale neuvádza inými metódami potvrdené T2R4 a T2R47. Pre amarogentín nepredpovedá dva experimentálne potvrdené T2R4 a T2R50, zvyšných päť subtypov však áno. Pre absintín zo štyroch známych interagujúcich subtypov nebol predpovedaný len jeden – T2R47<sup>55</sup>).

Presnejšie poznatky o interakciách malých molekúl s T2R môžu napomôcť nielen vývoju nových liečiv v oblastiach uvedených v častiach *Prenos vzruchu v T2R* až *Biele krvinky*, ale aj s odstupom času vysvetliť výskyt niektorých nežiaducich účinkov (de)registrovaných liečiv a zlúčenín v klinickom testovaní. Takáto „off-target“ analýza ukázala, že väčšina študovaných agonistov T2R14 zároveň *in silico* interagovala s 38 % enzýmov použitého experimentálneho súboru, s 26 % iónových kanálov a s 21 % GPCR<sup>56</sup>). Pre horké zlúčeniny bez špecifikácie ovplyvňovaného T2R sa tieto hodnoty zmenili len nepatrne (40 %, 28,5 % a 17 %). Pomerne veľa agonistov T2R14 (38 %) a všeobecne horkých látok (23 %) bolo identifikovaných ako inhibítory hERG. Inhibícia tohto draslíkoveho kanála vedie k predĺženiu akčného potenciálu kardiocytov a k nárastu smrteľných arytmií. Preto je vyhodnotenie aktivity nových molekúl neoddeliteľnou súčasťou ich moderného klinického testovania. V prípade rastlinných horčín môže byť aktivita voči hERG jedným z vysvetlení ich toxicity.

Postupný pokles vnímania horkej chuti (ale aj sladkej a slanej), ktorý bol zaznamenaný s rozvojom Alzheimerovej choroby, môže byť doplnkovým indikátorom progresu tejto choroby<sup>57</sup>).

Liečba schizofrénie antipsychotikami 1. alebo 2. generácie spôsobuje pokles vnímania horkej chuti. Nedávno sa potvrdilo, že je to spôsobené zníženou expresiou génov pre T2R4, T2R5, T2R13 a T2R50 v dorzolaterálnej časti predného mozgu. Predpokladá sa, že aj iné vedľajšie účinky antipsychotík môžu súvisieť s ovplyvnením T2R<sup>58</sup>).

Do pestrej palety donedávna netušených fyziologických funkcií T2R možno onedlho pribudne ďalšia, zapojenie do kaskády „imunitný systém – hypotalamus – hypofýza – nadobličky“. V bunkách chuťových pohárikov typu II („horké poháriky“), ktoré prednostne obsahujú T2R, sa totiž tvorí protizápalový interleukín-10 viažuci sa na svoje receptory v bunkách chuťových pohárikov obsahujúcich receptory sladkej/umami chuti T1R3. Tieto „sladké“ chuťové poháriky však zároveň produkujú aj tumor necrosis factor (TNF). TNF ako prozápalový cytokín sa viaže na svoje receptory prítomné vo všetkých troch typoch (I, II a III) chuťových pohárikov. Autori<sup>59)</sup> preto predpokladajú, že za fyziologického stavu TNF prednostne aktivuje odpoveď „horkých pohárikov“, kým počas zápalových ochorení sa aktivujú aj ostatné typy chuťových pohárikov.

### Záver

Súčasný poznatky naznačujú, že T2R možno formálne rozdeliť do dvoch skupín. V prvej skupine sú tie subtypy, ktoré plnia pre organizmus ochrannú funkciu (v ústach, dýchacom systéme a v uretre). Druhú skupinu predstavujú subtypy, ktorých funkcie neboli doteraz objasnené a sú pre ne navrhnuté iné ako ochranné funkcie. Z tohto dôvodu javia istú analógiu s endokannabinoidným systémom, napr. najmä rozmiestnenie v celom organizme ako aj zatiaľ teoretická možnosť ich aktivácie (doteraz neobjavenými) endogénnymi agonistami. Z tohto dôvodu je otázne, či je vhodné T2R nazývať receptormi horkej chuti<sup>60)</sup>.

Kritérium horkosti tak môže byť len úvodnou informáciou pre predbežný výber látok na ďalšie experimenty. V každom prípade sa však môžu rastlinné sekundárne metabolity, nielen tie horké, ukázať vo všeobecnosti ako nové agonisty pre T2R a následne slúžiť ako štruktúrna predloha pre optimalizovanie ich aktivity a pre vývoj nových liečiv. Z tohto dôvodu sa javí fytochemická analýza nových rastlinných zdrojov ako aj štúdium už popísaných metabolitov zo známych a často používaných drog ako perspektívny smer výskumu integrujúceho viacero vedných disciplín vrátane farmakognózie.

Publikácia bola podporená grantom VEGA 1/0646/14.

Stret záujmov: žiadny.

### Literatúra

1. Scarborough J. Pharmacy in Pliny's Natural History. In: French R., Greenaway, F. eds. Science in the Early Roman Empire: Pliny the elder, his sources and influence, London and New York: Crom Helm and Oxford University Press 1986.
2. Sneader W. Drug discovery: a history. Chichester: John Wiley & Sons Ltd. 2005.
3. Janssen S., Laermans J., Verhulst P.-J., Thijs T., Tack J., Depoortere I. Bitter taste receptors and  $\alpha$ -gustducin regulate the secretion of ghrelin with functional effects on food intake and gastric emptying. PNAS 2011; 108, 2094–2099.
4. McMullen M. K., Whitehouse J. M., Towell A. Bitters: Time for a New Paradigm. eCAM 2015, Article ID 670504, 8 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/670504>.
5. Shah A. S., Ben-Shahar Y., Moninger T. O., Kline J. N., Welsh, M. J. Motile cilia of human airway epithelia are chemosensory. Science 2009; 325, 1131–1134.
6. Wu S. V., Rozengurt N., Yang M., Young S. H., Sinnott-Smith J., Rozengurt, E. Expression of bitter taste receptors of the T2R family in the gastrointestinal tract and enteroendocrine STC-1 cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2002; 99, 2392–2397.
7. Clark A. A., Dotson C. D., Elson A. E., Voigt A., Boehm U., Meyerhof W., Steinle N. I., Munger S. D. TAS2R bitter taste receptors regulate thyroid function. FASEB J. 2014; 29, 164–172.
8. Foster S. R., Porrello E. R., Purdue B., Chan H. W., Voigt A., Frenzel S., Hannan R. D., Moritz K. M., Simmons D. G., Moleenaar P., Roura E., Boehm U., Meyerhof W., Thomas W. G. Expression, regulation and putative nutrient-sensing function of taste GPCRs in the heart. PLoS One 2013; 8, e64579.
9. Kurihara K., Katsuragi Y., Matsuoka I., Kashiwayanagi M., Kumazawa T., Shoji T. Receptor mechanisms of bitter substances. Physiol. Behav. 1994; 56, 1125–1132.
10. Nagy M., Mučaji P., Grančai D. Farmakognózia. Biologicky aktívne rastlinné metabolity a ich zdroje.1. vydanie Bratislava: Herba 2015.
11. The IUCN Red List of Threatened Species 2016-1. [http://cmsdocs.s3.amazonaws.com/summarystats/2016-1\\_Summary\\_Stats\\_Page\\_Documents/2016-1\\_RL\\_Stats\\_Table\\_1.pdf](http://cmsdocs.s3.amazonaws.com/summarystats/2016-1_Summary_Stats_Page_Documents/2016-1_RL_Stats_Table_1.pdf) (14. 7. 2016).
12. Cragg G. M., Newman D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Gen. Subj. 2013; 1830, 3670–3695.
13. Super Natural II, a database of natural products. [http://bioinf-applied.charite.de/supernatural\\_new/index.php?site=home](http://bioinf-applied.charite.de/supernatural_new/index.php?site=home) (14. 7. 2016).
14. Wiener A., Shudler M., Levit A., Niv M. Y. BitterDB: a database of bitter compounds. Nucleic Acids Res. 2012; 40(Database issue), D413–419.
15. Belitz H.-B., Wieser H. Bitter compounds: Occurrence and structure activity relationships. Food Rev. Int. 1985; 1, 271–354.
16. Chaudhari N., Roper, S. D. The cell biology of taste. J. Cell Biol. 2010; 190, 285–296.
17. Caicedo A., Pereira E., Margolske R. F., Roper S. D. Role of the G-protein subunit alpha-gustducin in taste cell responses to bitter stimuli. J. Neurosci. 2003; 23, 9947–9952.
18. Zhang C.-H., Lifshitz L. M., Uy K. F., Ikebe M., Fogarty K. E., ZhuGe R. The Cellular and Molecular Basis of Bitter Tastant-Induced Bronchodilation. PLoS Biol. 2013; 11: e1001501. doi:10.1371/journal.pbio.1001501.
19. Lee R. J., Xiong G., Kofonow J. M., Chen B., Lysenko A., Jiang P., Abraham V., Doghramji L., Adappa N. D., Palmer J. N., Kennedy D. W., Beauchamp G. K., Doulias P.-T., Ischiropoulos H., Kreindler J. L., Reed D. R., Cohen N. A. T2R38 taste receptor polymorphisms underlie susceptibility to upper respiratory infection. J. Clin. Invest. 2012; 122, 4145–4159.
20. Lee R. J., Kofonow J. M., Rosen P. L., Siebert A. P., Chen B., Doghramji, L., Xiong G., Adappa N. D., Palmer J. N., Kennedy D. W., Kreindler J. L., Margolske R. F., Cohen, N. A. Bitter and sweet taste receptors regulate human upper respiratory innate immunity. J. Clin. Invest. 2014; 124, 1393–1405.
21. Sharma P., Panebra A., Pera T., Tieggs B. C., Hershfeld A., Kenyon L. C., Deshpande D. A. Antimitogenic effect of bitter taste receptor agonists on airway smooth muscle cells. Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2016; 310: L365–L376.
22. Dotson C. D., Zhang L., Xu H., Shin Y.-K., Vignes S., Ott S. H., Elson A. E. T., Choi H. J., Shaw H., Egan J. M., Mitchell B. D., Li X., Steinle N. I., Munger S. D. Bitter taste receptors influence glucose homeostasis. PLoS ONE 2008; 3: e3974. doi:10.1371/journal.pone.0003974.
23. Park J., Kim K.-S., Kim K.-H., Lee L.-S., Jeong H., Kim Y., Jang H.-J. GLP-1 secretion is stimulated by 1,10-phenanthroline via colocalized T2R5 signal transduction in human enteroendocrine L cell. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2015; 468, 306–311.
24. Pham H., Hui H., Morvaridi S., Cai J., Zhang S., Tan J., Wu V., Levin N., Knudsen B., Goddard III W. A., Pandol S. J., Abrol R. 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; 475, 295–300.

25. Choi E.-K., Kim K.-S., Yang H. J., Shin M.-H., Suh H.-W., Lee K.-B., Ahn K. S., Um J. Y., Lee S.-G., Lee B.-C., Jang H.-J. Hexane fraction of *Citrus aurantium* L. stimulates glucagon-like peptide-1 (GLP-1) secretion via membrane depolarization in NCI-H716 cells. *Biochip J.* 2012; 6, 41–47.
26. Huang T., Lu K.-N., Pai Y.-P., Hsu C., Huang C. Role of GLP-1 in the Hypoglycemic Effects of Wild Bitter Gourd. *eCAM* 2013, Article ID 625892, 13 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/625892>.
27. Kim K.-H., Kim K.-S., Shin M. H., Jang E. G., Kim E. Y., Lee J.-H., Ahn K. S., Um J.-Y., Jang H.-J. Aqueous extracts of *Aemarrhena asphodeloides* stimulate glucagon-like peptide-1 secretion in enteroendocrine NCI-H716 cells. *Biochip J.* 2013; 7, 188–193.
28. Shin M.-H., Choi E.-K., Kim K.-S., Kim K.-H., Jang Y. P., Ahn K. S., Chung W.-S., Cha N. H., Jang H.-J. Hexane fractions of *Bupleurum falcatum* L. stimulates glucagon-like peptide-1 secretion through Gβγ-mediated pathway. *eCAM* 2014, Article ID 982165, 8 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/982165>.
29. Suh H.-W., Lee K.-B., Kim K.-S., Yang H. J., Choi E.-K., Shin M. H., Park Y. S., Na Y.-C., Ahn K. S., Jang Y. P., Uma J. Y., Jang H.-J. A bitter herbal medicine *Gentiana scabra* root extract stimulates glucagon-like peptide-1 secretion and regulates blood glucose in *db/db* mouse. *J. Ethnopharmacol.* 2015; 172: 219–226.
30. Kim K.-S., Cha N. H., Kim K.-W., Shin M. H., Kim K.-H., Lee I.-S., Chung W.-S., Song M.-Y., Jang H.-J. Transcriptomic analysis of the bitter taste receptor-mediated glucagon-like peptide-1 stimulation effect of quinine. *BioChip J.* 2013; 7: 386–392.
31. Yu Y., Hao G., Zhang Q., Hua W., Wang M., Zhou W., Zong S., Huang M., Wen X. Berberine induces GLP-1 secretion through activation of bitter taste receptor pathways. *Biochem. Pharmacol.* 2015; 97: 173–177.
32. Andreozzi P., Sarnelli G., Pesce M., Zito F. P., D'Alessandro A., Verlezza V., Palumbo I., Turco F., Esposito K., Cuomo R. The Bitter Taste Receptor Agonist Quinine Reduces Calorie Intake and Increases the Postprandial Release of Cholecystokinin in Healthy Subjects. *J. Neurogastroenterol. Motil.* 2015; 21, 511–519.
33. Jeon T. I., Seo Y.-K., Osborne T. F. Gut bitter taste receptor signalling induces ABCB1 through a mechanism involving CCK. *Biochem. J.* 2011; 438, 33–37.
34. Glatzel H. Der Einfluss von Bittermitteln auf Herzschlagvolumen, Herzschlagfrequenz und Blutdruck. *Planta Med.* 1968; 16, 82–94.
35. Foster S. R., Blank K., Hoe L. S. E., Behrens M., Meyerhof W., Peart J. N., Thomas W. G. Bitter taste receptor agonists elicit G-protein-dependent negative inotropy in the murine heart. *FASEB J.* 2014; 28, 4497–4508.
36. McMullen M. K., Whitehouse J. M., Whitton P. A., Towell A. Bitter tastants alter gastric-phase postprandial haemodynamics. *J. Ethnopharmacol.* 2014; 154, 719–727.
37. Lund T. C., Kobs A. J., Kramer A., Nyquist M., Kuroki M. T., Osborn J., Lidke D. S., Low-Nam S. T., Blazar R., Tolar J. Bone Marrow Stromal and Vascular Smooth Muscle Cells Have Chemosensory Capacity via Bitter Taste Receptor Expression. *PLoS ONE* 2012; 8, e58945. doi:10.1371/journal.pone.0058945.
38. Gam S., Guelfi K. J., Fournier P. A. New Insights into Enhancing Maximal Exercise Performance Through the Use of a Bitter Tastant. *Sports Med.* 2016, doi: 10.1007/s40279-016-0522-0, article in press.
39. Mayer E. A. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nat. Rev. Neurosci.* 2011; 12: 453–66.
40. Singh N., Vrontakis M., Parkinson F., Chelikani P. Functional bitter taste receptors are expressed in brain cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 406: 146–151.
41. Wolfle U., Elsholz F. A., Kersten A., Haarhaus B., Muller W. E., Schempp C. M. Expression and functional activity of the bitter taste receptors TAS2R1 and TAS2R38 in human keratinocytes. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2015; 28: 137–146.
42. Mascie-Taylor C. G. N., McManus I. C., MacLarnon A. M., Lanigan P. M. The association between phenylthiocarbamide (PTC) tasting ability and psychometric variables. *Behav. Genet.* 1983; 13, 191–196.
43. Macht M., Mueller J. Increased negative emotional responses in PROP supertasters. *Physiol. Behav.* 2007; 90, 466–472.
44. Sagioglou C., Greitemeyer T. Bitter Taste Causes Hostility. *Pers. Soc. Psychol. Bull.* 2014; 40, 1589–1597.
45. Sagioglou C., Greitemeyer T. Individual differences in bitter taste preferences are associated with antisocial personality traits. *Appetite* 2016; 96, 299e308.
46. Deckmann K., Filipski K., Krasteva-Christ G., Fronius M., Althaus M., Rafiq A., Papadakis T., Renno L., Jurastow I., Wessels L., Wolff M., Schütz B., Weihe E., Chubanov V., Gudermann T., Klein J., Bschleipfer T., Kummer W. Bitter triggers acetylcholine release from polymodal urethral chemosensory cells and bladder reflexes. *PNAS* 2014; 111, 8287–8292.
47. Zhai K., Yang Z., Zhu X., Nyirimigabo E., Mi Y., Wang Y., Liu Q., Man L., Wu S., Jin J., Ji G. Activation of bitter taste receptors (tas2rs) relaxes detrusor smooth muscle and suppresses overactive bladder symptoms. *Oncotarget* 2016; 7, 21156–21167.
48. Clark A. A., Dotson C. D., Elson A. E. T., Voigt A., Boehm U., Meyerhof W., Steinle N. I., Munger S. D. TAS2R bitter taste receptors regulate thyroid function. *FASEB J.* 2015; 29, 164–172.
49. Orsmark-Pietras C., James A., Konradsen J. R., Nordlund B., Soderhall C., Pulkkinen V., Pedroletti C., Daham K., Kupczyk M., Dahlen B., Kere J., Dahlen S. E., Hedlin G., Melen, E. Transcriptome analysis reveals upregulation of bitter taste receptors in severe asthmatics. *Eur. Respir. J.* 2013; 42, 65–78.
50. Grassin-Delyle S., Naline E., Devillier, P. Taste receptors in asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 15, 63–69.
51. Ekoff M., Choi J. H., James A., Dahlen B., Nilsson G., Dahlen, S. E. Bitter taste receptor (TAS2R) agonists inhibit IgE-dependent mast cell activation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 134, 475–478.
52. Thalmann S., Behrens M., Meyerhof W. Major haplotypes of the human bitter taste receptor TAS2R41 encode functional receptors for chloramphenicol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013; 435, 267–273.
53. Chen Z., Wu J., Zhao Y., Xu F., Hu Y. Recent advances in bitterness evaluation methods. *Anal. Methods* 2012; 4, 599–608.
54. Mohamed-Ahmed A. H. A., Soto J., Ernest T., Tuleu C. Non-human tools for the evaluation of bitter taste in the design and development of medicines: a systematic review. *Drug Discov. Today* 2016; 21, 1170–1180.
55. Bitter X. <http://mdl.shsmu.edu.cn/BitterX> (14. 7. 2016).
56. Levit A., Nowak S., Peters M., Wiener A., Meyerhof W., Behrens M., Niv M. Y. The bitter pill: clinical drugs that activate the human bitter taste receptor TAS2R14. *FASEB J.* 2014; 28, 1181–1197.
57. Sakai M., Ikeda M., Kazui H., Shigenobu K., Nishikawa T. Decline of gustatory sensitivity with the progression of Alzheimer's disease. *Int. Psychogeriatr.* 2016; 28, 511–517.
58. Ansoleaga B., Garcia-Esparcia P., Pinacho R., Haro J. M., Ramos B., Ferrer I. Decrease in olfactory and taste receptor expression in the dorsolateral prefrontal cortex in chronic schizophrenia. *J. Psych. Res.* 2015; 60, 109–116.
59. Feng P., Jyotaki M., Kim A., Chai J., Simon N., Zhou M., Bachmanov A. A., Huang L., Wang H. Regulation of bitter taste responses by tumor necrosis factor. *Brain Behav. Immun.* 2015; 49, 32–42.
60. Avau B., Depoortere I. The bitter truth about bitter taste receptors: beyond sensing bitter in the oral cavity. *Acta Physiol.* 2016; 216, 407–420.