

Rafael Schneider, Raquel Lupion e Zilah Ribeiro
Monitora: Ester

Amargo

Porto Alegre, novembro de 2005.

INTRODUÇÃO

O paladar é responsável pelo apetite (desejo de comer alimentos específicos) e possibilita ao homem a sensação de prazer ao ingerir um alimento. Sem ele, não se teria interesse na comida, passando a se desnutrir.

No paladar, temos sensações gustativas primárias, que são divididas em cinco grupos, e secundárias, que são combinações das primárias.

As sensações gustativas primárias são doce, salgado, amargo, azedo e umami (recentemente descoberta por pesquisadores japoneses e atualmente aceita internacionalmente). Os sabores primários excitam receptores específicos (localizados na mucosa lingual) através de um conjunto de sinais químicos. Já as sensações gustativas secundárias não têm receptores, centros específicos para a sensação e não enviam estímulos determinados. Resultam de uma combinação dos sabores primários. Por exemplo, o sabor alcalino (salgado + azedo), sabor metálico (salgado + doce) e sabor picante (salgado + doce + azedo).

O amargo tem dois tipos de substâncias estimulantes: as orgânicas e as inorgânicas. Dentre as orgânicas encontramos o denatônio, alcalóides, brercina, nicotina, morfina, estrienina, quinina, atropina, pilocarpina, cocaína, glicosídeos e cafeína. Já as inorgânicas são os nitratos, sulfatos, sais de magnésio, céσιο, rubídio, cálcio.

Substâncias geusigênicas são substâncias que produzem sabor. Para que uma substância seja considerada geusigênica ela precisa ser hidrossolúvel, para ser dissolvida na saliva, e volátil, para evaporar na boca e ir até a mucosa nasal e provocar aroma.

Os receptores geúsicos localizam-se na mucosa bucal, preferencialmente no dorso da língua e nas papilas gustativas. Em estudos recentes, ficou provado que os receptores estão distribuídos igualmente pela língua.

Segundo o artigo ***Genetics of Human Taste Perception***, o gosto amargo parece ser a qualidade mais complexa do gosto nos seres humanos, baseados na variedade larga das estruturas químicas que eliciam o gosto amargo e no número aparentemente grande dos genes que codificam receptores para este gosto. Acredita-se que o amargo é responsável pela detecção de toxinas do ambiente.

Foram descobertos genes dos receptores do amargo (designados alternativamente genes de T2R ou de TAS2R) nos seres humanos e nos ratos. Vinte e quatro genes funcionais de T2R e diversos pseudogenes de T2R foram relatados nos seres humanos; já nos ratos trinta e três genes funcionais de T2R foram relatados.

No genoma humano, os genes que codificam essas proteínas (T2R) residem em três posições. Quatorze genes residem em um conjunto no cromossomo 12p13, nove genes estão em um conjunto no cromossomo 7q31, e um único membro da família do gene reside no cromossomo 5p15. Todos esses genes contêm um único éxon do coding que codifica um receptor de proteína G acoplado 7 transmembrana que calcula a média de 335 aminoácidos no comprimento.

Discutiu-se que a variação significativa da seqüência entre membros diferentes da família do gene de T2R serviu a uma função adaptável durante a evolução.

Já segundo o artigo ***Human taste genetics***, o mecanismo molecular dos gostos nos seres humanos conseguem distinguir cinco gostos clássicos: doce, amargo, salgado, azedo e umami.

Os sensores moleculares dessas cinco classes de gostos são mediados através do mecanismo de segundo mensageiros. Este segundo mensageiro inclui fofolipase C, AMPcíclico e IP3.

Os gostos doce, amargo e umami podem ser percebidos pelos receptores da proteína G (GPCRs), que são expressos nas células dos botões gustativos da língua. A proteína G13 está envolvida com a percepção do amargo.

A escala de tamanhos molecular, de formas, e de funcionalidades químicas de substâncias amargas é extremamente larga. Os seres humanos carregam 25 genes receptores do amargo.

O *déficit* aparente de genes de receptores de amargo pode ser explicado por grande número de alelos diferentes para os genes de TAS2R. A variação fenotípica na sensibilidade aos amargos diversos, incluindo o quinina, o octacetato do sucrose, o benzoato do denatônio, a tetraciclina, e o cloroamfenicol. À exceção do cloroamfenicol, houve pouco estudo das influências genéticas possíveis nesta variação. Também a maioria da variação na sensibilidade do gosto a estes compostos parece ser distribuída aleatoriamente na população.

No artigo ***Characterization of Bitter Taste Responses of Intestinal STC-1 Cells***, as respostas celulares das células STC-1 a dois *'tastants'* amargos (denatônio e cafeína) foram investigadas usando uma técnica de cálcio-imagem latente e comparadas com a resposta ao bombesin. A cafeína é um estimulante das células do receptor do gosto, mas as propriedades de seu sinalizar não foram bem estudadas. As células STC-1 responderam a todas as três moléculas em uma maneira dependente de dosagem, e quando uma reação em cadeia reversa de transcriptase-polimerase (RT.PCR) para o receptor do denatônio foi executada, o produto do tamanho desejado foi detectado nas células STC-1. Além disso, todos os três caminhos sinalizados foram obstruídos por um inibidor da fosfolipase C (PLC).

Para estudar o sistema regulatório da proteína de G que sinaliza nas células STC-1, procuraram-se proteínas quinases G acopladas do receptor (GRKs) pelo método do *primer degenerador-degenerador* PCR e encontrou-se que o GRK2 está expresso. Demonstrou-se também que três GRKs (GRK2, GRK3 e GRK5) estão distribuídos diferencialmente na papila circunvalada quando somente GRK2 estiver atual em células do gosto. Finalmente, foi super expresso o GRK2 nas células SCT-1 e encontrou-se que a resposta bombesin induzida esteve inibida fortemente por GRK2, mas o sinalizador denatônio ativado não esteve afetado. Na cafeína, a resposta foi diminuída pela expressão de GRK2 somente quando as células foram ativadas por 1 milímetro de cafeína. Assim, mostrou-se que as células STC-1 emergem como um modelo da célula para estudar o mecanismo molecular do gosto amargo que sinaliza, e pode-se indicar propriedades de sinalizar cafeína-induzido em comparação com outro sinalizador.

No artigo ***Receptors for bitter and sweet taste***, foi estudada a identificação de duas famílias dos receptores, do T1Rs e do T2Rs, de estimulação de doces e amargos. Esse estudo abriu as portas para a compreensão de alguns mecanismos básicos subjacentes do gosto nos mamíferos. Os estudos das funções destes receptores e de seus testes padrões da expressão fornecem as informações importantes a respeito da detecção dos compostos estruturais diversos do gosto e da maneira em que as qualidades diferentes do gosto são codificadas na boca. Um papel do sistema gustativo é analisar alimentos potencialmente prejudiciais, como são muitos os compostos do amargo-gosto, ou benéficos, como são os açúcares. A etapa inicial na percepção de gosto ocorre na extremidade apical das células do receptor do gosto que são encontradas nos botões gustativos da boca. Os botões gustativos são encontrados nas estruturas chamadas de papilas na língua tanto como no palato e na parede da garganta. As papilas dividem-se em fungiformes, foliadas e circunvaladas. Podem ser distintas na base da morfologia e da posição. Nesta revisão, descreveu-se a identificação e a caracterização de famílias dos receptores dos mamíferos para a estimulação amargos e doces.

No artigo, ***Genomic organization, expression, and function of bitter taste receptors (T2R) in mouse and rat***, os receptores de gosto do tipo 2 dos mamíferos (TR2) pertencem a família das proteínas G duplo-receptores que medeiam os sinais de amargo nas células do paladar.

Nesse estudo, foi comparada a organização genômica dos genes T2R dos roedores baseados nos genomas recentemente terminados do camundongo e do rato e examinado o tecido (e as células específicas que expressam o T2R). As famílias T2R tanto dos ratos quanto dos camundongos consistem em 36 genes intactos e ao menos 7 pseudogenes que foram mapeados nos ratos nos cromossomos 15, 2 e 6, e nos camundongos nos cromossomos 2, 3, e 4. Todos com exceção de dois T2R genes estão agrupados no cromossomo 6 dos ratos e 4 dos camundongos com organização genômica virtualmente idêntica. Os ortólogos do primeiro gene T2R humano identificado, mT2R-119 e rT2R-1, estão localizados no rato no cromossomo 15 e no camundongo no cromossomo 2, uma vez que os recém descobertos genes T2R específicos dos roedores, mT2R-134 e rT2R-34, estão localizados no rato no cromossomo 2 e no camundongo no cromossomo 3. Nos resultados, usando RT-PCR, demonstraram a presença de transcrições correspondendo ao suposto *denatonium benzoate* (DB) e *phenylthiocarbamide* (PCT) receptores no duodeno assim como nos STC-1 e células AR42J I. O gene roedor-específico recém descoberto T2R (mT2R134 e rT2R34) foi expresso também nestes tecidos e tipos de células.

A adição do DB, PTC, ou do cycloheximide às células AR42J induz um aumento rápido na concentração intracelular de Ca²⁺. A especificidade destes efeitos é mostrada pelo fato que estímulos amargos não induziram nenhuma sinalização detectável de Ca²⁺ em qualquer um dos roedores ou em células humanas que não expressavam receptores ou proteína G envolvida na sinalização do gosto. Estes resultados demonstram que os genes T2R do rato e do camundongo

estão altamente preservados no que diz respeito à organização genômica e expressão nos tecidos, sugerindo que o T2R dos roedores evoluíram pressionados por dietas similares e que compartilham as funções da sensação de amargo na língua e sistema gastrointestinal.

No artigo, ***Genetic and Environmental Determinants of Bitter Perception and Sweet Preferences***, foi testada a hipótese que as variações genéticas no gene, recentemente descoberto, do gosto TAS2R38 assim como as diferenças culturais que estão associadas com as diferenças na sensibilidade ao gosto amargo do propiltiouracil e preferência por sacarose e comidas doces em crianças e adultos. O estudo descreve um relacionamento específico entre diferenças individuais na percepção do amargo e em preferências doces e na variação genética em um gene do receptor do amargo. Assim, os pais e suas crianças vivem em mundos sensorial diferentes não somente por causa da idade, mas, em alguns casos, por causas genéticas. Estes estudos ajudam explicar alguns obstáculos que os pais enfrentam quando negociando com as crianças sobre escolhas do alimento e pavimentam a maneira para a outra pesquisa.

O projeto consistiu na extração do DNA de 143 crianças e suas mães. Os alelos do gene TAS2R38 eram genotipados. Os indivíduos que eram homocigotos para o alelo amargo-insensível são consultados como a AA, aqueles que eram heterocigotos para o alelo amargo-insensível são consultados como ao AP, e aqueles que eram homocigotos para o alelo amargo-sensível são consultados como aos PP. Usando procedimentos idênticos para crianças e mães, a sensibilidade e as preferências da sacarose foram avaliadas usando os procedimentos da escolha-forçada que foram encaixados no contexto dos jogos que minimizaram o impacto do desenvolvimento da língua e eram sensíveis às limitações cognitivas de populações pediátricas. Os participantes foram perguntados também sobre suas preferências nos cereais e nas bebidas, e as mães terminaram um questionário que media várias dimensões do temperamento das suas crianças.

Nos resultados constatou-se que a variação genética do alelo de A49P influenciou a percepção amarga nas crianças e nos adultos. Entretanto, o relacionamento do fenótipo-genótipo foi modificado pela idade tais que 64% de crianças heterocigotas, mas somente 43% das mães heterocigotas, eram sensíveis à concentração mais baixa (56 micromoles/litro) do propiltiouracil. Os genótipos no locus TAS2R38 foram relacionados significativamente às preferências para a sacarose e para bebidas e alimentos doces tais como cereais nas crianças.

As crianças do AP e dos PP (amargo-sensíveis) preferiram umas concentrações significativamente mais elevadas de soluções do sacarose do que as crianças do AA (amargo-insensíveis). Eram também significativamente menos provável incluir o leite ou a água como 1 de suas 2 bebidas favoritas (18,6% contra 40%). As crianças dos PP gostaram de cereais e de bebidas com um índice significativamente mais elevado do açúcar. Havia também uns efeitos significativos de raça/etnia em preferências e em hábitos do alimento. Como um grupo, as crianças negras gostavam de cereais com um índice significativamente mais elevado de açúcar do que as crianças brancas, e eram também significativamente mais prováveis relatar que adicionaram o açúcar a seus cereais. Ao contrário das crianças, não havia nenhuma correspondência entre os genótipos TAS2R38 e a preferência doce nos adultos. Aqui, os efeitos de raça/etnia eram as determinantes as mais fortes, assim sugerindo que as forças e a experiência cultural podem cancelar este efeito do genótipo em preferências doces. As diferenças no gosto experimentam a interação também afetada da mãe-criança, especial quando os dois residiram em mundos sensoriais diferentes. Isto é, as crianças que tiveram um ou dois alelos amargo-sensíveis, mas cujas mães não tiveram nenhum, foram percebidas por suas mães como sendo mais emocionais do que as crianças que não tiveram nenhum alelo amargo-sensível.

Como conclusão, definiu-se que, as variações em um gene do receptor do gosto explicaram uma parcela principal de diferenças individuais na percepção do amargo em crianças e em adultos, assim como uma parcela de diferenças individuais nas preferências para sabores doces nas crianças mas não nos adultos. As forças culturais podem às vezes cancelar os efeitos genotípicos de A49P nos adultos. Sabendo que a cultura influencia muito nas escolhas das pessoas, e sabendo que estamos com grandes incidências de diabetes e obesidade, pode-se criar campanhas de alimentação saudável, que talvez alterará os gostos e os hábitos das pessoas.

E, por fim, no artigo ***Sensory responses to 6-n-propylthiouracil (PROP) or sucrose solutions and food preferences in young women*** discutiu-se que a sensibilidade genética ao gosto amargo do 6-n-propiltiouracil (PROP) foi ligada a um grande número de relatos de rejeições a alguns alimentos amargos. Mulheres novas saudáveis foram divididas em: sem percepção, com

Rafael Schneider, Raquel Lupion e Zilah Ribeiro
Monitora: Ester

percepção e em com muita percepção do PROP de acordo com seus pontos iniciais da detecção do PROP e a proporção a respeito da classificação de intensidade do PROP em comparação com soluções de NaCl. Perfis idôneos de respostas às soluções da sacarose distinguiram entre os que tinham e os que não tinham preferência ao doce. Todas as experiências resultaram numa lista com 171 itens de verificação da preferência do alimento. Os dados da preferência do alimento foram reduzidos pelas análises de fator, as sub-escalas foram testadas para a confiabilidade usando o alfa de Cronbach. Uma sensibilidade maior ao PROP foi associada com a aceitação menor ao café, vegetais crucíferos (plantas crucíferas, como couve, o nabo, a mostarda. Crucífera significa que são ervas anuais ou perenes), frutas cítricas “tart” (azedas, adstringentes, picantes) pães escuros, e algumas gorduras específicas. No contraste, gostar de soluções de sacarose foi ligado a gostar de açúcar no chá e no café, mas não a todo o teste padrão especial da aceitação do alimento. As estratégias almejando aumentar o consumo de grãos, vegetais, e a fruta deverão considerar o papel do paladar herdado e seu potencial impacto sobre os hábitos alimentares.

Referências Bibliográficas:

- Drayna.D. Human taste genetics. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2005.6:217-35
- Drewnowski.A. Taste preferences and food intake. *Annu. Rev. Nutr.* 1997.17:231-53
- Masuho.I ; Tateyama.M;Saitoh.O. Characterization of Bitter Taste Responses of Intestinal STC-1 Cells .pubmed
- Montmayeur.J,; Matsunami.H. Receptors for bitter and sweet taste .
- Kim.U.;Breslin.P.A.S.;Reed.D,;Drayana.D. Genetics of Human Taste Perception
- Drewnowski A, Henderson SA, Shore AB, Barratt-Fornell A.Sensory responses to 6-n-propylthiouracil (PROP) or sucrose solutions and food preferences in young women. *Ann N Y Acad Sci.* 1998 Nov 30;855:797-801.
- Wu.S.V.; Chen.M; Rozengurt .E.Genomic organization, expression, and function of bitter taste receptors (T2R) in mouse and rat
- Mennella,J.A.; Pepino.M.Y.; Reed.D. Genetic and Environmental Determinants of Bitter Perception and Sweet Preferences