




Gusto e olfatto e vista

Riconoscere le molecole
che arrivano a contatto con
l'organismo

- Molecole nutritive
- Molecole tossiche
- Molecole "sociali"
- Molecole dell'ambiente

Esempi:

		
geraniolo	benzaldeide	H ₂ S

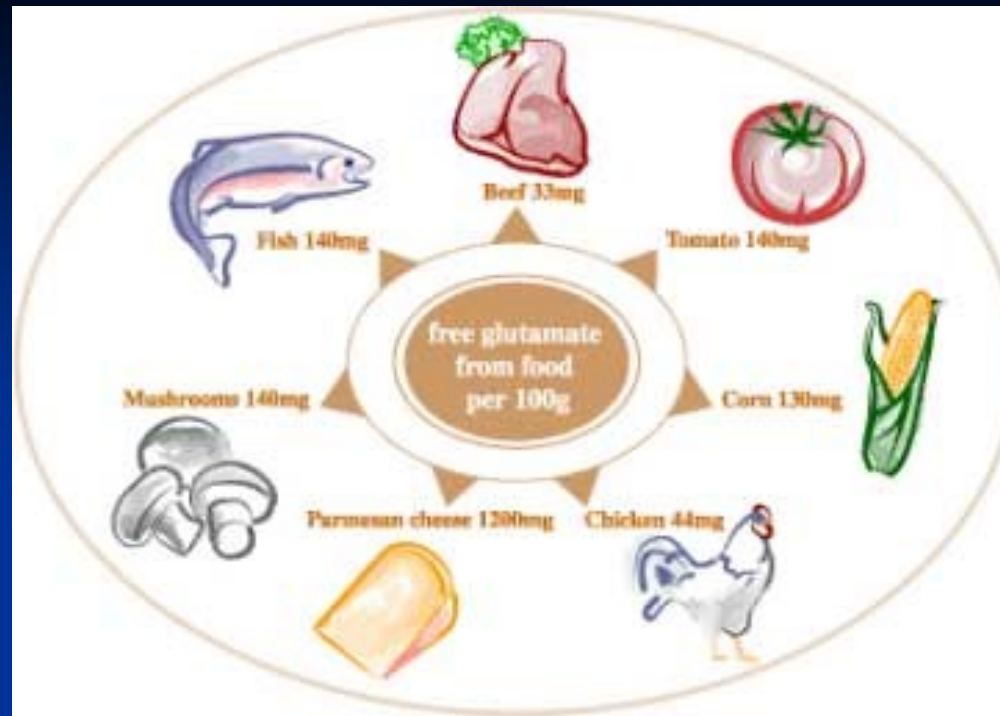
Il senso del gusto

Il senso chimico del gusto dà una guida al nostro senso dell'appetito e al tempo stesso ci protegge dai veleni.

Ad esempio ci piace il gusto **dolce** perché il nostro organismo ha “necessità” di carboidrati.

Siamo attirati dal **salato** perché abbiamo bisogno di sali e in particolare di NaCl.

Amaro e acido generano una sensazione spiacevole perché la maggior parte di sostanze tossiche e velenose o semplicemente il cibo avariato sono acide o amare.



Esiste anche di gusto *umami* legato alla percezione del gusto degli *amminoacidi*.

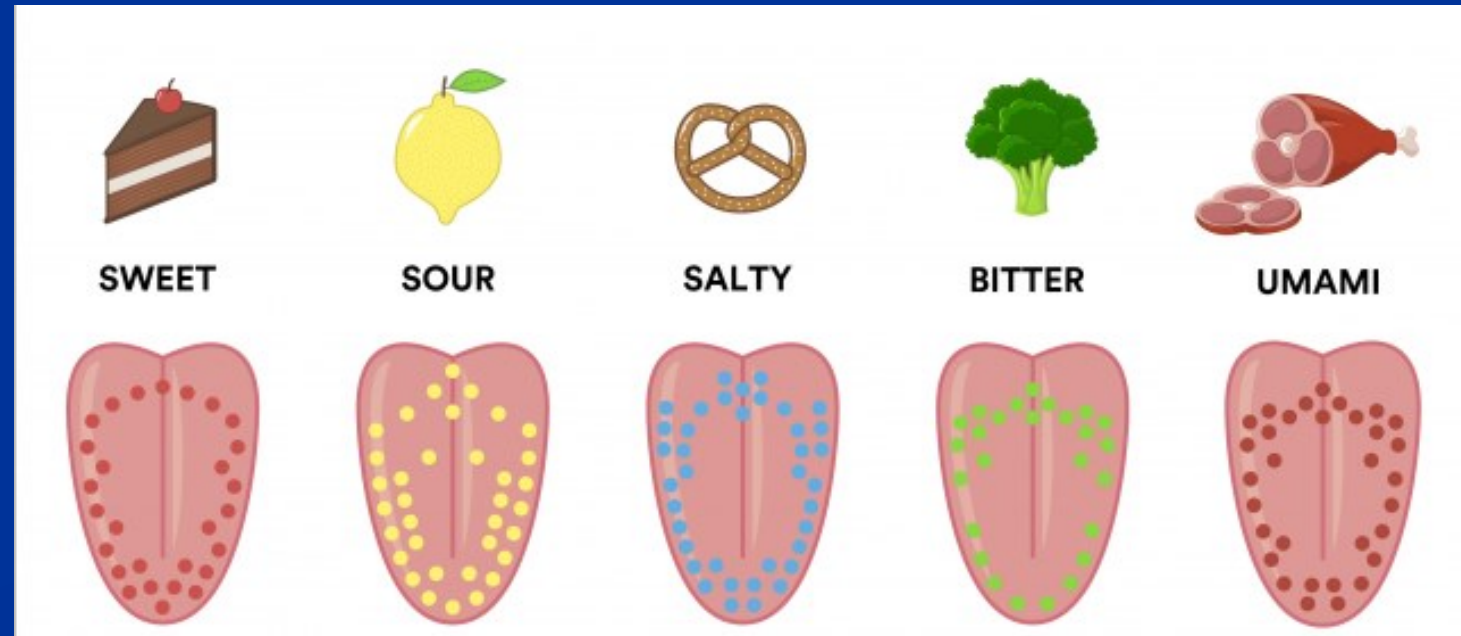
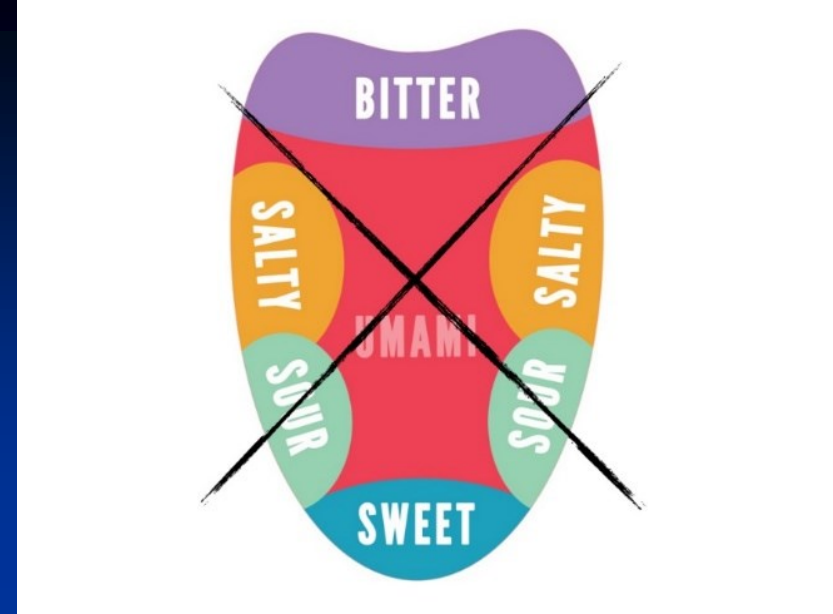
Dipende dalla percezione del *glutammato* che è infatti stato utilizzato come esaltante del gusto in molti cibi.

Esistono 5 gusti fondamentali :
dolce, salato, amaro,
acido e umami (gusto delizioso).

Kokumi, si può tradurre in gusto ricco

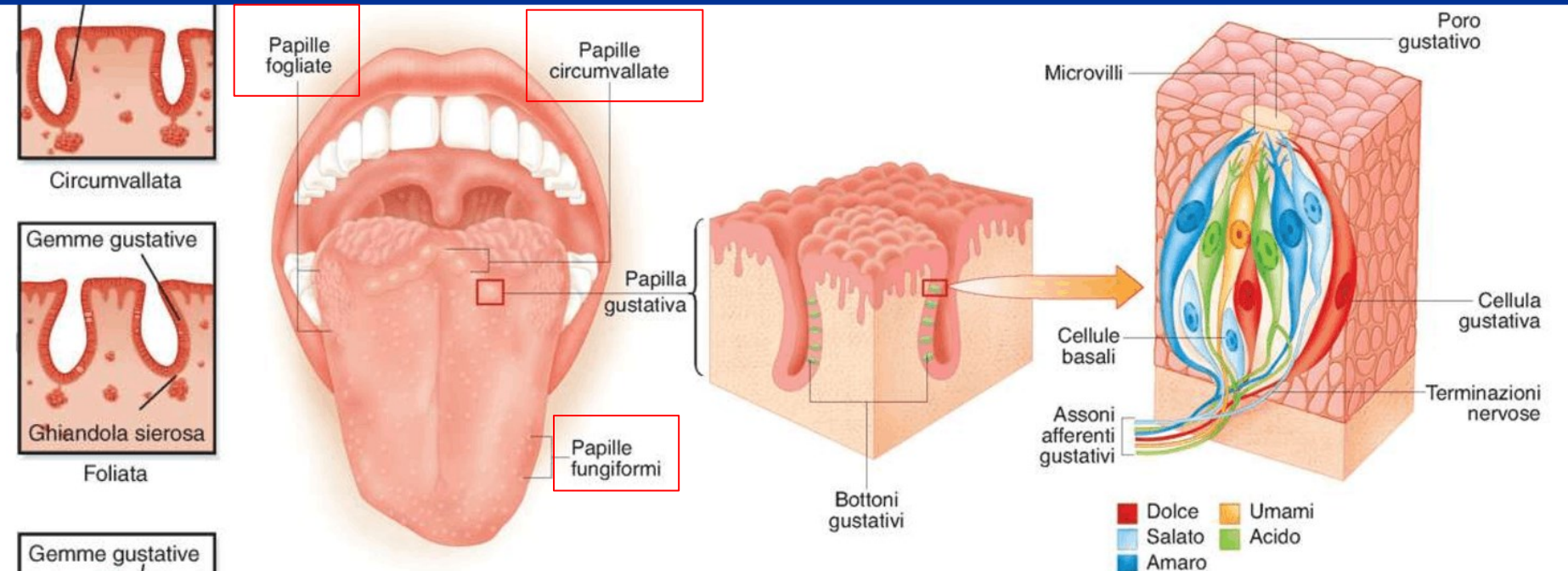
E' dovuta a composti chimici che includono calcio, protamina, glutatione e L-istidina etc.

Diverse regioni
della lingua mostrano
una maggior sensibilità
per le 5 modalità sensoriali.



Sulla lingua si trovano i **recettori per il gusto** che sono alloggiati in strutture particolari dette **gemme o bottoni gustativi**.

Le gemme gustative sono a loro volta alloggiati in strutture che prendono il nome di **papille gustative** comprendenti un numero variabile fra 30 e 100 gemme (50-60 μ m di lunghezza x 30-70 μ m di larghezza).



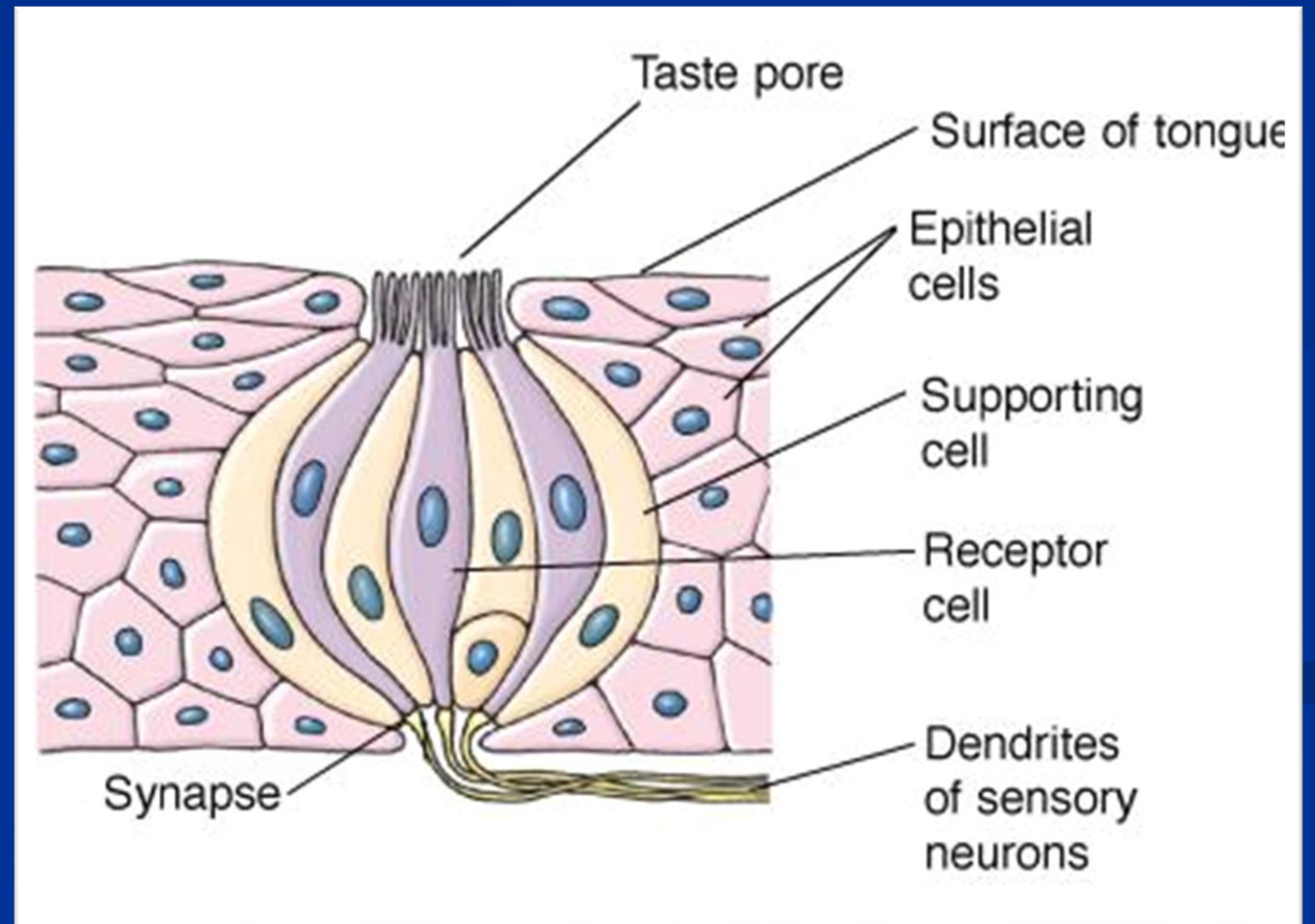
All'apice della **gemma gustativa** processi simili a microvilli (da 2 a 5 μ m in lunghezza e da 0.05 a 0.2 μ m in larghezza) protrudono attraverso una piccola apertura, detta **poro gustativo**, nella cavità orale.

Le gemme gustative

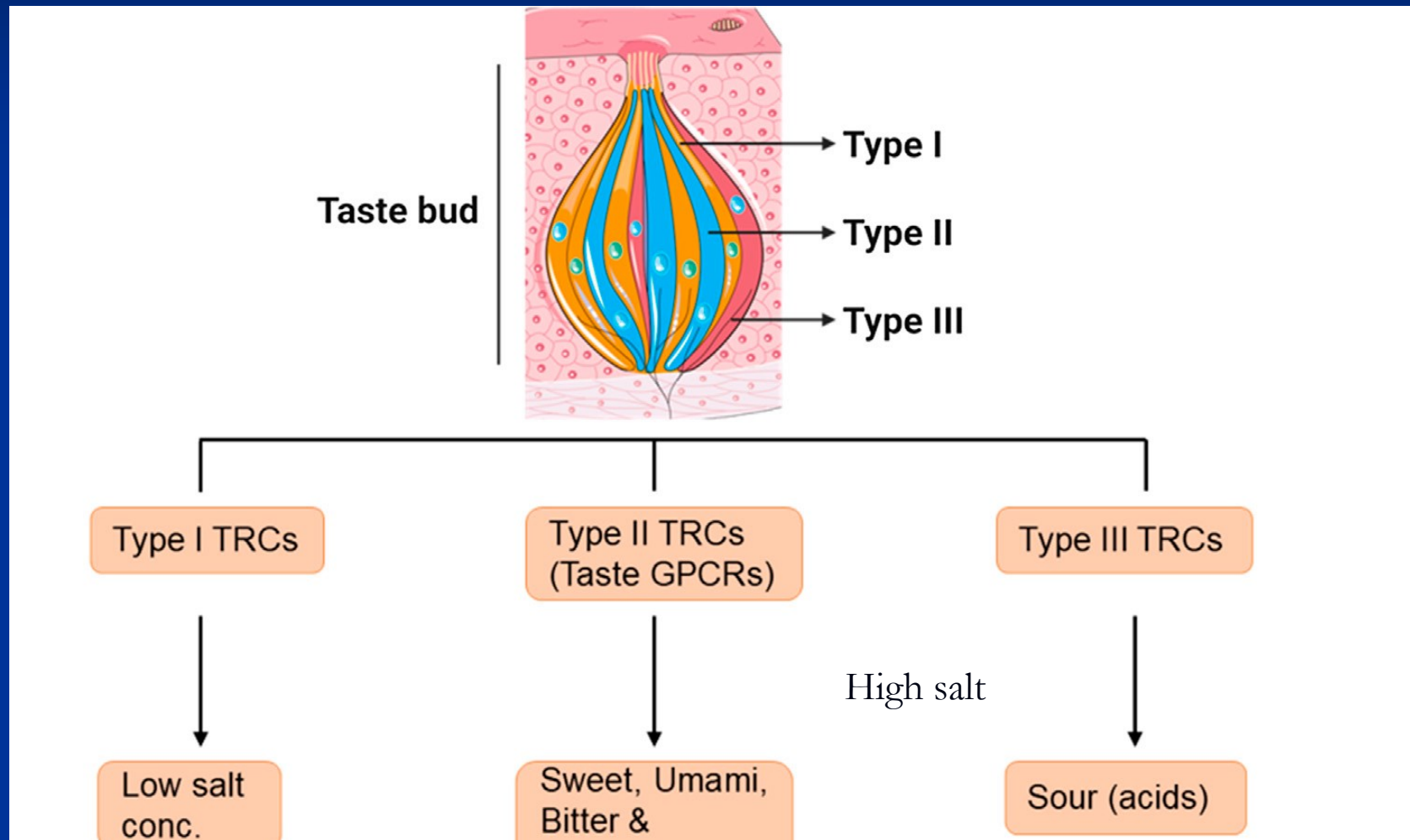
Cellule recettrici: Hanno solo funzione recettoriale, non sono neuroni.
Vita media 250 ore, fra le cellule meno longeve dell'organismo.

Cellule basali: staminali, si differenziano in nuove cellule recettrici in circa 10 giorni

Cellule di sostegno:
hanno funzione trofica e di rimozione di ATP etc.



Funzioni delle cellule del gusto



LA SENSIBILITÀ AI DIVERSI GUSTI FONDAMENTALI DIPENDE DAL TIPO DI SOSTANZA TESTATA.

La soglia per il riconoscimento dello zucchero di canna (**saccarosio**) è 0.02M

Similmente la soglia per il riconoscimento di **NaCl** è 0.035M.

La soglia per il riconoscimento di **HCl** è 0.002M (un ordine di grandezza in meno)

Per il solfato di **chinino** (amaro) la soglia è 0.0000004 ($4 \cdot 10^{-7}$ M), cioè ben 5 ordini di grandezza in meno!!!

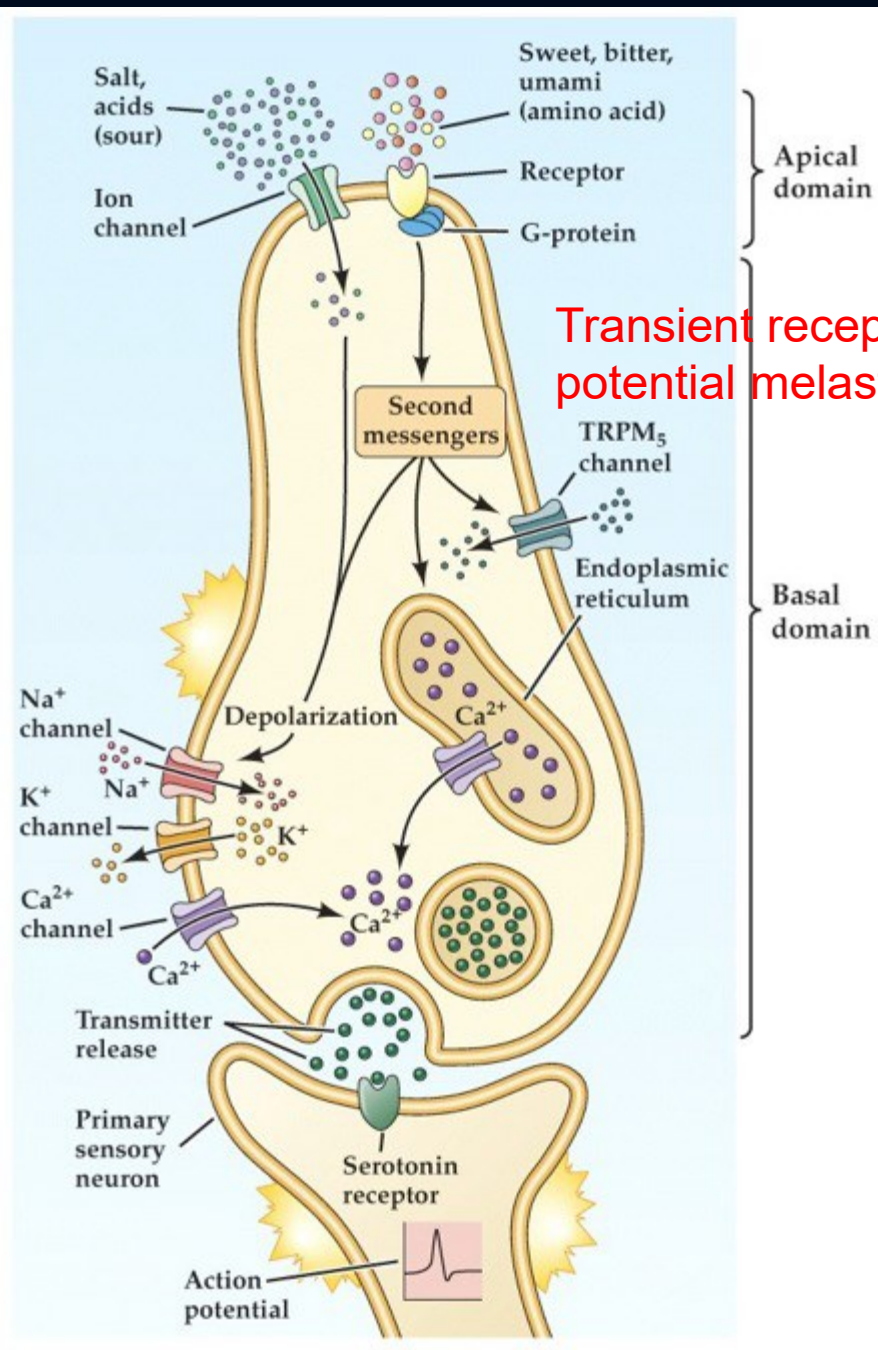
Una sostanza dolce come la **saccarina** ha una soglia di 0.00002 ($2 \cdot 10^{-5}$ M), tre ordini di grandezza in meno del saccarosio.

La trasduzione del segnale di uno stimolo chimico inizia con il trasporto salivare della molecola chimica al poro gustativo.

Le molecole polari non entrano all'interno delle cellule gustative, ma si legano a recettori sulla superficie dei microvilli.

Questi recettori sono accoppiati a una proteina G detta **gustducina** che attiva una cascata di secondi messaggeri che attiva un canale che depolarizza la membrana.

Gli elettroliti come sali o acidi interagiscono direttamente con canali della membrana della cellula recettrice per aumentare il flusso di Na^+ o ridurre quello del K^+ .



Transient receptor potential melastatin

I canali **Transient receptor potential** (TRP) sono un gruppo di canali ionici situati principalmente sulla membrana plasmatica.

Il gruppo 1 include:

TRPC ("C" per canonico)

TRPV ("V" per vanilloide)

TRPVL ("VL" per vanilloide)

TRPM ("M" per melastatina)

TRPS ("S" per soromelastatina)

TRPN ("N" per nessun potenziale meccanorecettore C) TRPA ("A" per ankyrin).

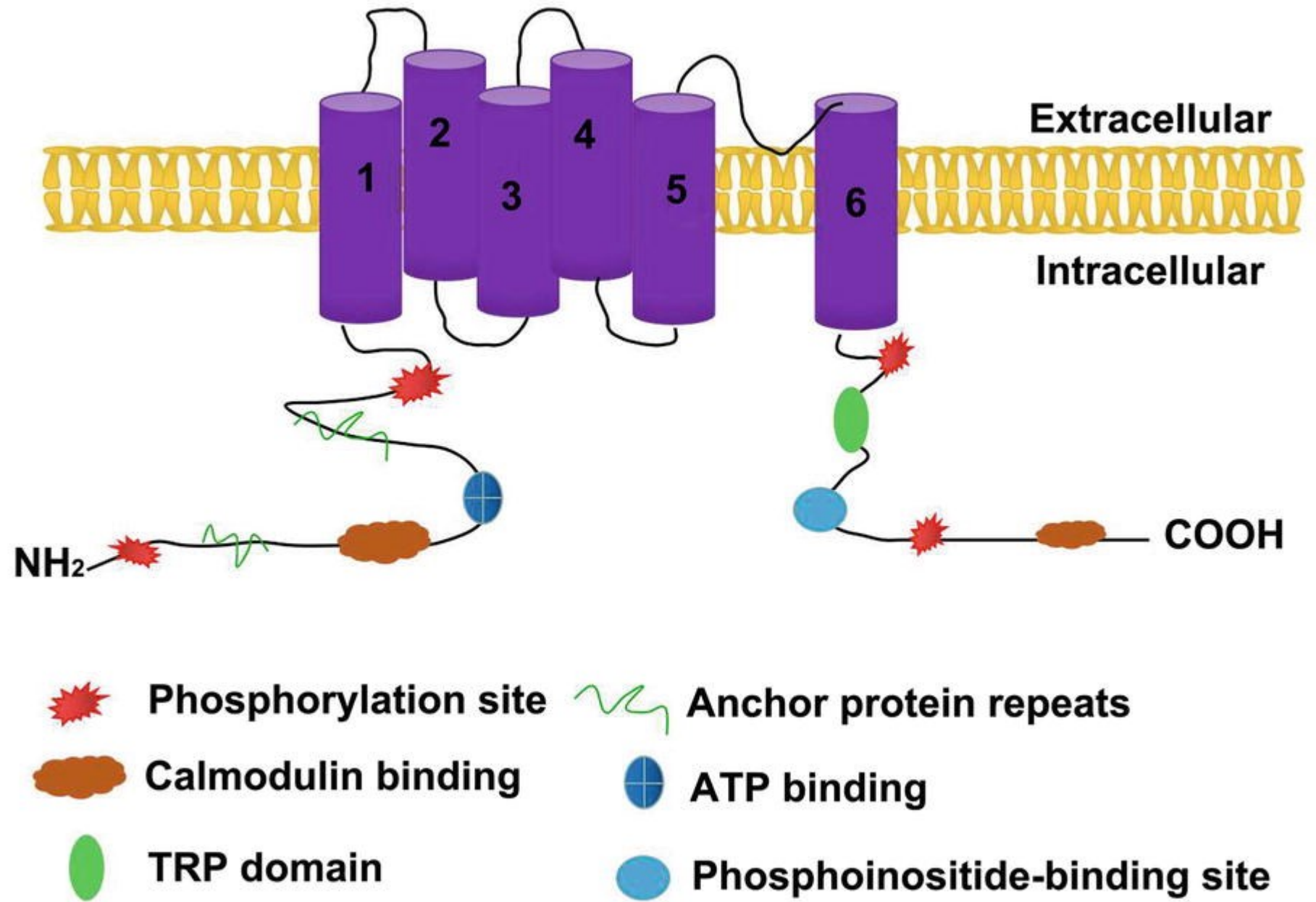
Il gruppo 2 è costituito da:

TRPP ("P" per policistico)

TRPML ("ML" per mucolipina)

TRPM5 è essenziale per la trasduzione dei gusti **amaro, dolce e umami**, forma un canale cationico non selettivo (Na⁺) che **viene attivato dal Ca²⁺** ed è il target della cascata di segnalazione attivata dai GPCR.

TRPM5 contain six transmembrane-spanning regions and assemble as tetramers



Ad ogni gusto un meccanismo

GUSTO	Recettore	Meccanismo
Salato	ENaC (Epithelial Sodium Channel)	Depolarizzazione della membrana
Acido	PKD2L1 (polycystic kidney disease-like ion channel) and Otop1 (Otopetrin 1)	Canali ionici per la percezione del pH
Dolce	T1R2 /T1R3 (Taste receptor type 1 member 2/3)	GPCR eterodimerici che riconoscono molecole dolci
Umami	T1R1 /T1R3	GPCR eterodimerici che riconoscono il glutammato
Amaro	Taste receptor type 2 (es. T2R38)	GPCR che usa gustducin $\beta\gamma$
? Grasso ?	Glicoproteina CD36	Trasportatore di acidi grassi

Trasduzione del gusto salato

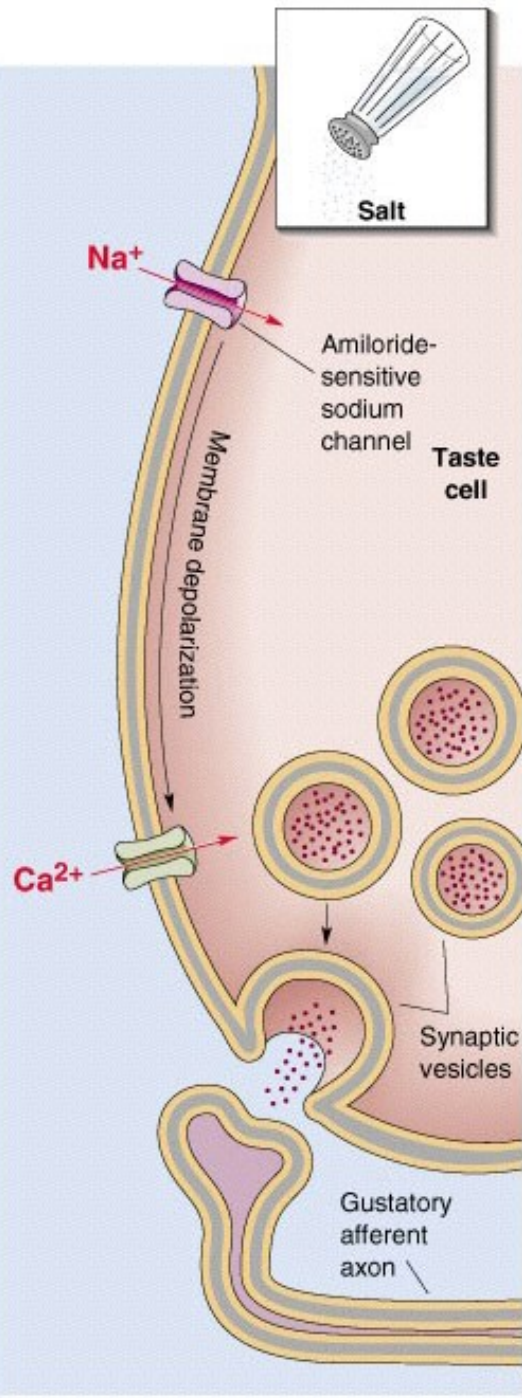
gusto determinato dal sodio (basse conc)

presenza di canali selettivi per il sodio questi canali, a differenza di quelli voltaggio dipendenti, **rimangono sempre aperti**

all'aumentare della concentrazione di Na extracellulare questo inizia a fluire all'interno (per gradiente) portando all'apertura dei canali per Na e Ca voltaggio dipendenti nella parte **basale**

Il neurotrasmettitore liberato comunica con l'assone afferente gustativo e si ha la percezione del salato

Adenosine triphosphate (ATP) and acetylcholine (ACh) are released by type II cells, γ -aminobutyric acid (GABA), serotonin (5-hydroxytryptamine or 5-HT) and norepinephrine (NE) can be utilized by type III cells.



Trasduzione del gusto acido

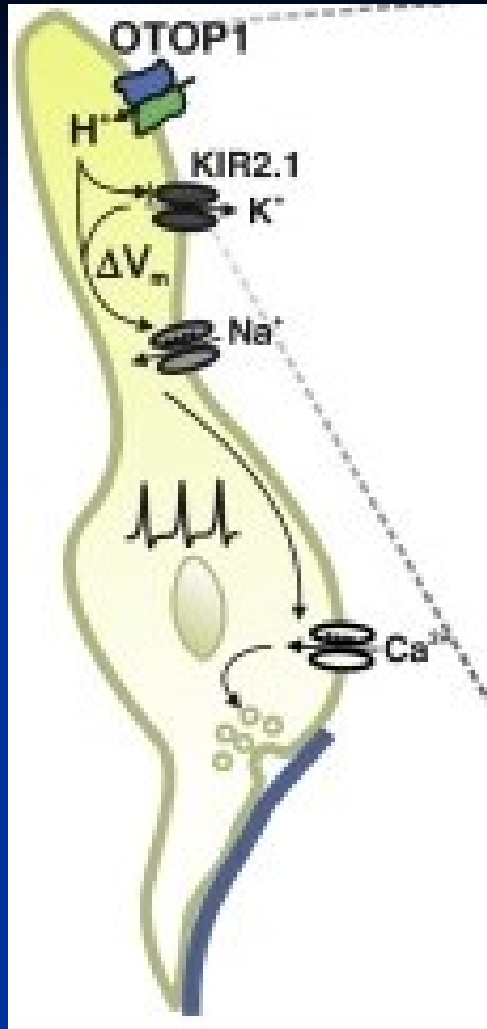
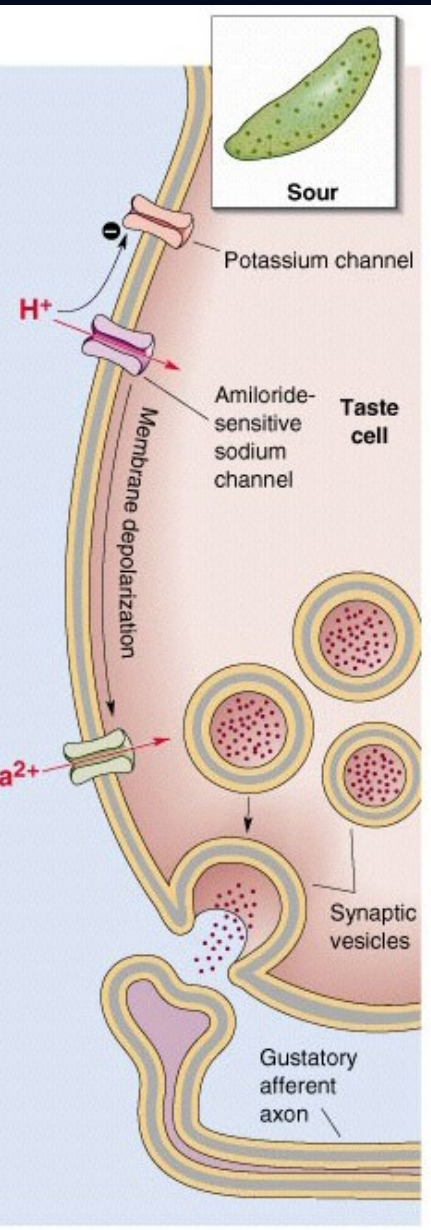
Gusto determinato da ioni idrogeno

Non è stato chiarito completamente la trasduzione del segnale acido:

- gli ioni H si diffondono attraverso gli stessi canali amiloride-sodio per il salato aumentando la concentrazione intracellulare di H⁺
- gli ioni H⁺ bloccano canali selettivi per il potassio (K). La riduzione della permeabilità di membrana per il K causa depolarizzazione

Gli H⁺ diffondono attraverso il canale Otopetrin 1 e causano la depolarizzazione

Anche il canale PKD2L1 sembra partecipare alla risposta ai cibi acidi (off response)



Type III taste cell

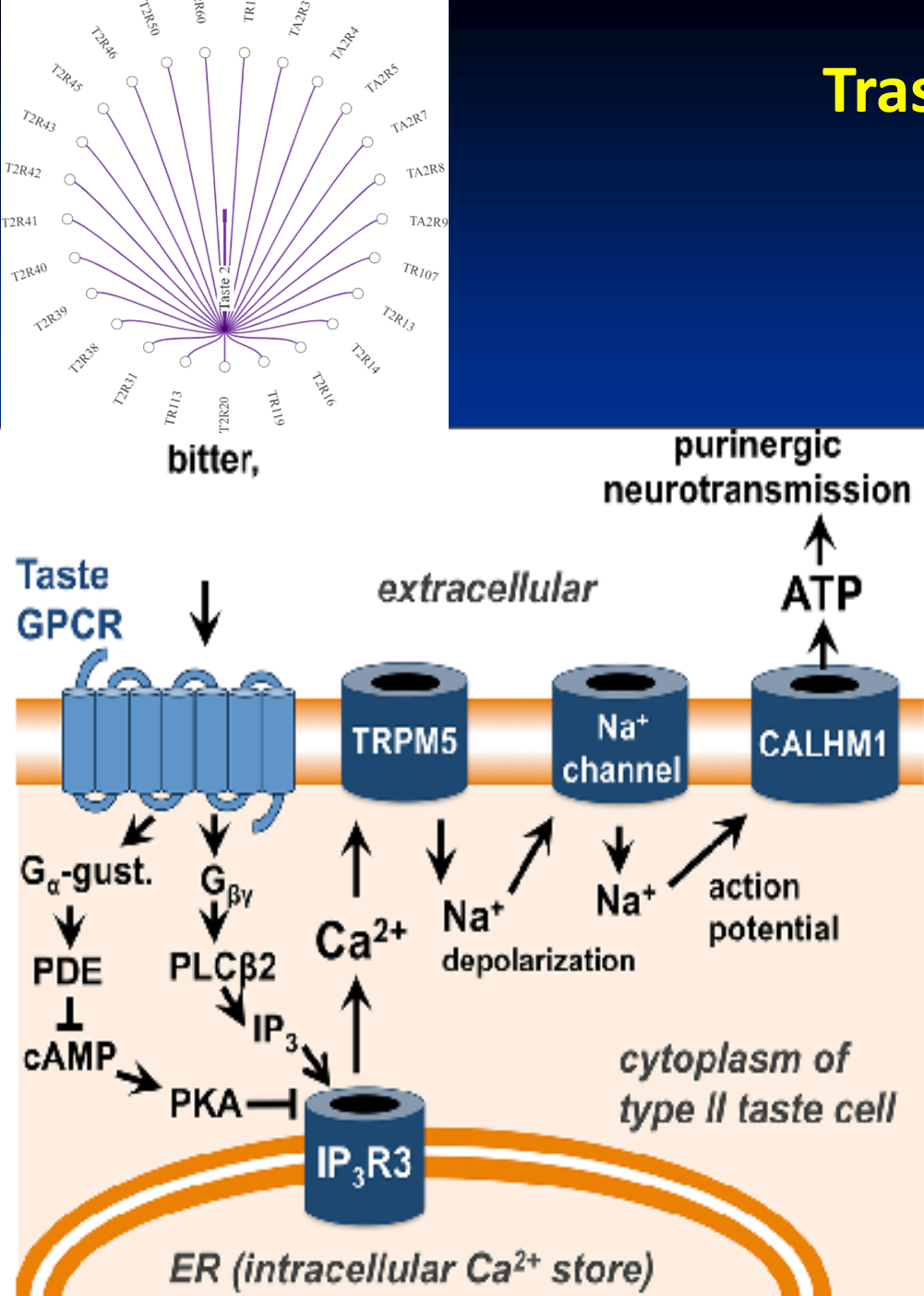
Trasduzione del gusto amaro

Abbiamo circa 30 tipi diversi di recettori (T2R)

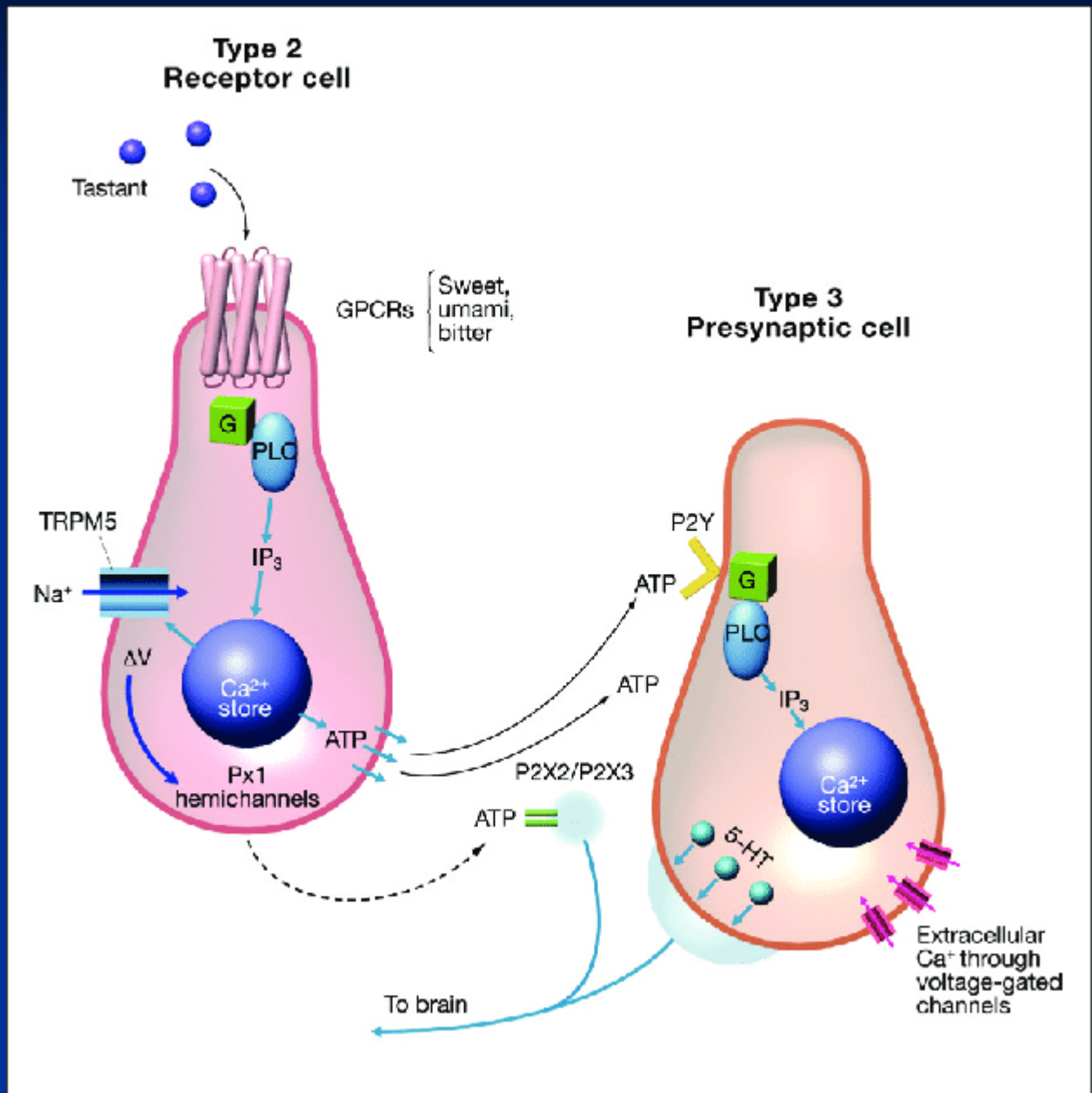
la molecola amara si lega al recettore e attiva la proteina G associata (**gustducina- β 3/ γ 13**)

attivazione della fosfolipasi C e aumento del messaggero cellulare IP3 (ionositolo trifosfato)

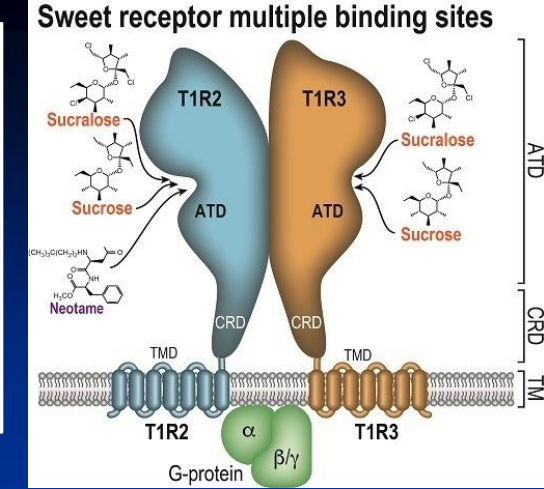
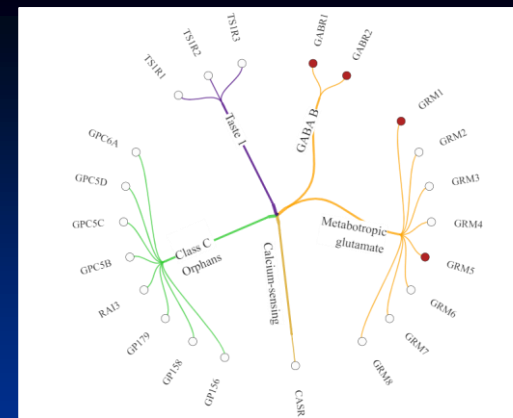
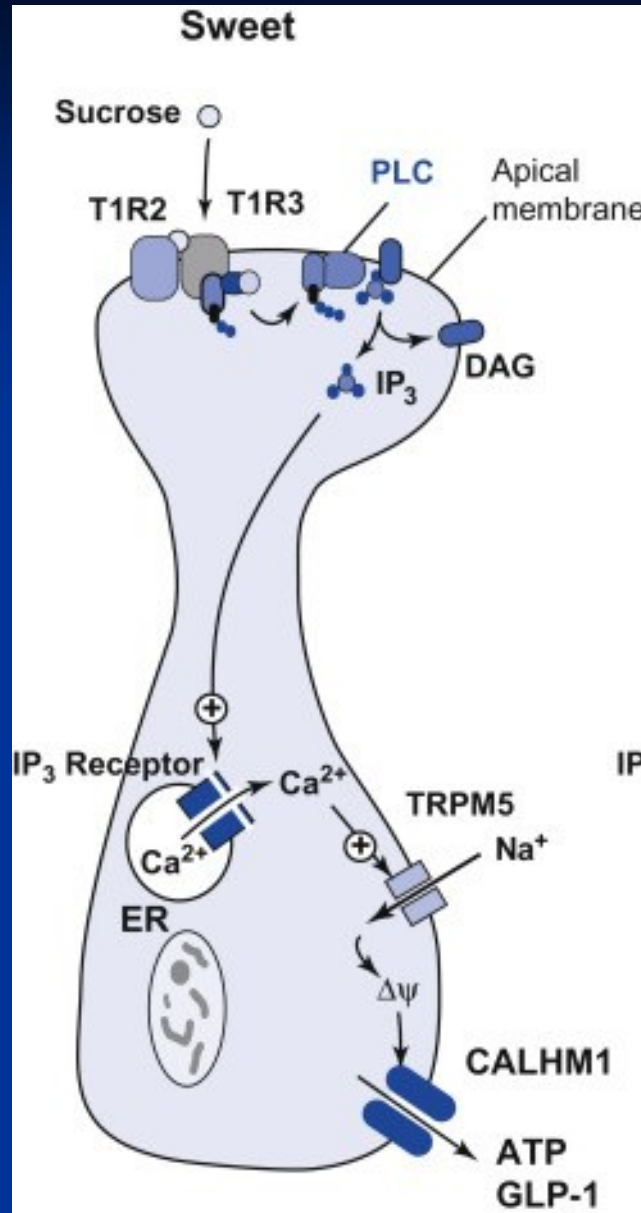
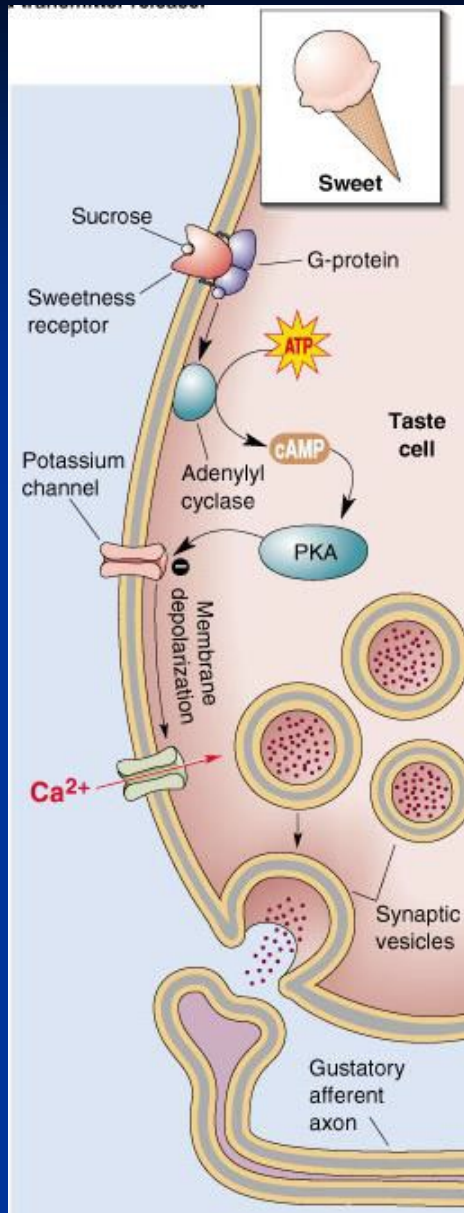
IP3 stimola la liberazione di Ca immagazzinato nella cellula che causa l'**apertura di canali ionici (TRPM5)** per il sodio che depolarizza la cellula e promuove il rilascio di ATP



Cumunicazione tra le cellule di tipo 2 e tipo 3



TRASDUZIONE DEL GUSTO DOLCE



I recettori per il dolce sono costituiti da 2 proteine (T1R2 e T1R3) strettamente associate (una sola per l'amaro)

sostanze dolci o amare che si legano a questi recettori attivano lo stesso tipo di secondo messaggero

Questi recettori sono distribuiti diversamente tra le diverse cellule e inoltre si collegano ad assoni afferenti gustativi differenti

cAMP-dependent Protein Kinase (PKA) likely underlies adaptation to the sweet response.

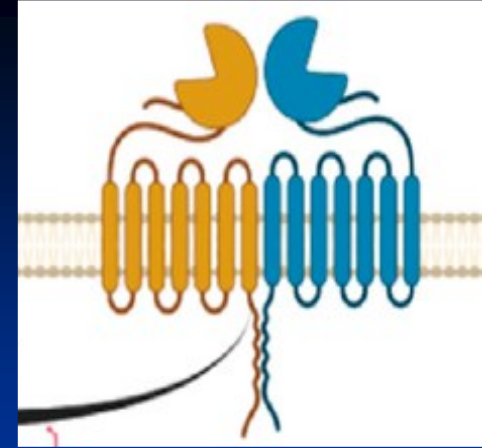
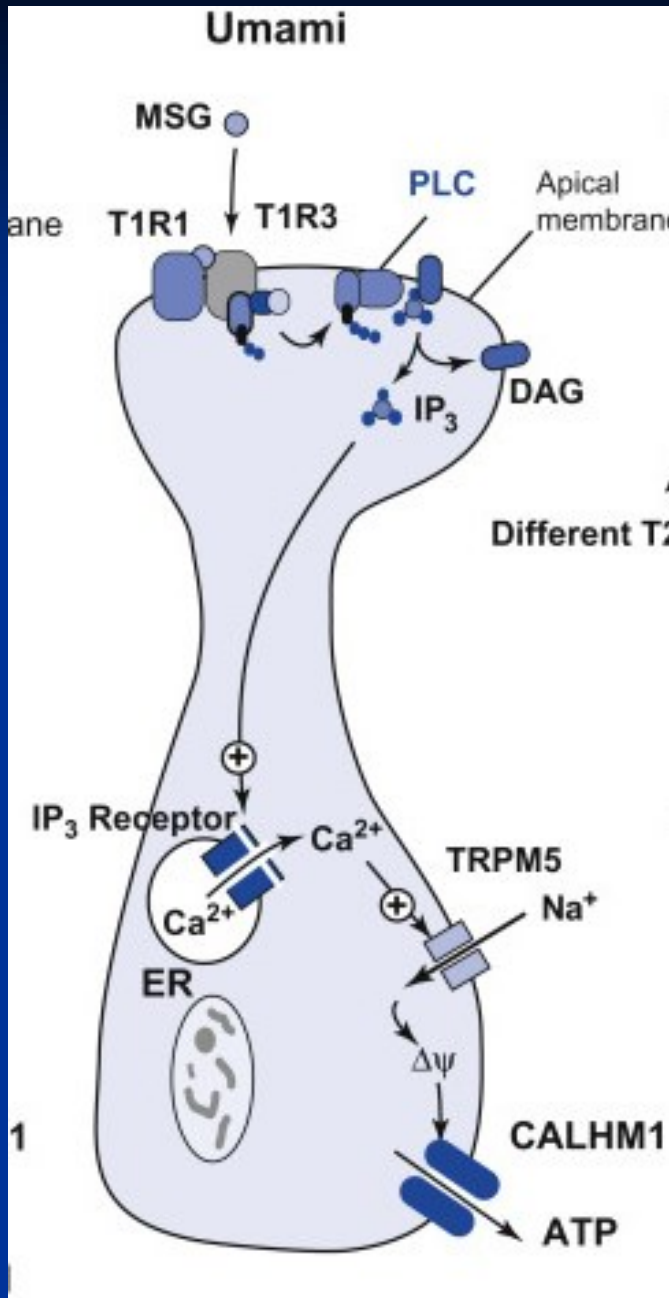
Trasduzione del gusto umami

2 meccanismi:

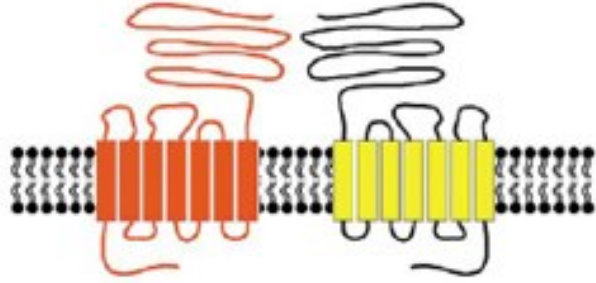
- il primo prevede l'attivazione di un canale cationico aspecifico
- il secondo meccanismo è identico alla trasduzione per il dolce

I recettori sono costituiti da 2 Proteine diverse da quelle del dolce (**T1R1 e T1R3**)

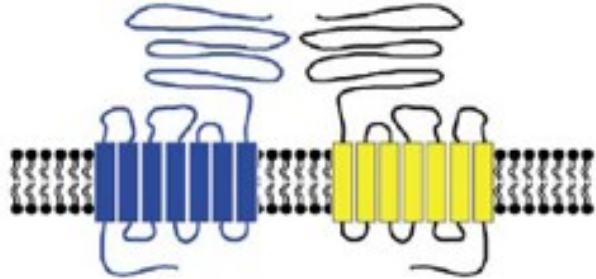
anche in questo caso non confondiamo i sapori in quanto le cellule per l'umami si collegano ad assoni afferenti gustativi differenti rispetto agli altri sapori



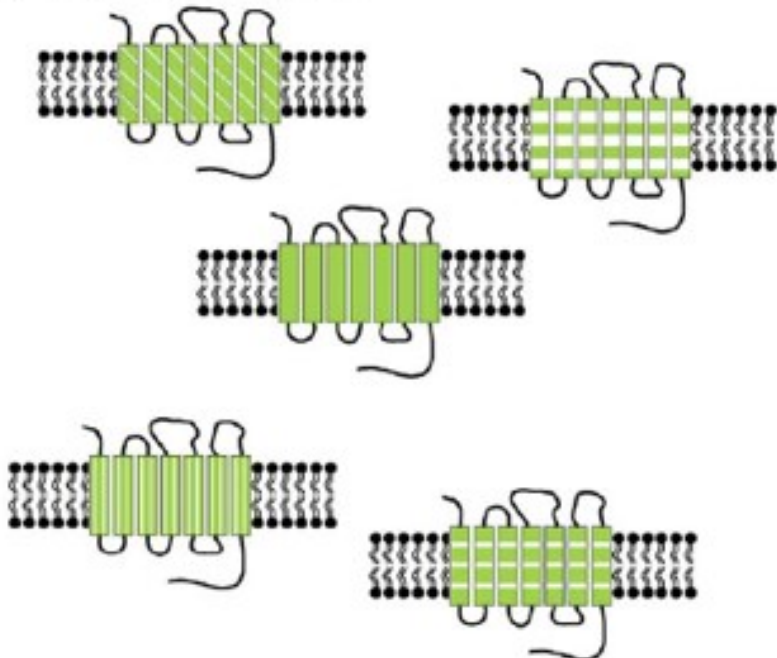
(a) T1 + T1R3 = amino acids



(b) T1R2 + T1R3 = sugars



(c) T2Rs = bitter compounds



Dolce, amaro e umami possono essere considerati classi di composti

T1R: 3 isoforme

I recettori T1R riconoscono classi ampie di composti:

T1R1+T1R3= umami

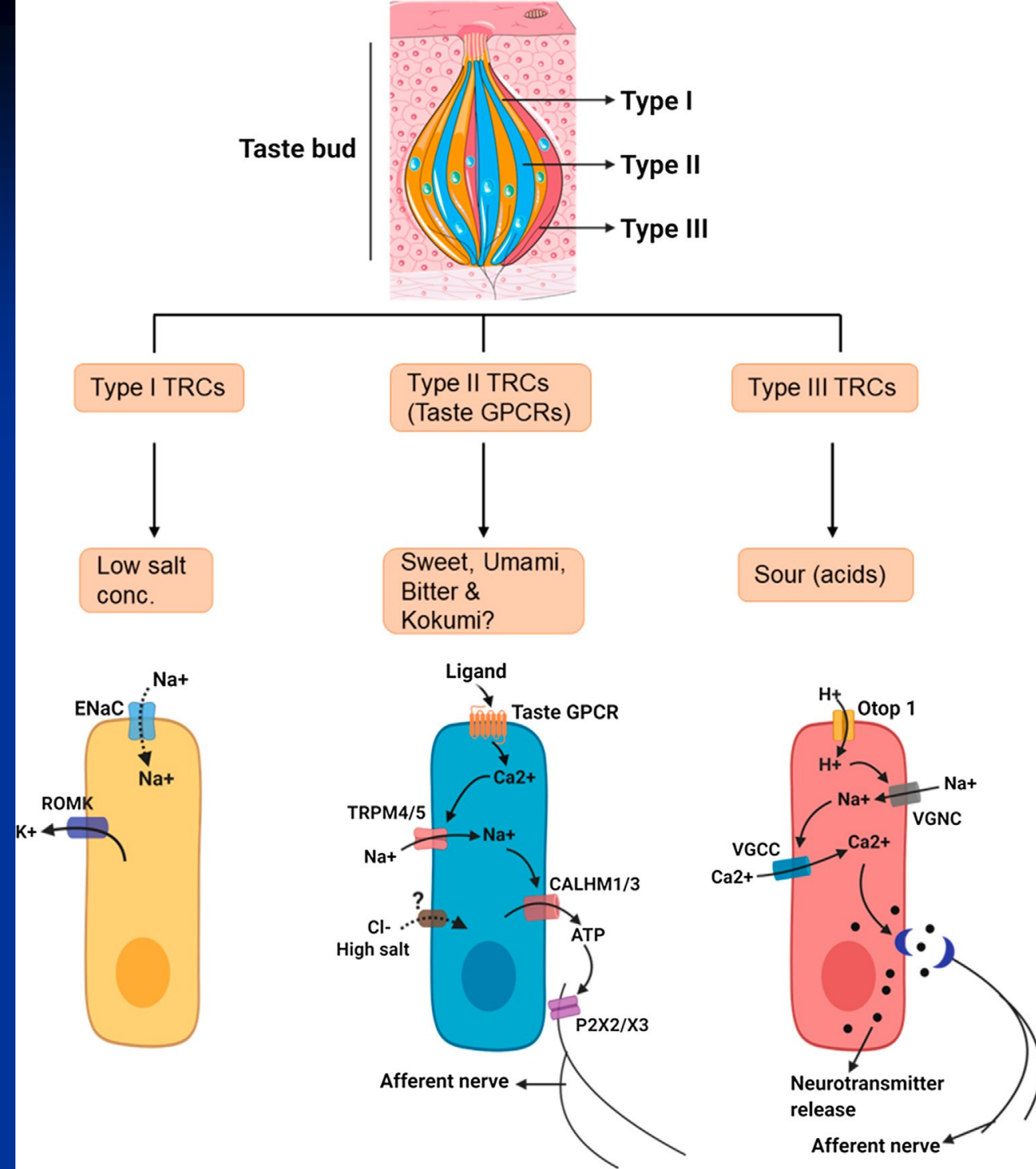
T1R2+T1R3= dolce

T2R: 30 isoforme

Diverse classi di composti **amari**

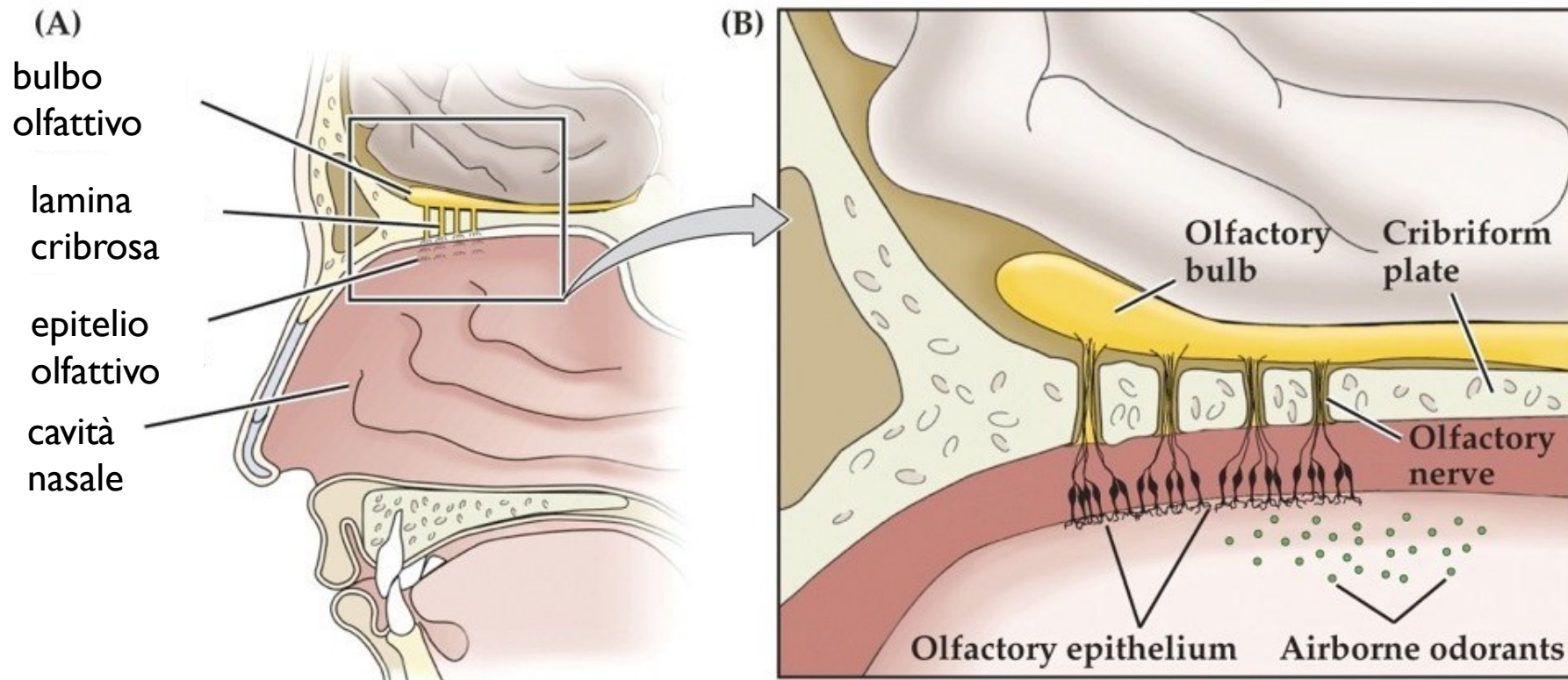
Diverse isoforme di T2R vengono espressi nelle stesse cellule

RIASSUNTO

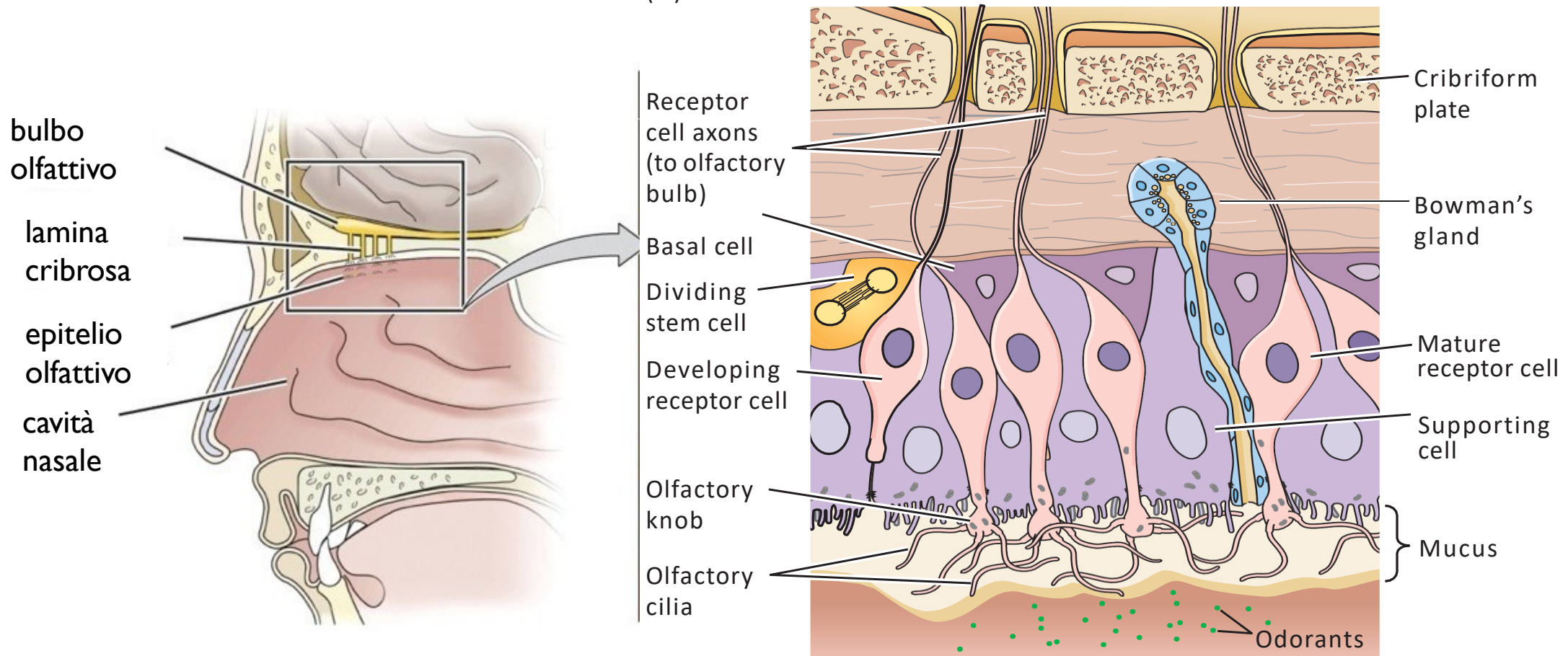


OLFATTO

The image features a solid dark blue background. In the center, the word "OLFATTO" is written in a white, bold, serif font. In the bottom right corner, there are several overlapping, wavy, light blue lines that create a sense of movement or depth.



l'epitelio olfattivo (nell'uomo grande circa 10cm²) riveste la regione apicale della mucosa nasale. E' preceduto da **turbinati** che aumentano la superficie e massimizzano il tempo di contatto con l'aria



3 tipi di cellule: recettrici, di supporto e cellule basali

Recettrici: percepiscono la molecola odorante e trasducono il segnale

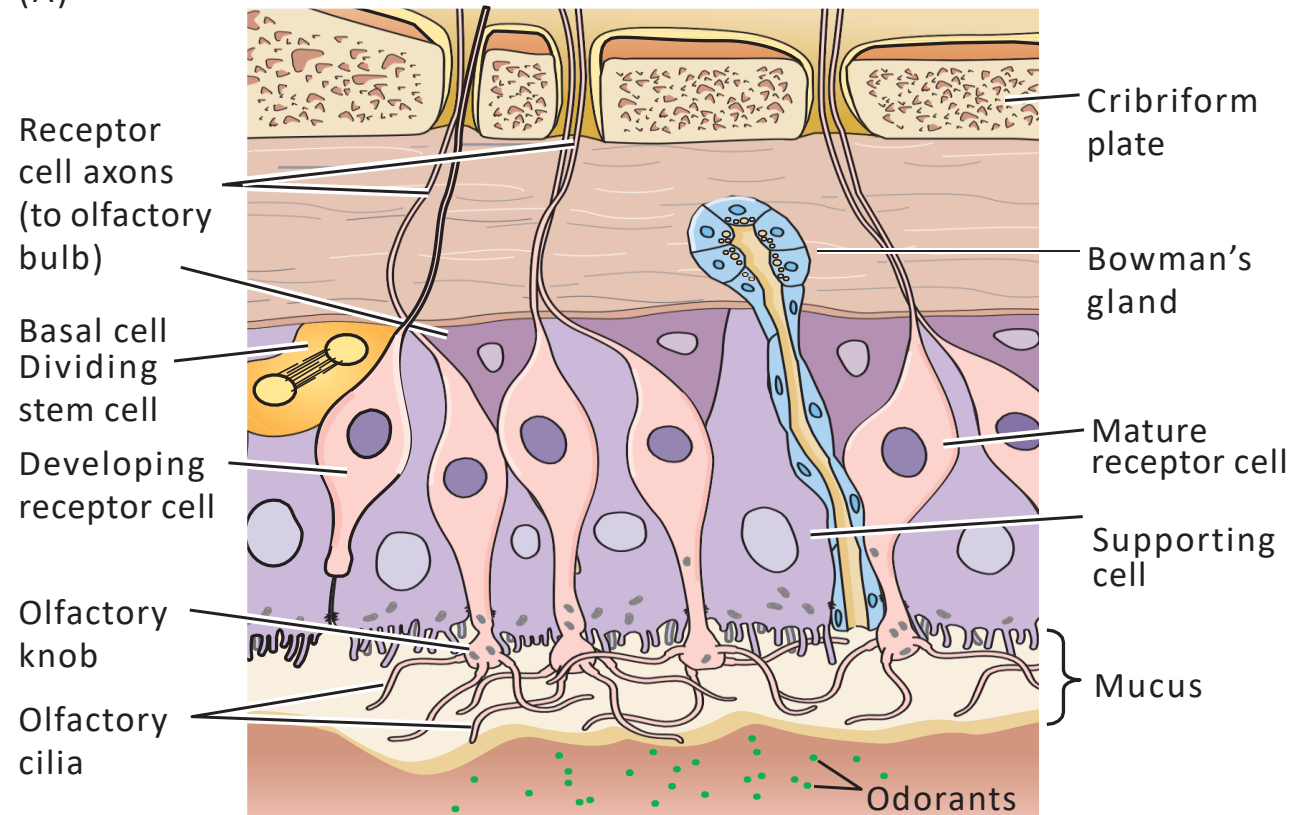
Supporto: produzione del muco per disciogliere le sostanze odorose prima che raggiungano i recettori. Lo strato mucoso (ricco di anticorpi) viene rimpiazzato circa ogni 10 minuti

Basali: per generare nuovi recettori olfattivi. Si rigenerano ogni 4-8 settimane

Dalla parte superiore delle cellule recettrici partono alcuni assoni non mielinizzati che attraversano la lamina cribrosa fino al **bulbo olfattivo**

l'insieme degli assoni olfattivi costituisce il **nervo olfattivo** (nervo cranico I)

(A)

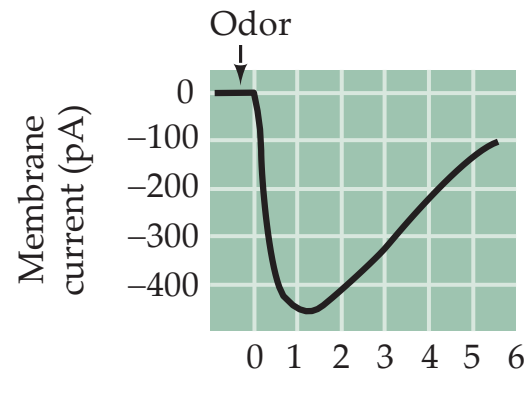
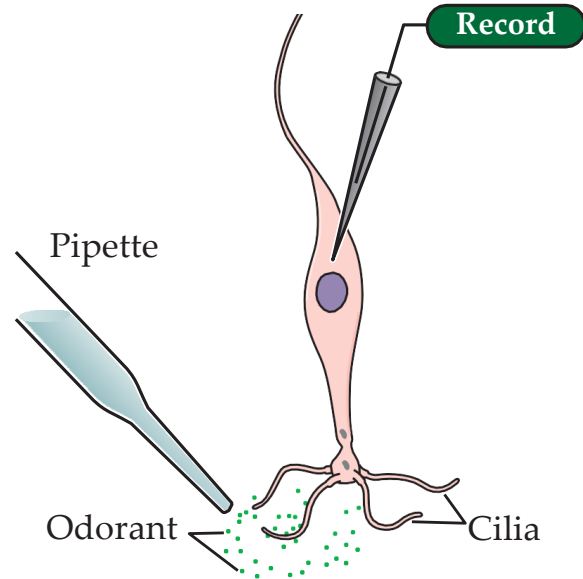


i recettori olfattivi mostrano un dendrite che termina a livello dell'epitelio dove dipartono numerose ciglia

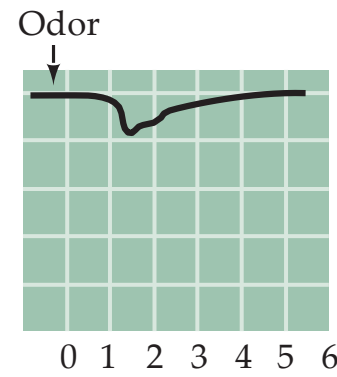
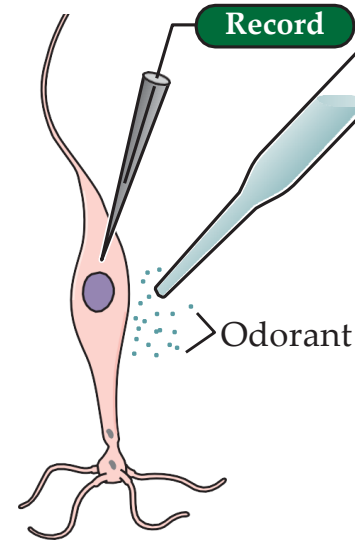
le sostanze odorose disciolte nel muco si legano alle ciglia

(B)

Stimulation of olfactory cilia



Stimulation of olfactory soma

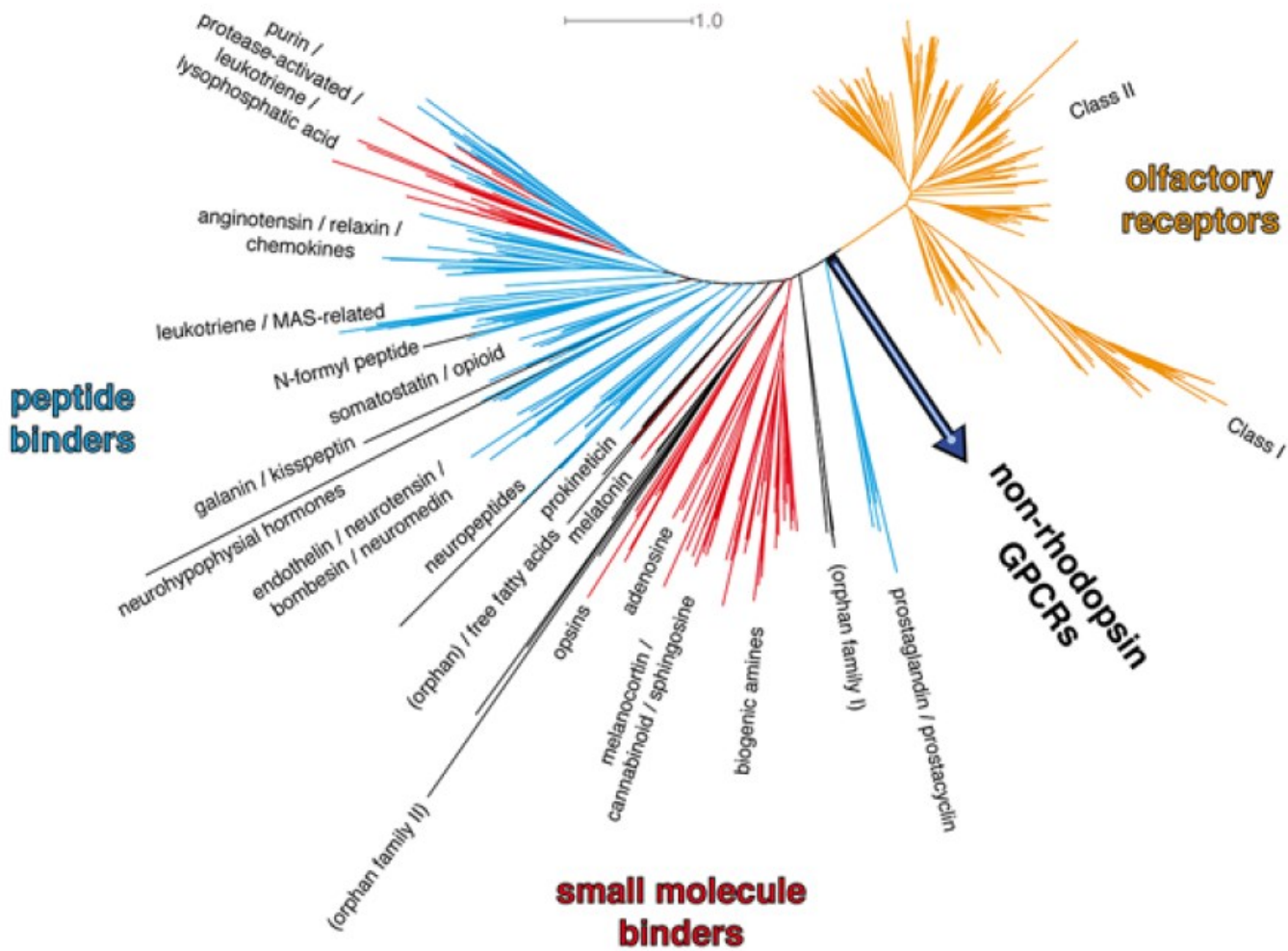


Le cellule recettrici del sistema olfattivo sono veri neuroni (5-50 milioni)

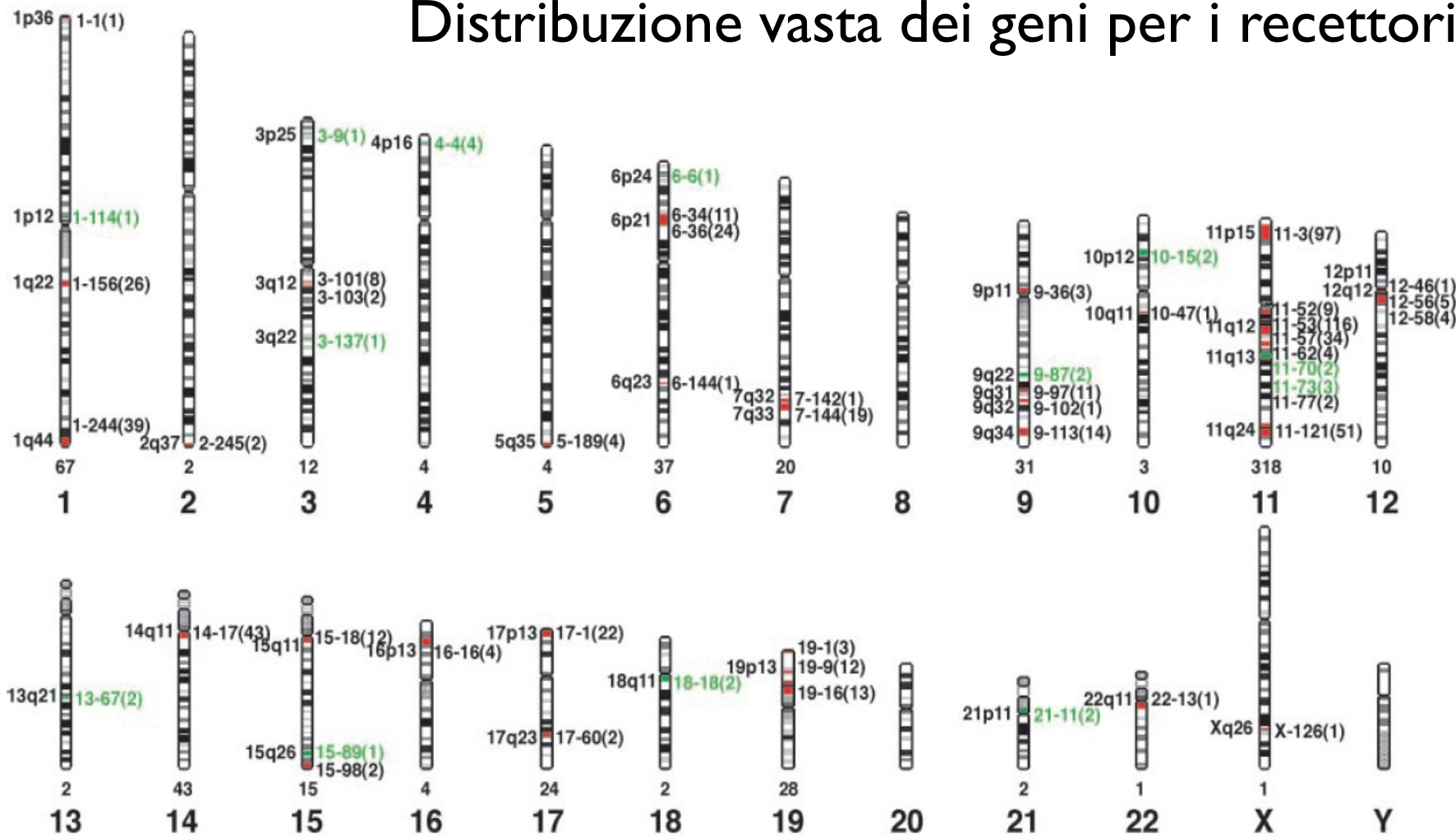
la la trasduzione avviene nelle cilia e depolarizza la cellula

mentre la corrente registrata è molto ridotta se le molecole sono rilasciate a livello del corpo cellulare

I recettori olfattivi sono GPCR di classe A accoppiati

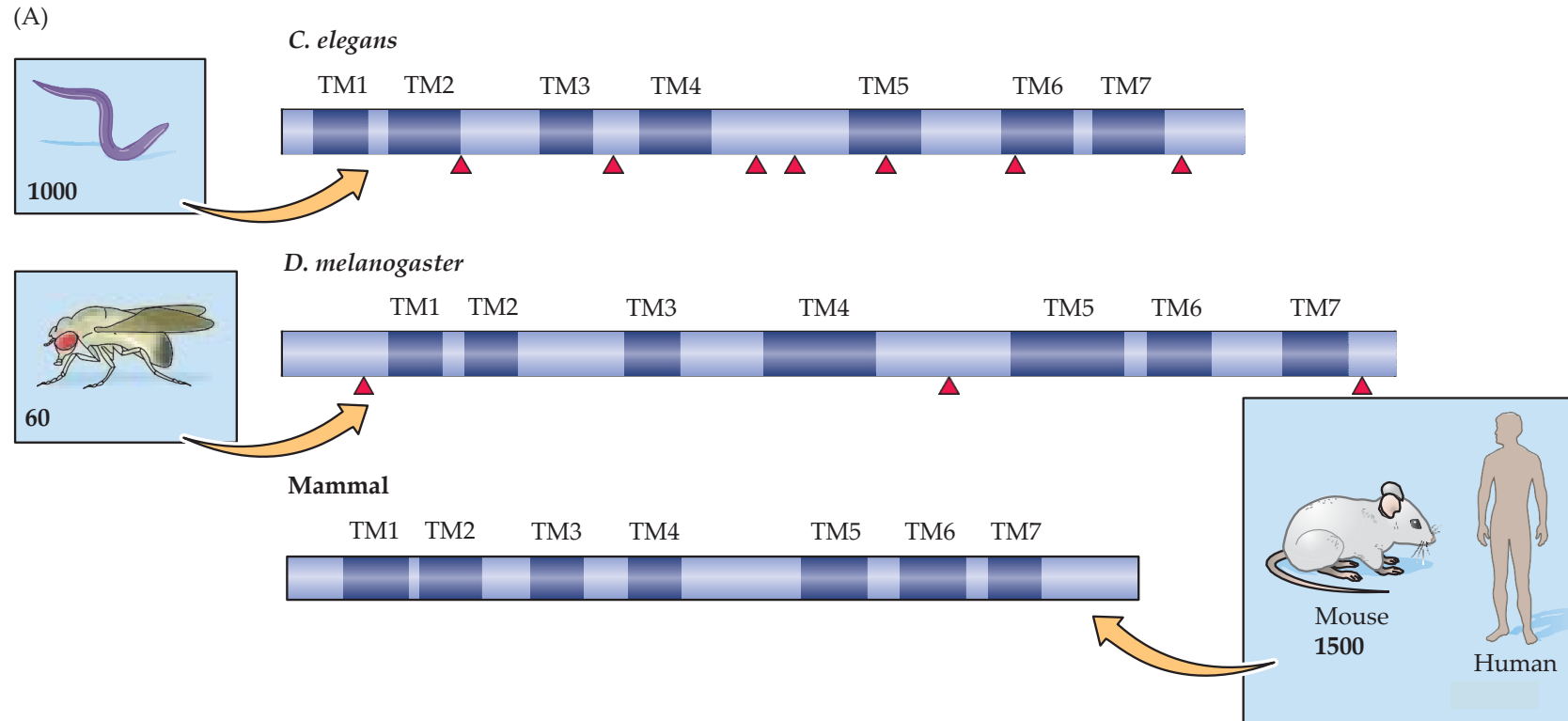


Distribuzione vasta dei geni per i recettori nel nostro genoma



I geni per i recettori olfattori rappresentano circa il 3% di tutto il genoma umano

si trovano distribuiti in 51 loci di 21 cromosomi ad eccezione dei cromosomi 8, 20 e Y

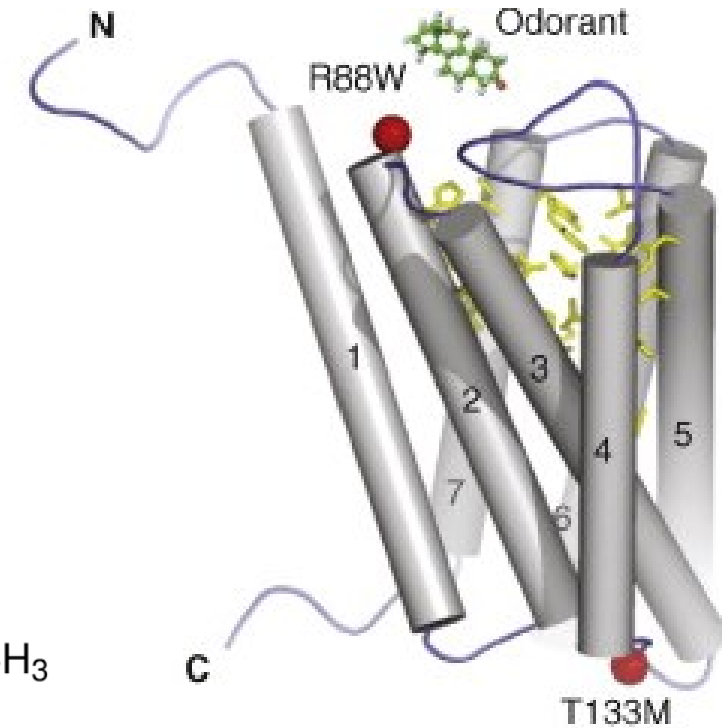
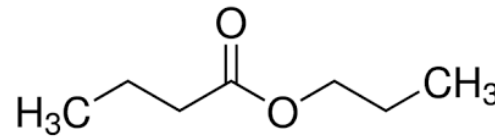
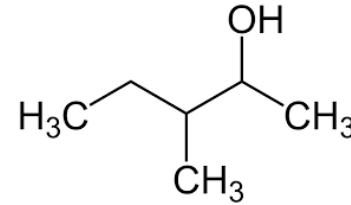
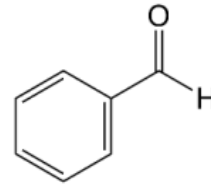


Numero dei geni che codificano per le proteine recettrici in *C. elegans*, *Drosophila*, topo e uomo.

Nell'uomo ci sono circa 1000 geni per i recettori olfattori di cui solo 350 codificano per le relative proteine

I recettori olfattivi sono GPCR di classe A accoppiati a G_{olf}

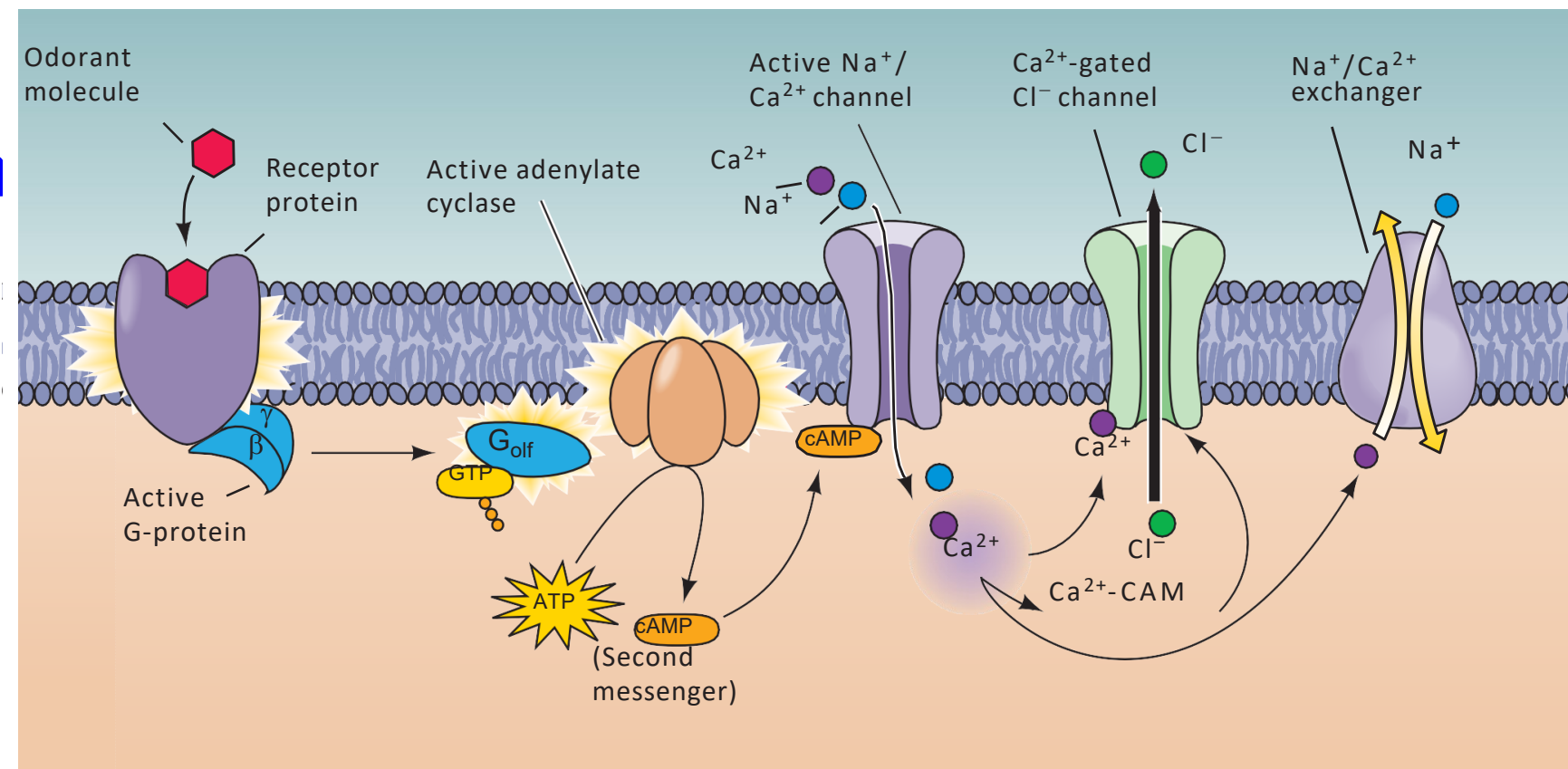
Odorant number	Odorant name	Perceptual characteristics
1	Acetyl Pyridine	Nuts
2	Iso-amyl acetate	Fruits
3	Benzaldehyde	Nuts
4	Butanoic acid or Butyric acid	Cheese
5	2,3 Dimethyl pyrazine	Nuts
6	Ethyl Butyrate	Fruits
7	Ethyl Propionate	Fruits
8	Heptanal	Citrus, Fatty
9	Heptanol	Fatty
10	Hexenal	Fatty
11	Hexanoic acid or Caproic acid	Sweat
12	Hexanol	Fatty
13	Methyl Salicylate	Minty
14	Octanol	Fatty
15	Pentanoic acid or Valeric acid	Sweat
16	Propyl Butyrate	Fruits
17	Iso-Valeric acid	Sweat



Every single olfactory receptor cell expresses one and only one of the odorant receptor genes.

Each cell does not react only to one odorous substance, but to several related molecules –albeit with varying intensity.

Trasduzione olfattiva



Sia la G_{olf} specifica che l'adenilato ciclasi sono presenti solo a livello delle cilia.

La depolarizzazione viene amplificata dall'azione del Ca che va ad attivare una corrente di Cl

Per l'olfatto esiste una forma di **adattamento** alla stimolazione.

I recettori olfattivi si adattano nella misura di circa il 50% nel corso del primo secondo dall'inizio della stimolazione. Successivamente, essi continuano ad adattarsi ma più lentamente

La maggior parte degli odori è composta da più molecole odoranti

Ciascuna molecola odorante attiva diversi recettori odoranti.

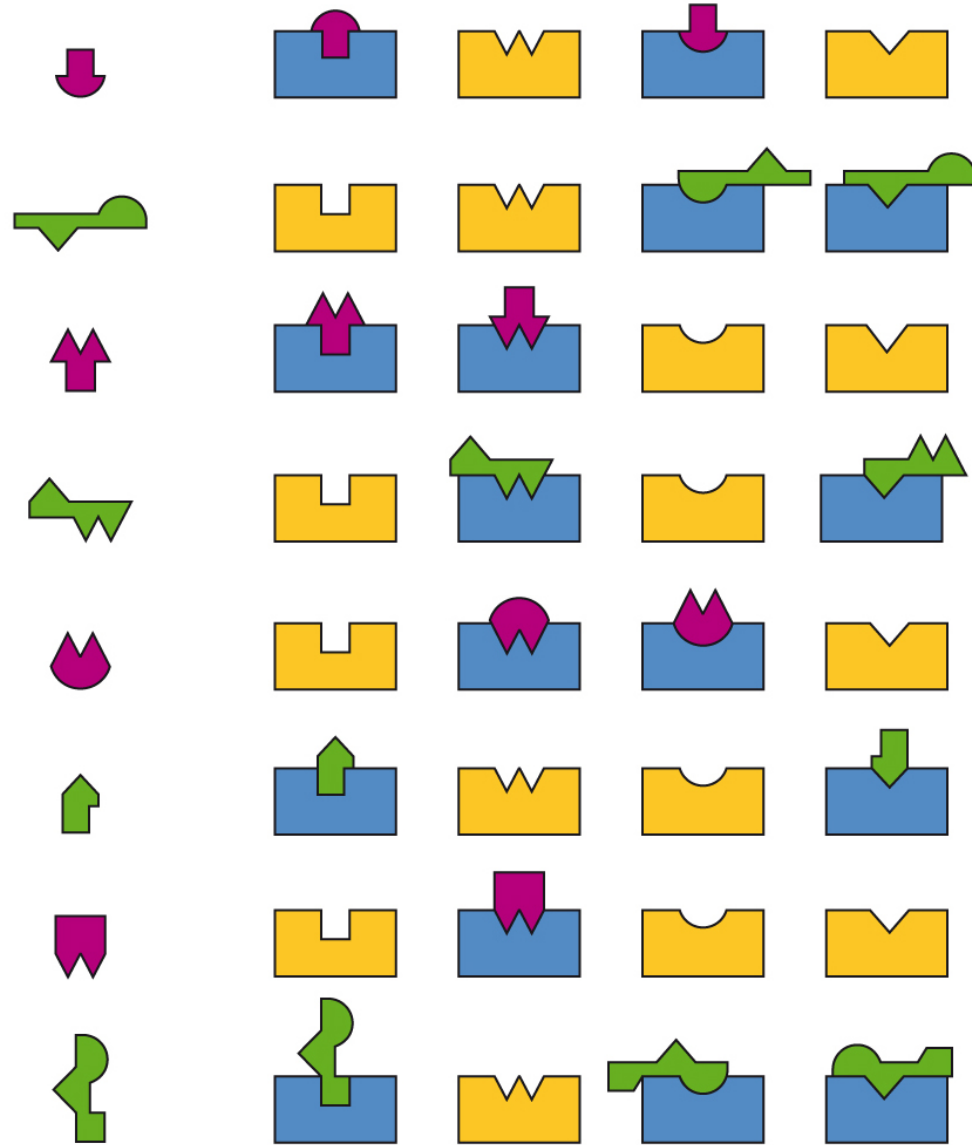
Questo porta a un codice combinatorio che forma un "motivo odorante" - un po' come i colori in una trapunta patchwork o in un mosaico.

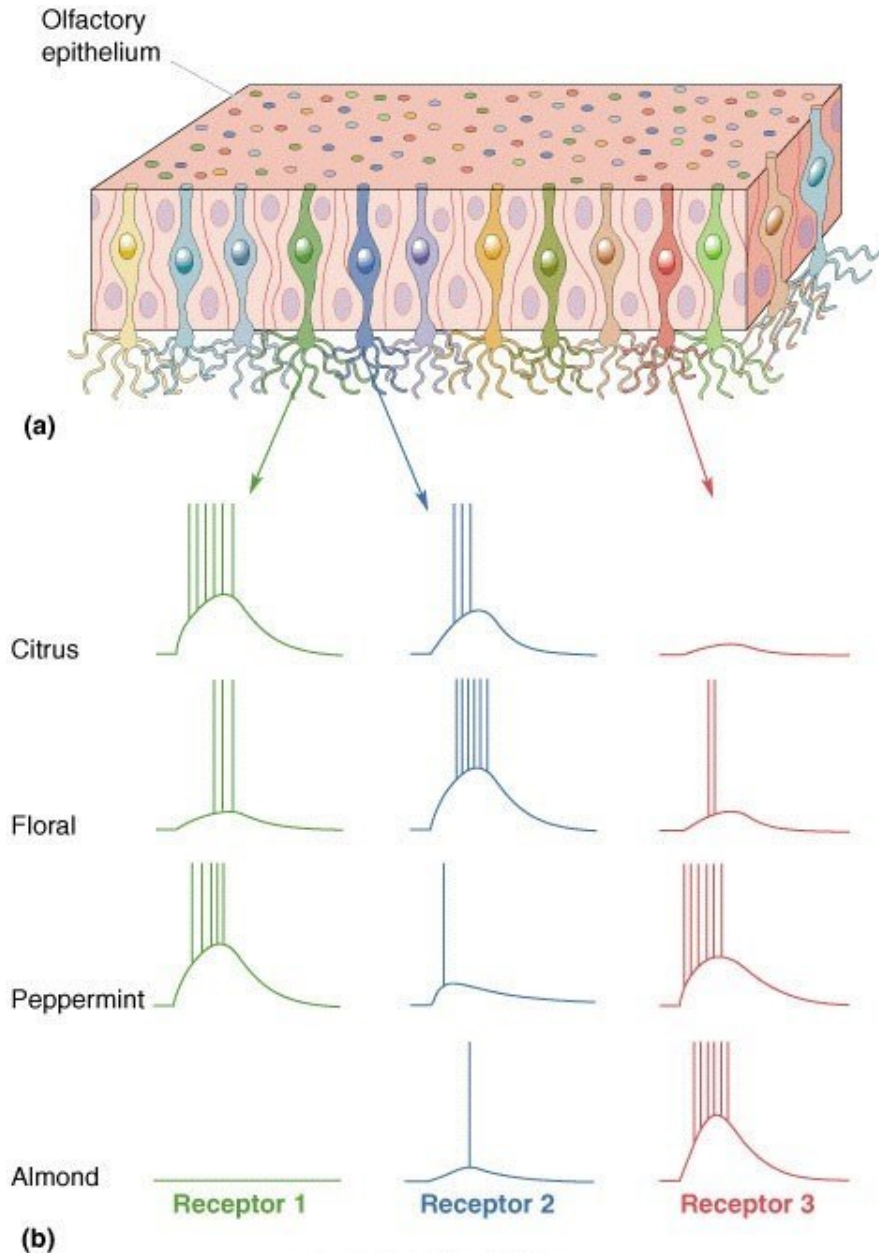
Questa è la base per la nostra capacità di riconoscere e formare ricordi di circa **10.000 odori diversi.**

Codice odori

molecole odoranti

recettori

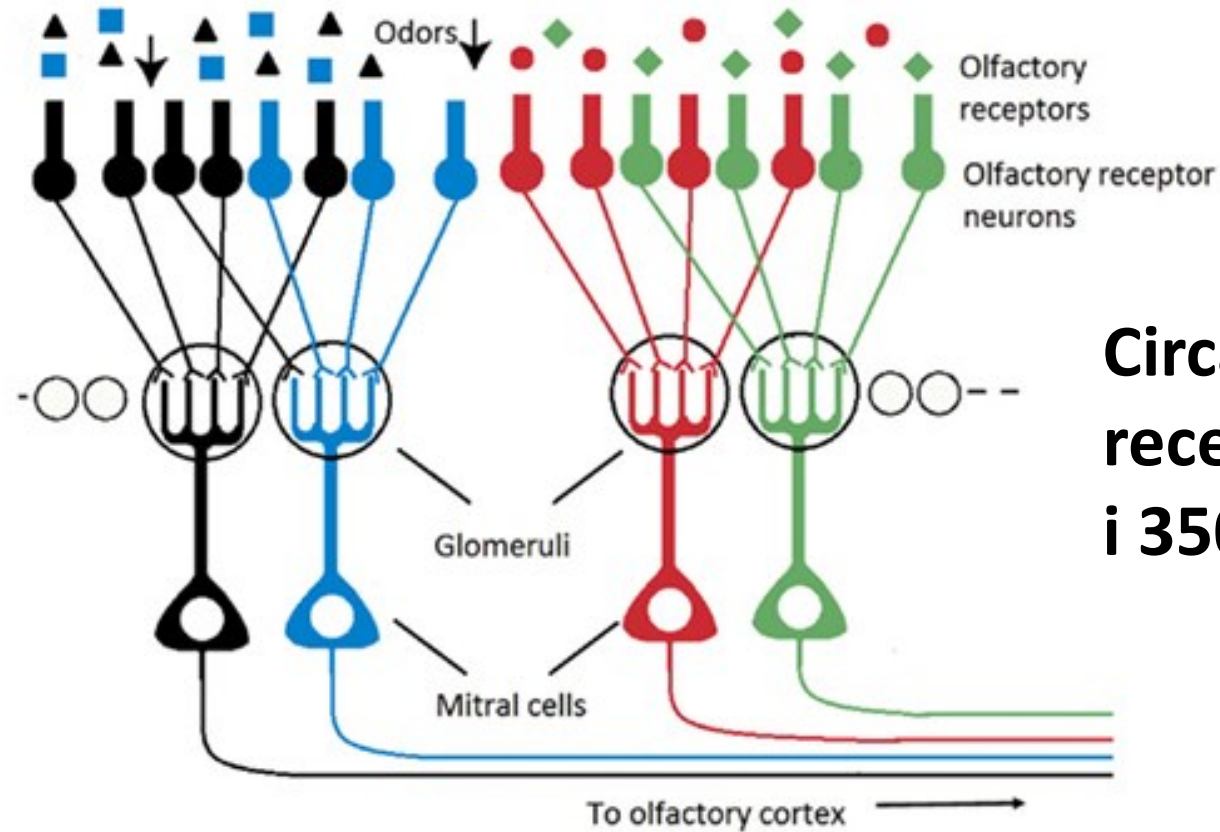




ciascuna cellula risponde a diversi odori ma in modo differente tra loro. l'attività delle cellule attive è essenziale per la discriminazione dei diversi odori...

...codice di popolazione

Organizzazione della via olfattiva



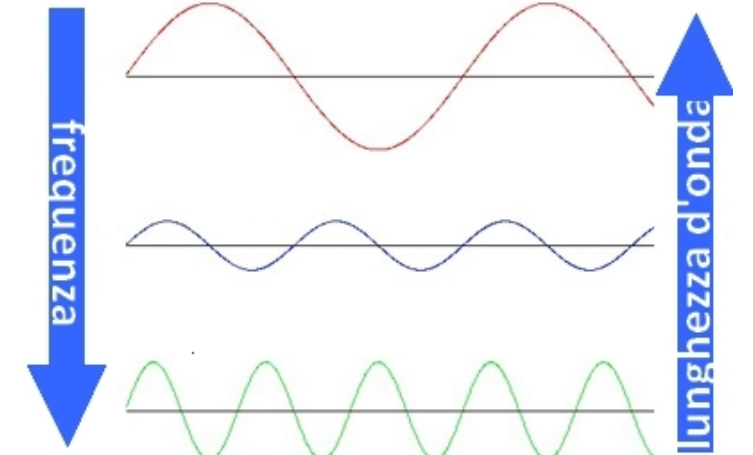
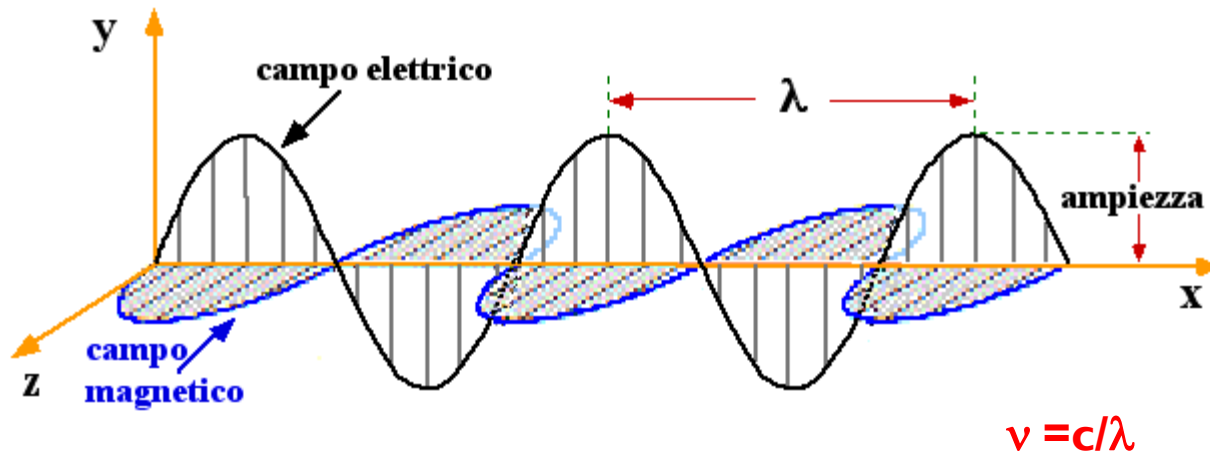
Circa 5-50 milioni di cellule recettrici si suddividono i 350 recettori GPCR

Le cellule recettrici che esprimono lo stesso Recettore convergono su singoli neuropili sferici, chiamati glomeruli, dove vengono realizzate tutte le connessioni sinaptiche tra cellule recettrici e neuroni del secondo ordine (cellule mitraliche).

Trasduzione del segnale nella visione

Luce visibile

La **luce** visibile è una forma di **radiazione elettromagnetica**, come le onde radio, le microonde e i raggi X



$$v = c/\lambda$$

Frequenza (Hz) cicli al secondo

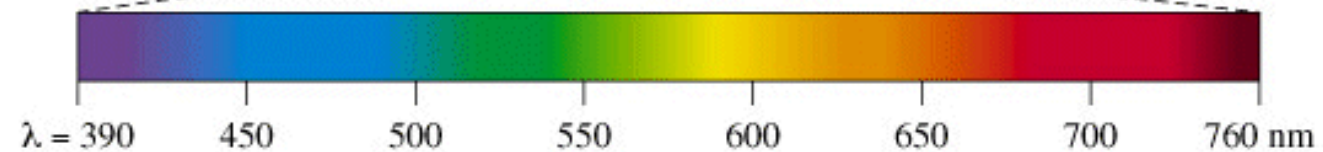


Raggi gamma Raggi X UV Infrarossi Microonde Onde radio

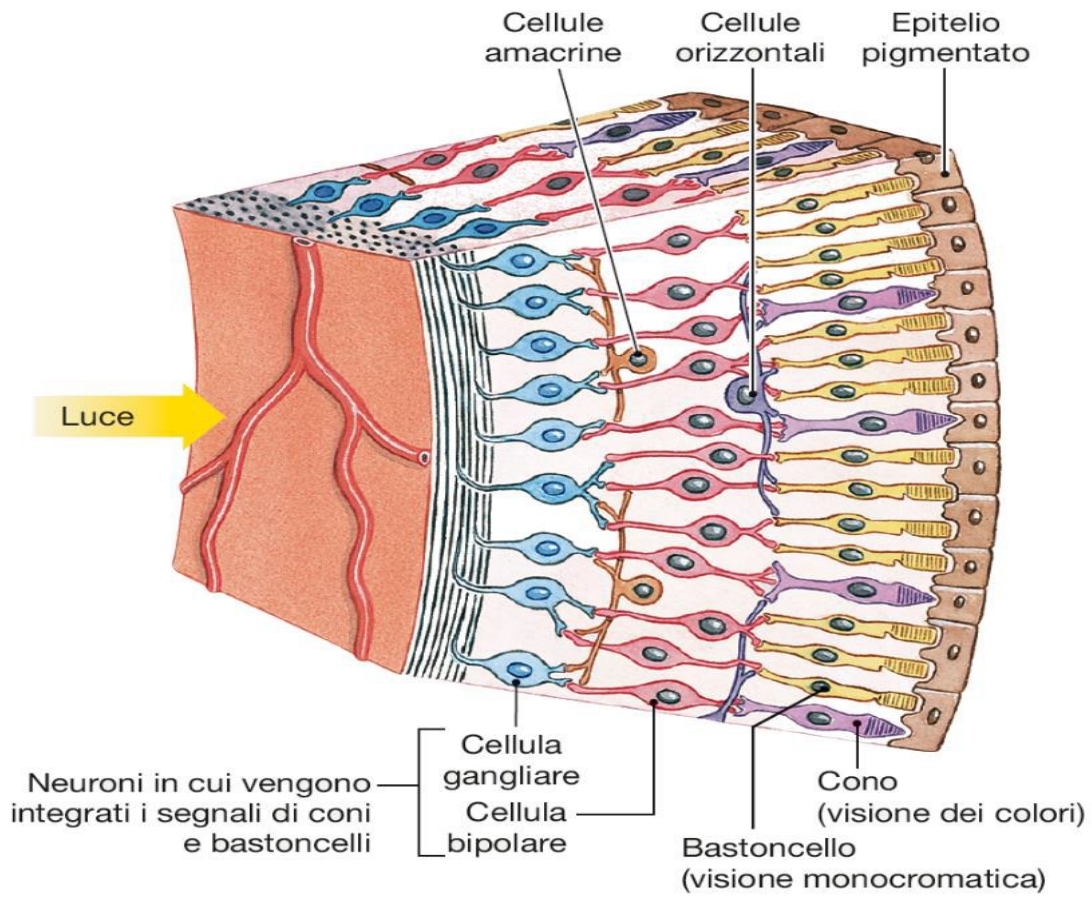
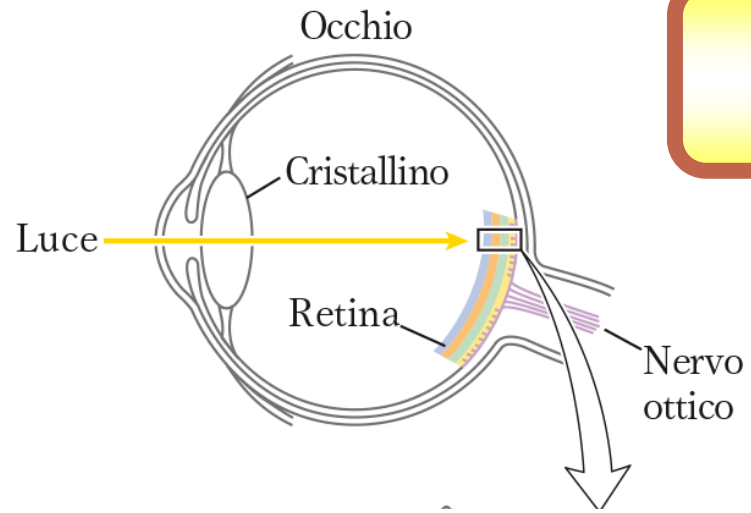


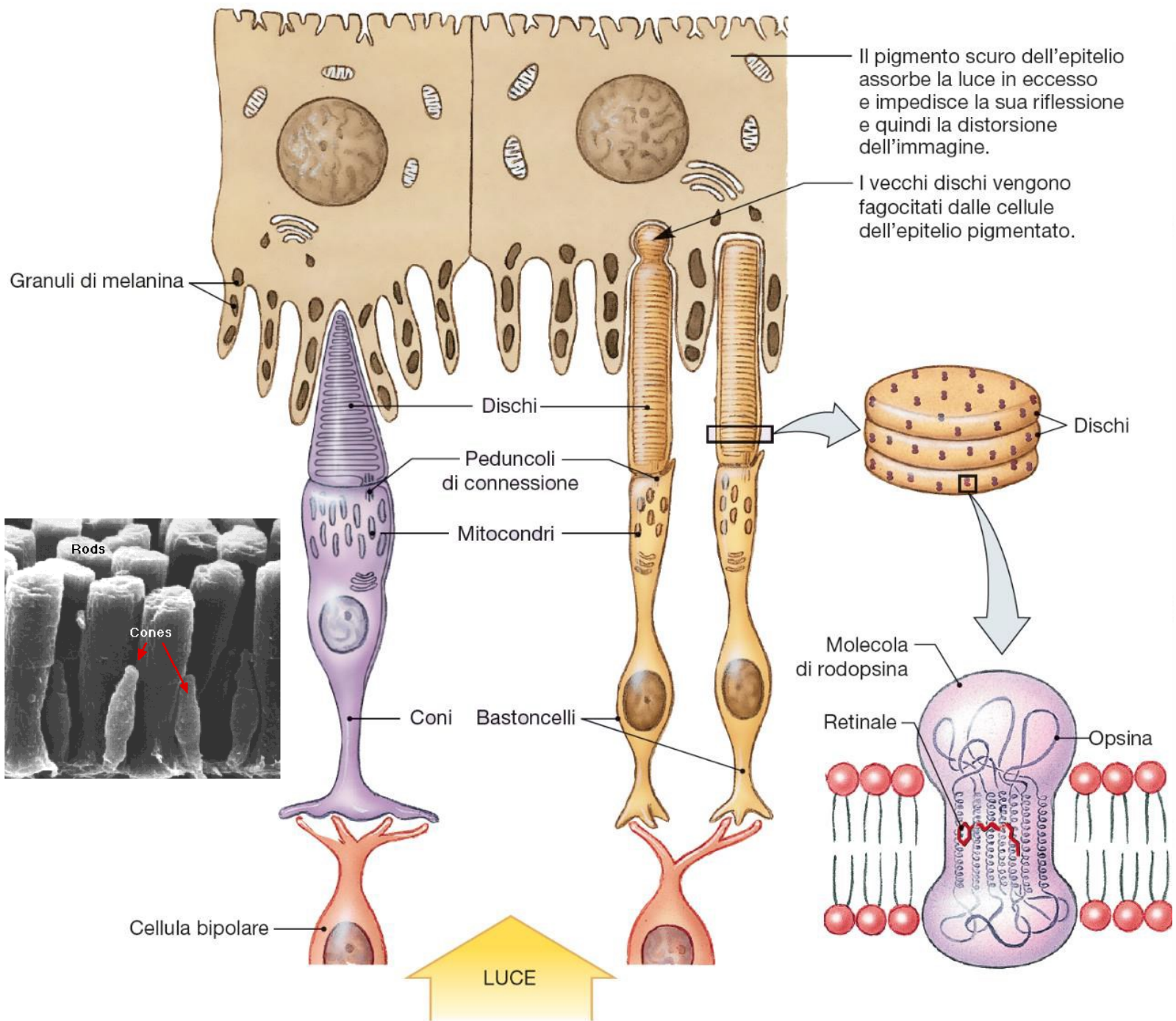
Lunghezza d'onda (m)

Visibile



La vista

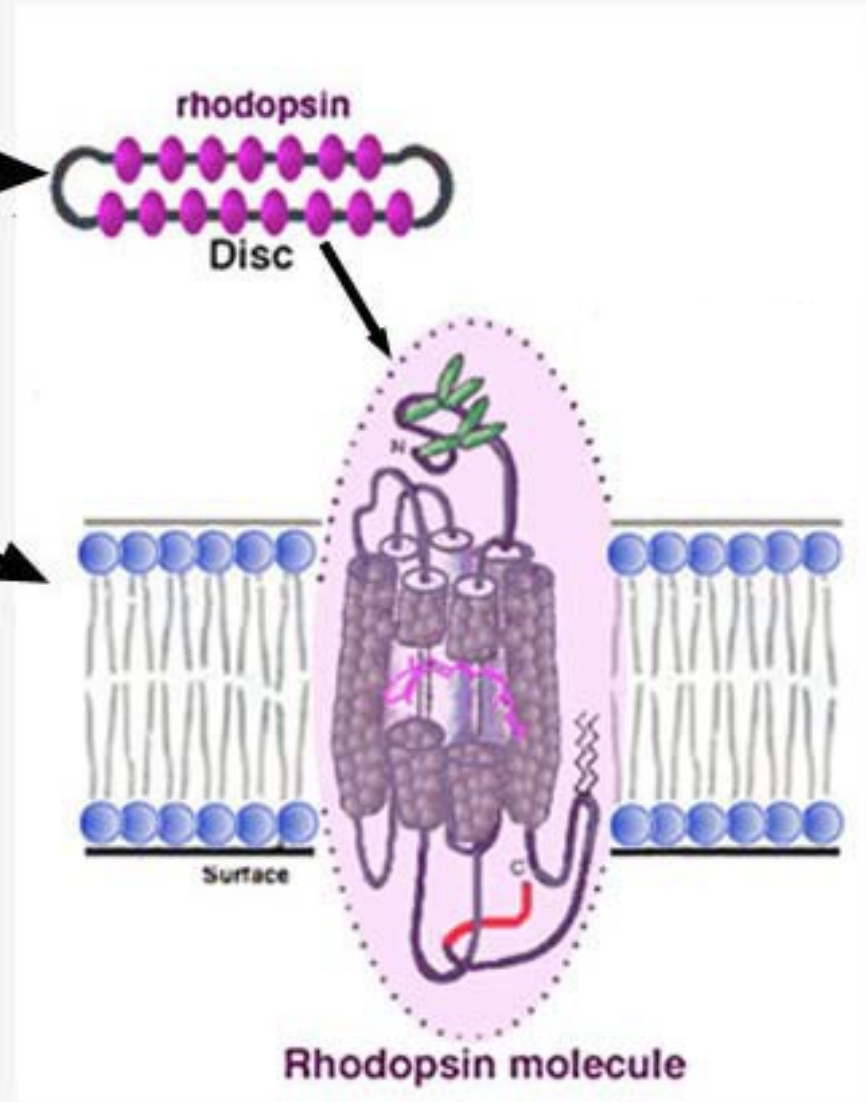




Segmento esterno a forma di <u>bastoncello</u>	Segmento esterno a forma di <u>cono</u>
120.000.000 per occhio, distribuite in tutta la retina, e quindi usati per la visione periferica	6.400.000 per occhio, localizzati soprattutto nella fovea, e quindi usati per la visione nel centro della retina
Buona sensibilità	Povera sensibilità
solo 1 tipo → visione monocromatica	3 tipi (R, G e B) → visione a colori
Molti bastoncelli si connettono ad una cellula bipolare → scarsa acuità = povera risoluzione	Ogni cono è connesso ad una sola cellula bipolare → buona acuità = buona risoluzione

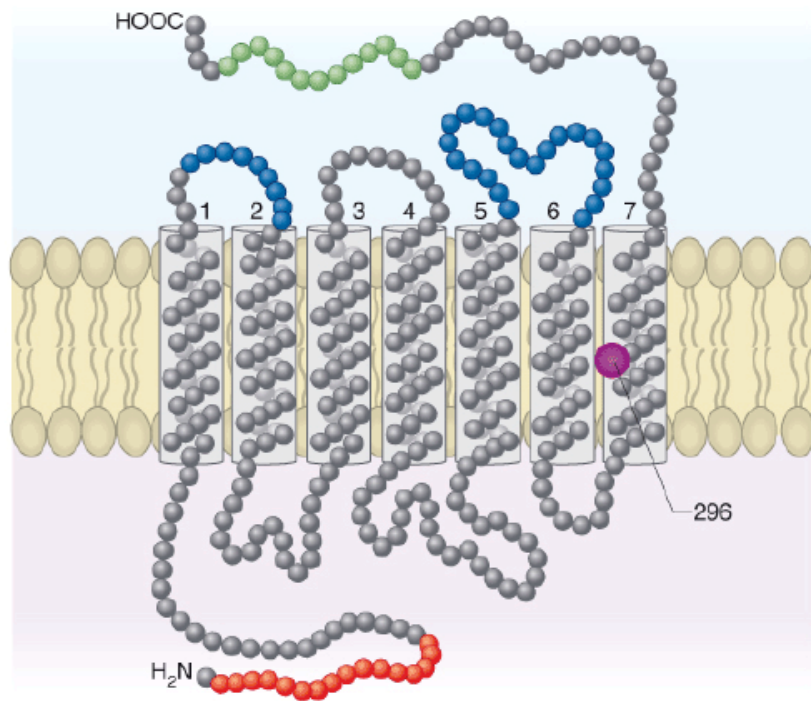


outer segment



Fotopigmento: la rodopsina dei bastoncelli

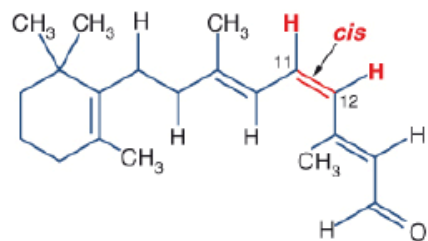
A



La rodopsina è una proteina comprendente una componente proteica, l'**opsina** (costituita da un'unica catena polipeptidica a 7 domini transmembrana) e un gruppo prostetico ad essa coniugato detto **retinale**.

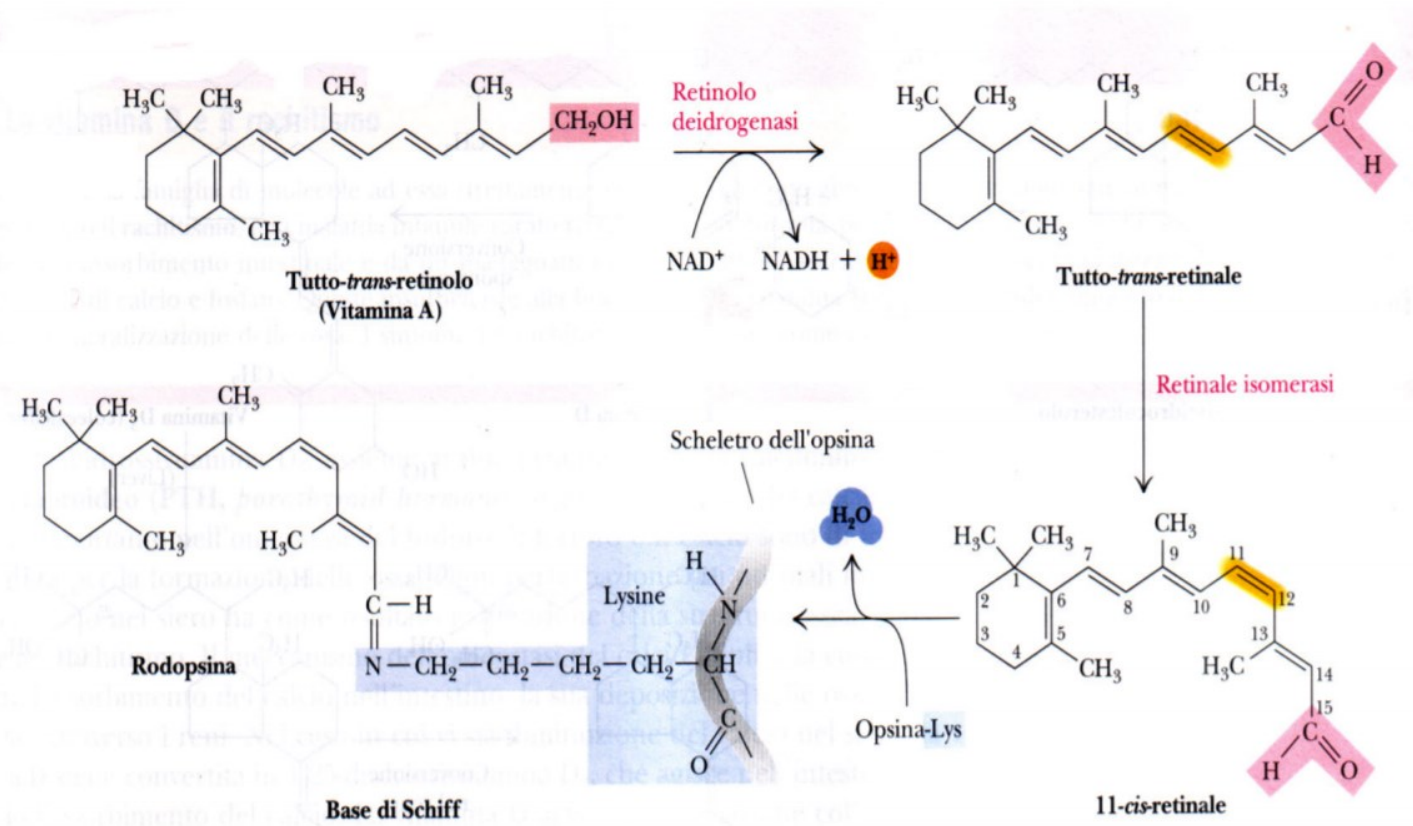
Il retinale è legato covalentemente all'amminoacido 296 (rappresentato da una lisina)

B

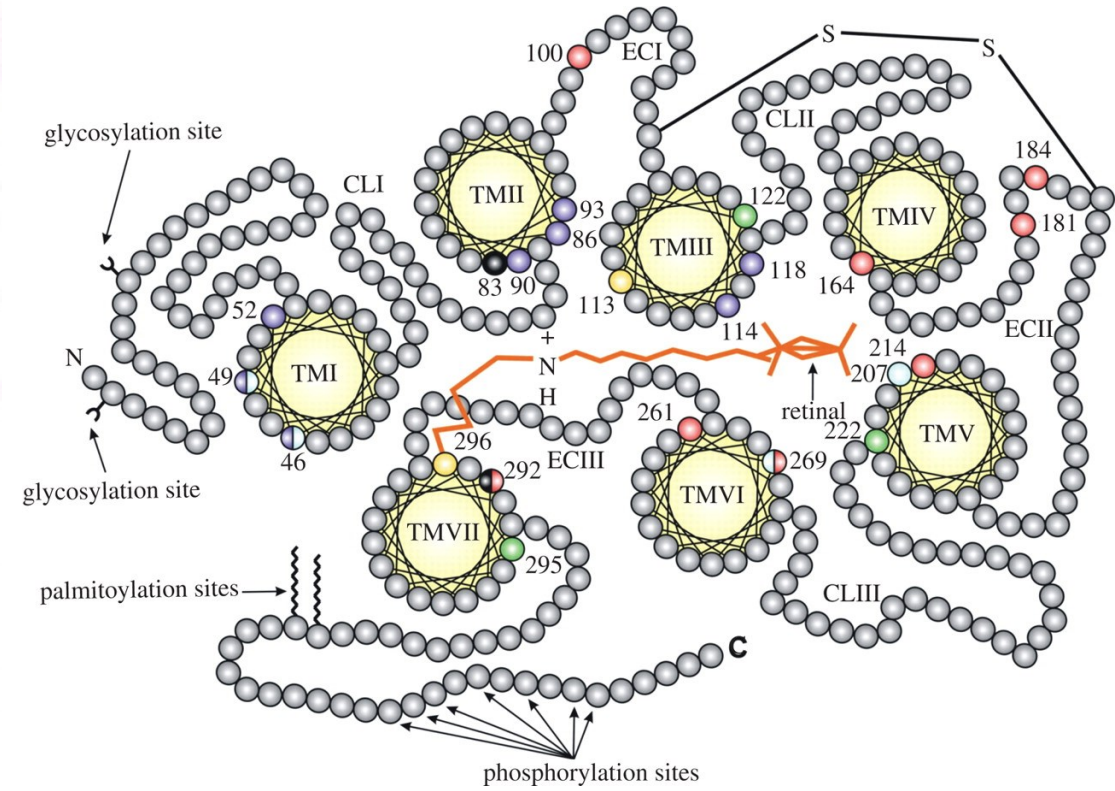


retinale

Sintesi delle rodopsina a partire dalla vitamina A

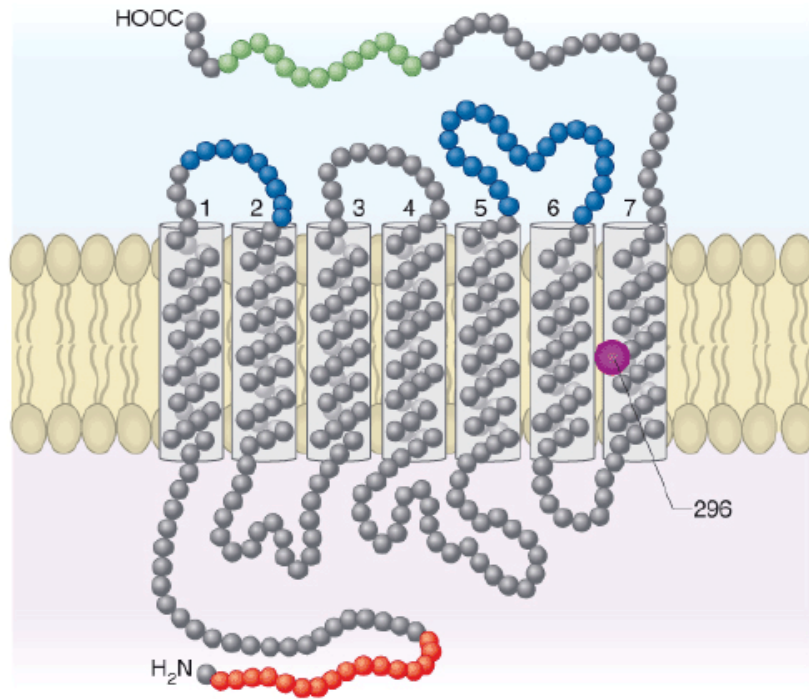


Lisina 296



Fotopigmento: la rodopsina dei bastoncelli

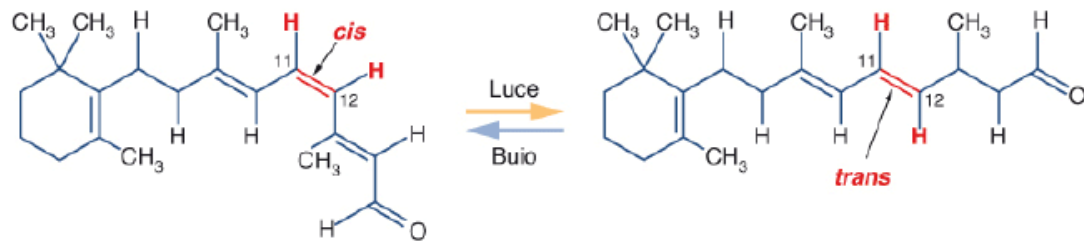
A



Al buio il retinale si trova nella forma di isomero 11-cis. Quando è colpito da un fotone si isomerizza a 11-trans retinale.

L'isomerizzazione del retinale provoca una modificazione conformazionale della rodopsina a metarodopsina II.

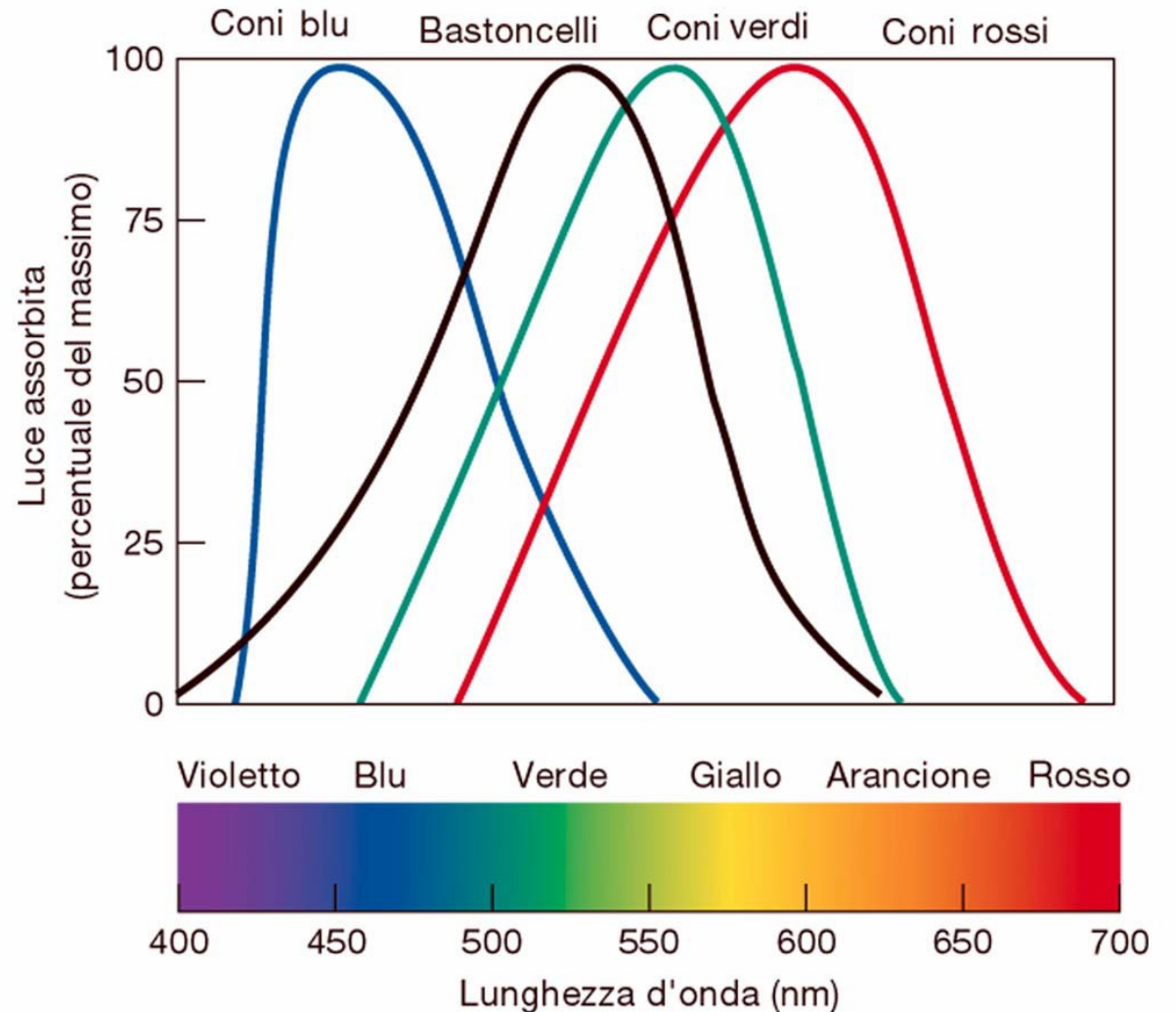
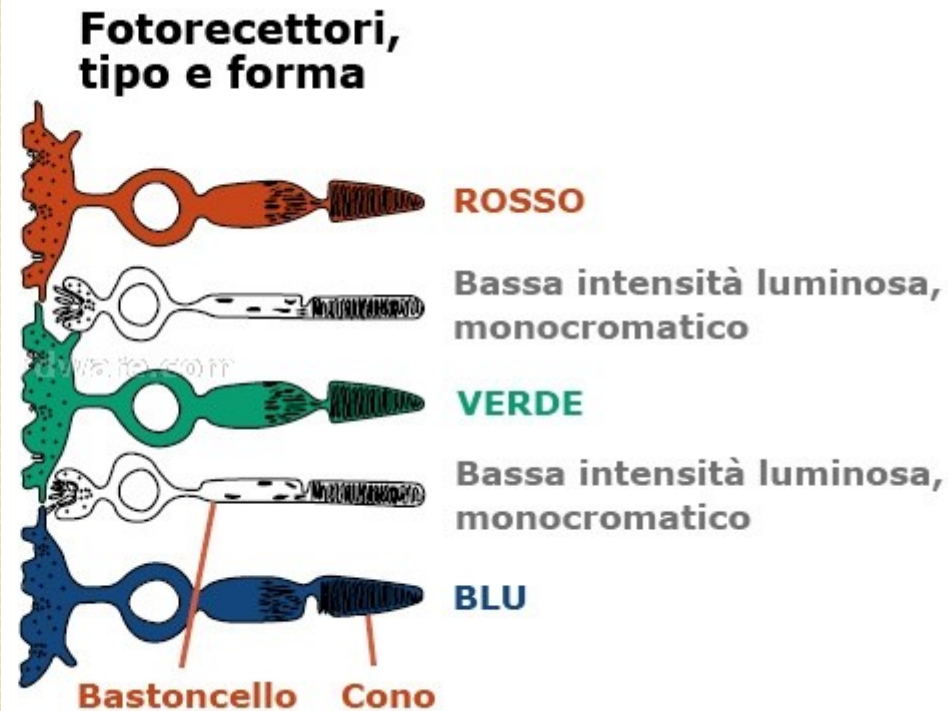
B



retinale

L'assorbimento della luce da parte dei pigmenti visivi

Nei coni ci sono tre tipi di pigmenti visivi, ognuno con un caratteristico spettro di assorbimento della luce



Pigment

	1	2	3	4	5
1. Rhodopsin (B)		93.4	45.4	43.5	42.4
2. Rhodopsin (H)	89.7		46.6	44.7	43.5
3. Blue pigment (H)	58.8	57.5		44.0	42.8
4. Green pigment (H)	57.8	56.6	55.2		95.9
5. Red pigment (H)	57.4	56.2	54.8	97.7	

Proportion of identical nucleotides (amino acids) for pair of opsin genes in humans (%).
B = Bovine
H = Human
Values above the diagonal are at the AA level.

Values above the diagonal are at the AA level.

Values below the diagonal are at the nucleotide level.

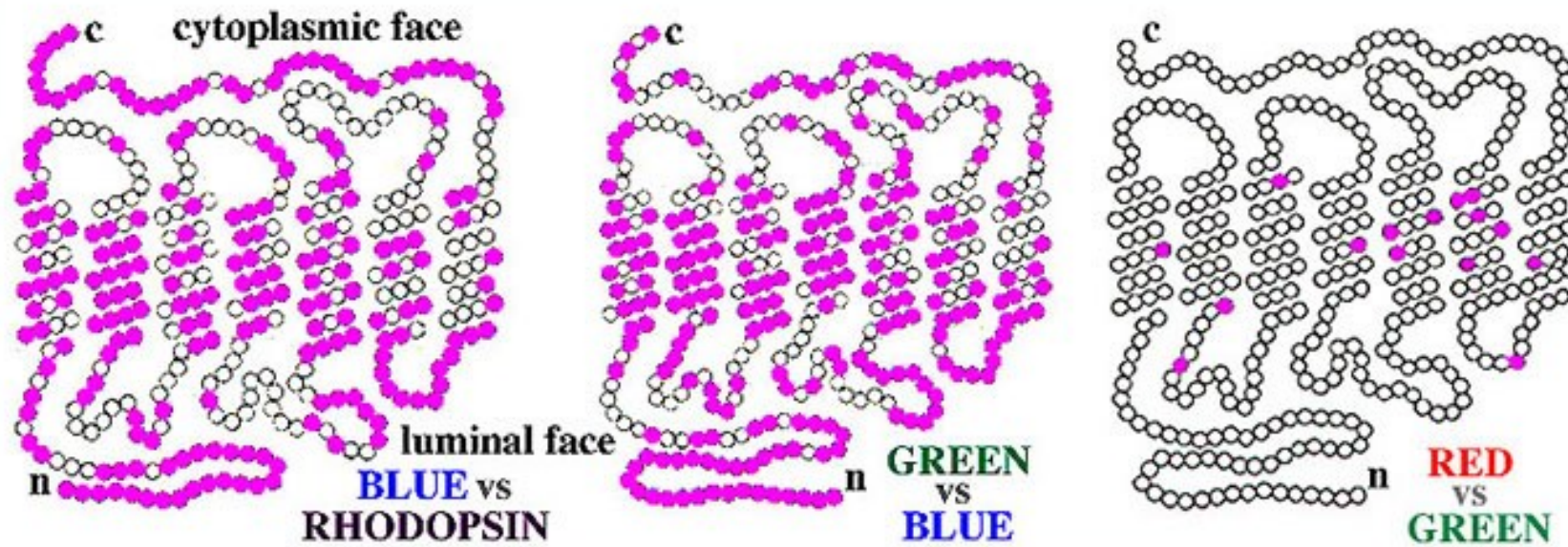
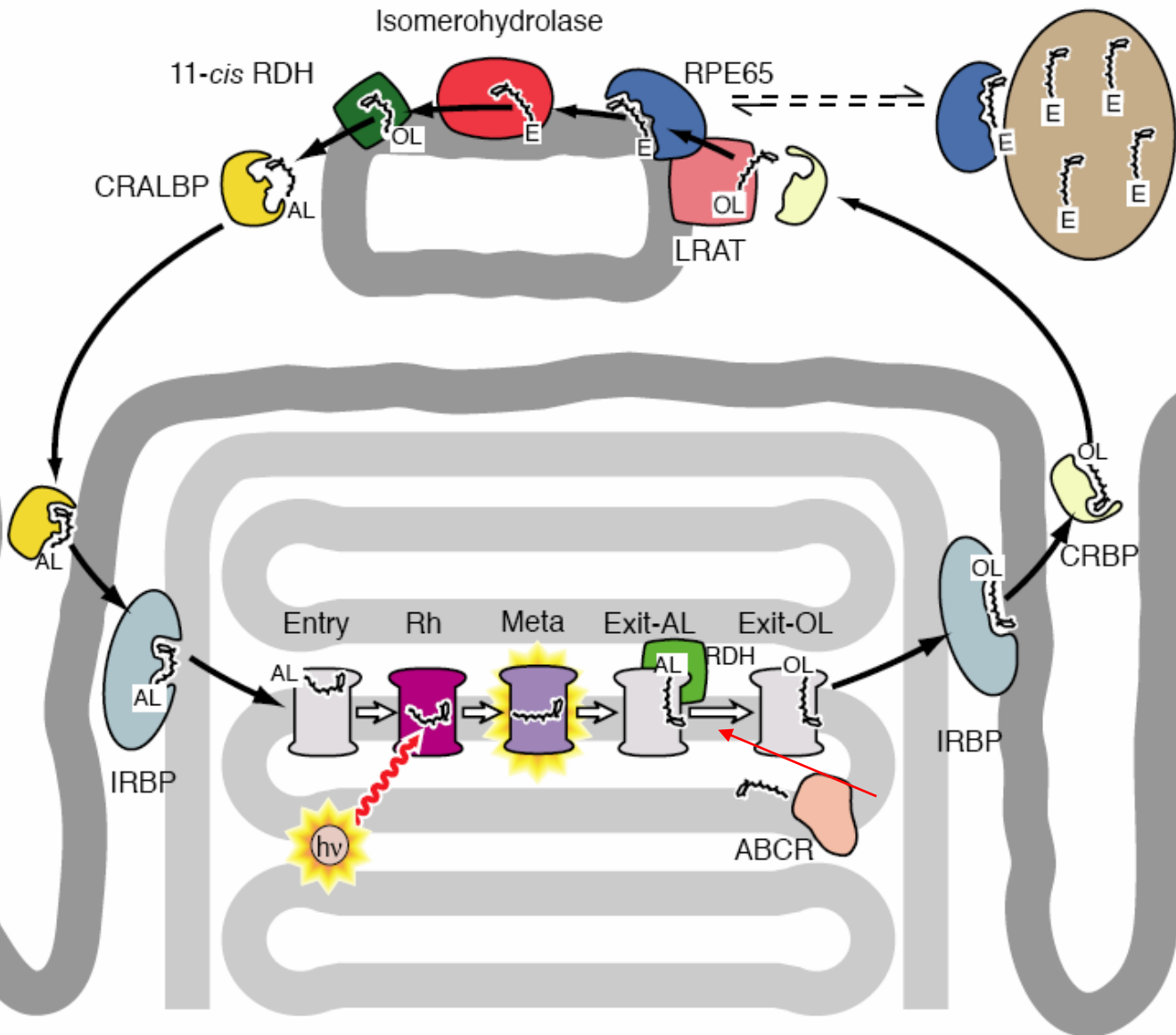


Fig.12. The closely related molecular structure of the cone opsins. The blue-cone opsin compared with rhodopsin. The blue cone opsin compared with the green opsin and the minimal difference between the red and green cone opsins. The pink filled circles represent amino acid substitutions between these molecules. The open circles indicate identical amino acids. Adapted from Nathans et al., 1986.

Ricircolo intracellulare del retinale nella visione

(A)

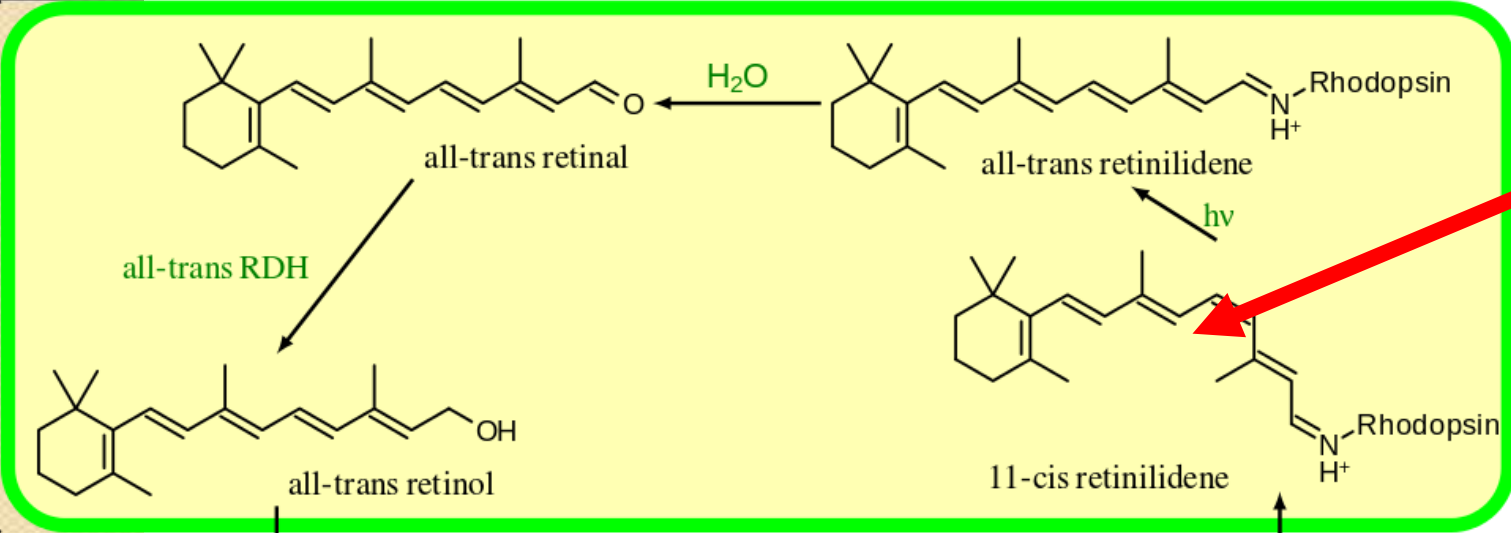
AL= aldeide
OL= alcol
E= estere



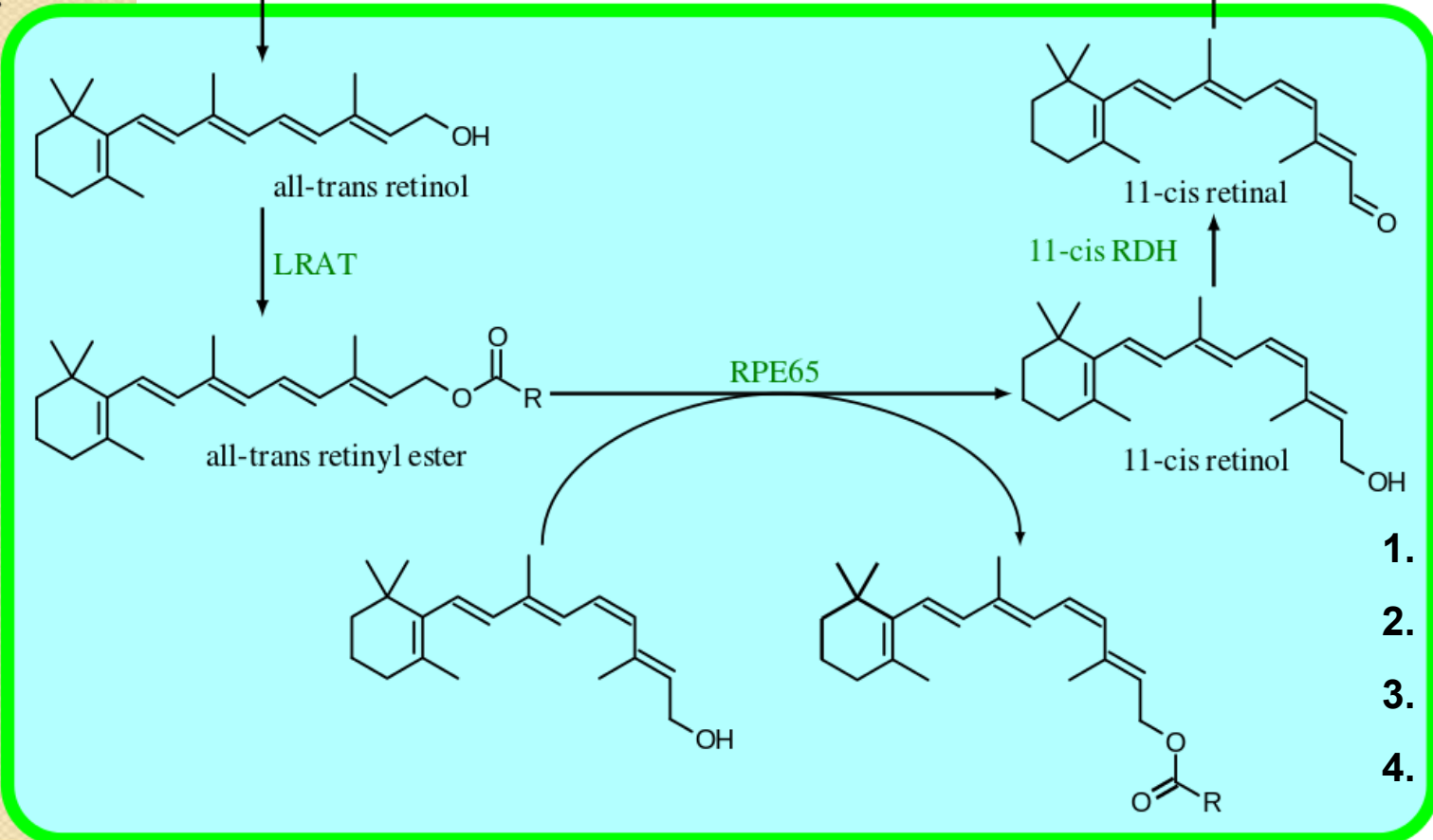
1. ABCR retina-specific (ATP)-binding cassette transporter
2. RDH retinolo deidrogenasi
3. IRBP interphotoreceptor matrix retinoid binding protein
4. CRBP Cellular retinol-binding proteins
5. LRAT Lecithin Retinol Acyltransferase
6. RPE65 retinoid isomerase-hydrolase
7. CRALBP Cellular Retinal Binding Protein

Ciclo retinoide

Rod outer segment

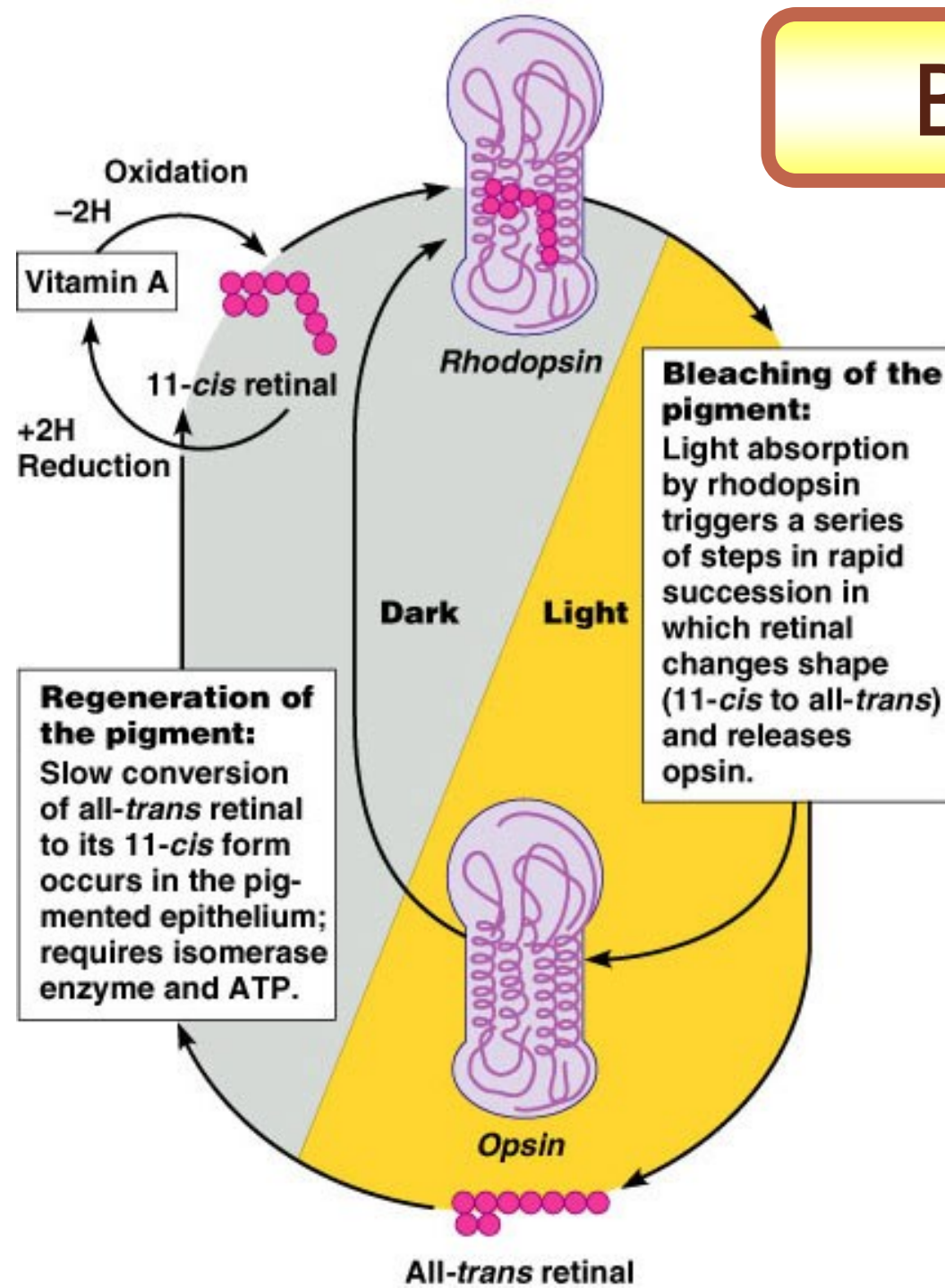


Retinal pigment epithelium

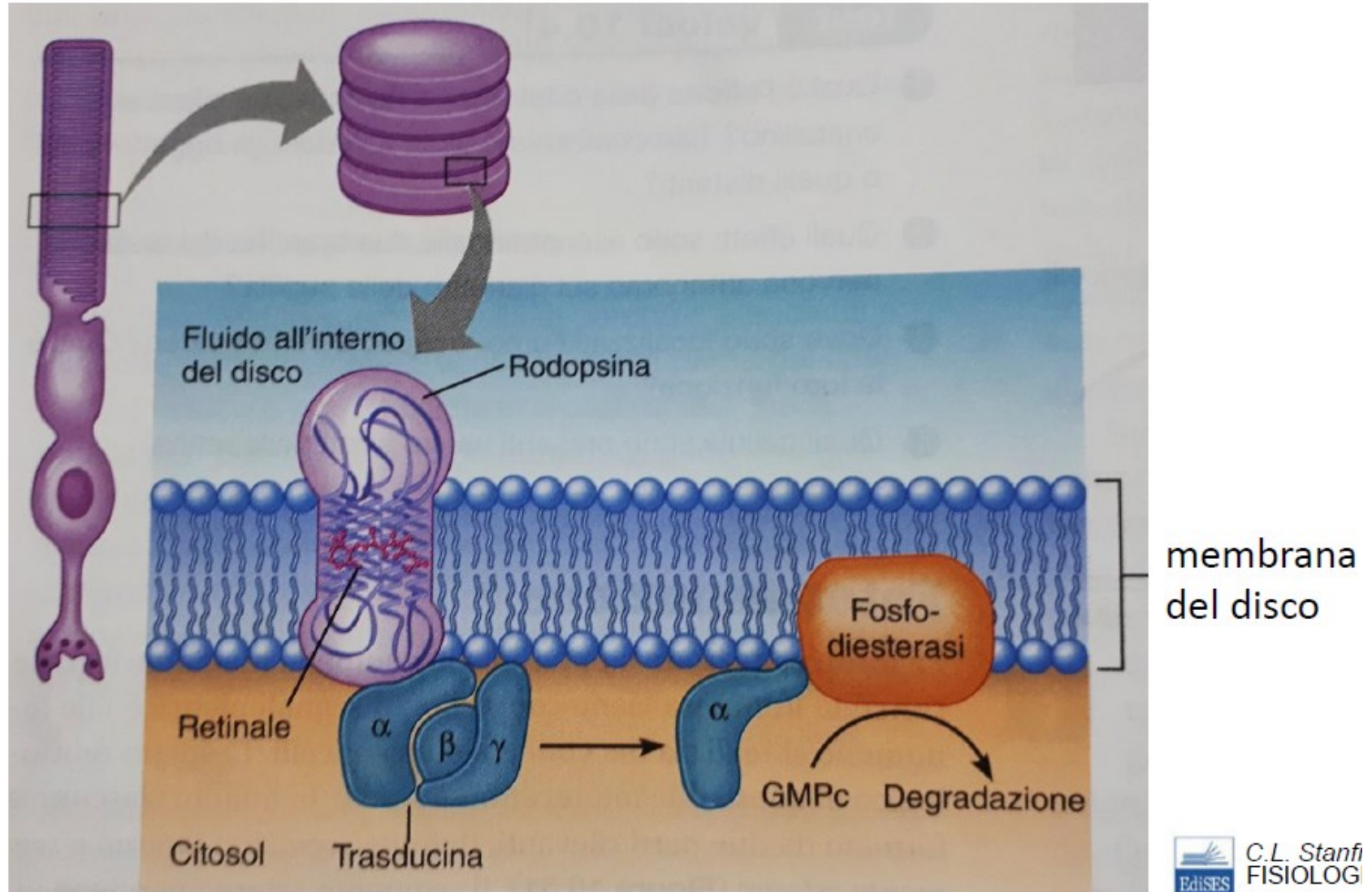


1. Trans RDH retinolo deidrogenasi (NADPH)
2. LRAT Lecithin Retinol Acyltransferase
3. RPE65 retinoid isomerase-hidrolase
4. 11-cis RDH retinolo deidrogenasi (NAD⁺)

Bleaching



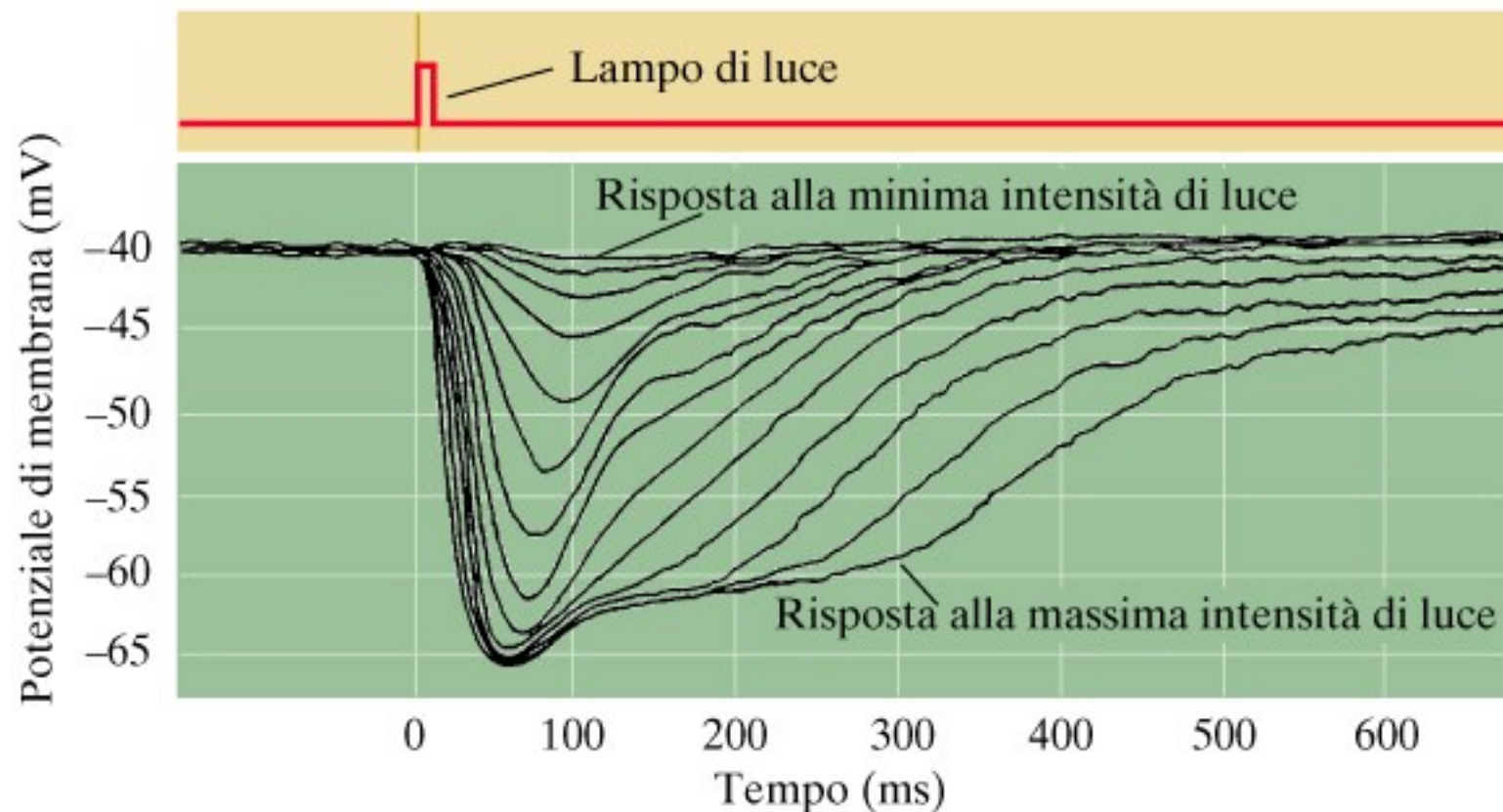
FOTOTRASDUZIONE



FOTOTRASDUZIONE

La luce che colpisce un fotorecettore, sia esso un bastoncello o un cono, porta a una ***iperpolarizzazione*** della membrana cellulare piuttosto che alla sua ***depolarizzazione***

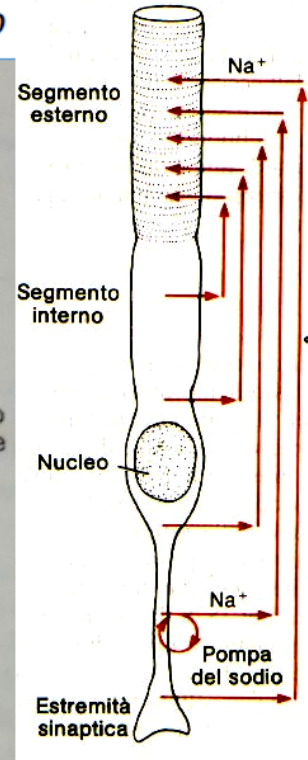
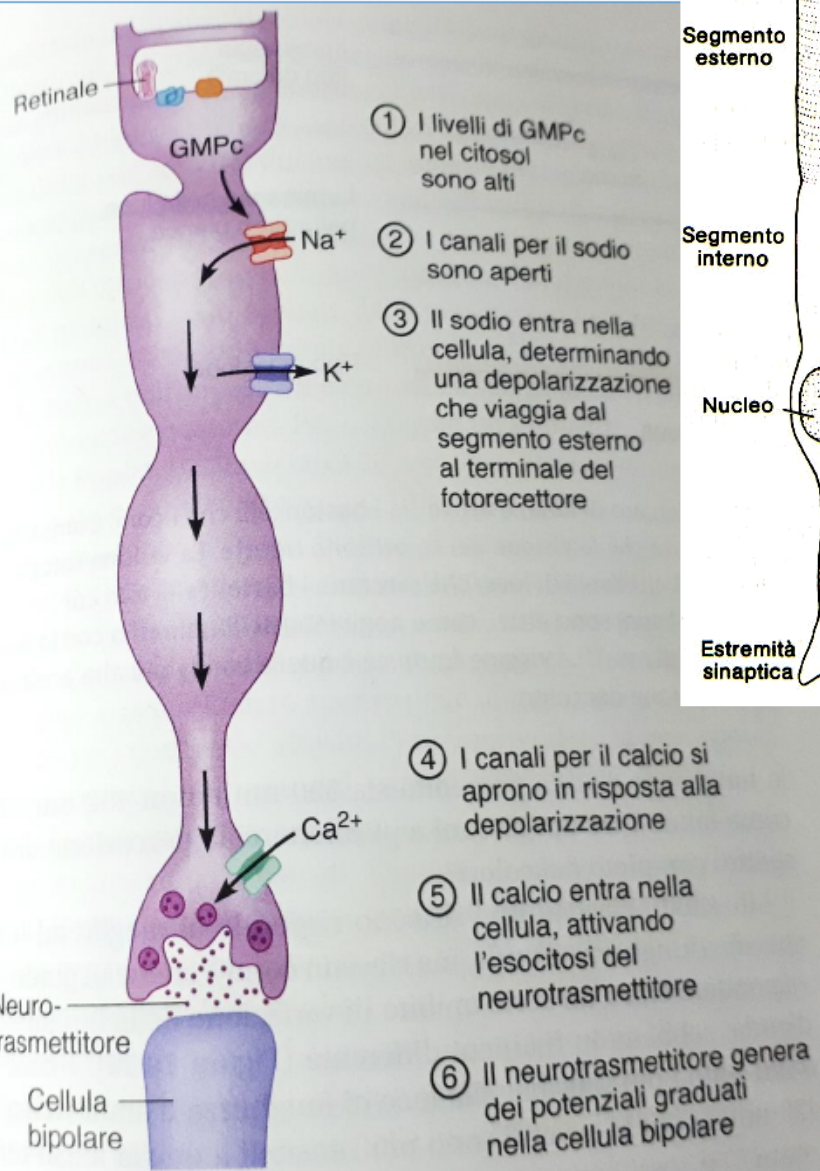
Registrazione intracellulare di un singolo cono stimolato con luce di intensità variabile. Ciascuna traccia rappresenta la risposta a un breve lampo di luce di intensità variabile



Fototrasduzione

Molecola chiave **cGMP**

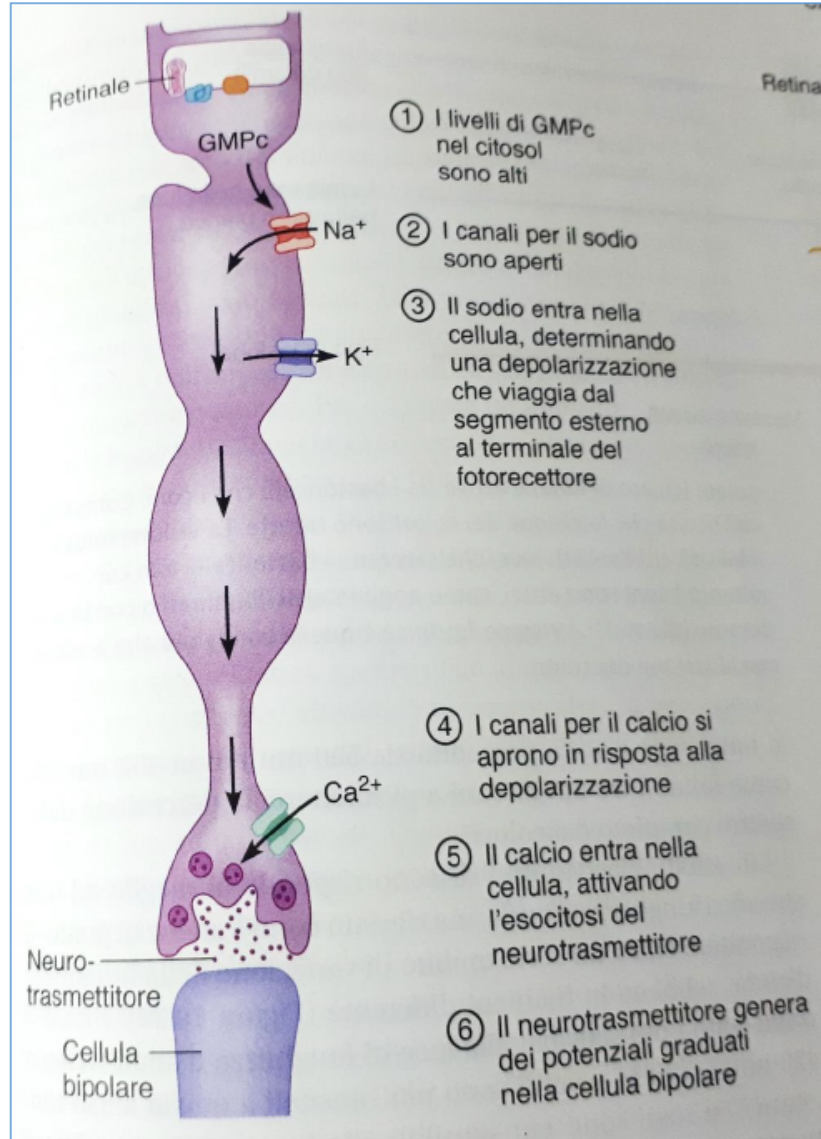
Stato del fotorecettore al buio



- In condizioni di buio la concentrazione intracellulare di GMP ciclico è elevata all'interno del segmento esterno del fotorecettore (1).
- L'elevata concentrazione di GMP ciclico mantiene aperti i canali CNGC (canali cationici attivati da nucleotidi ciclici). Essi generano una corrente entrante depolarizzante, trasportata principalmente da Na⁺, ma anche Ca²⁺, dette **corrente di buio**.
- Questa corrente è controbilanciata da una corrente uscente che fluisce attraverso la membrana del segmento interno, dovuta a canali per il K⁺ (si tratta di canali del K⁺ *delayed rectifier* attivati dalla depolarizzazione della membrana).

Fototrasduzione

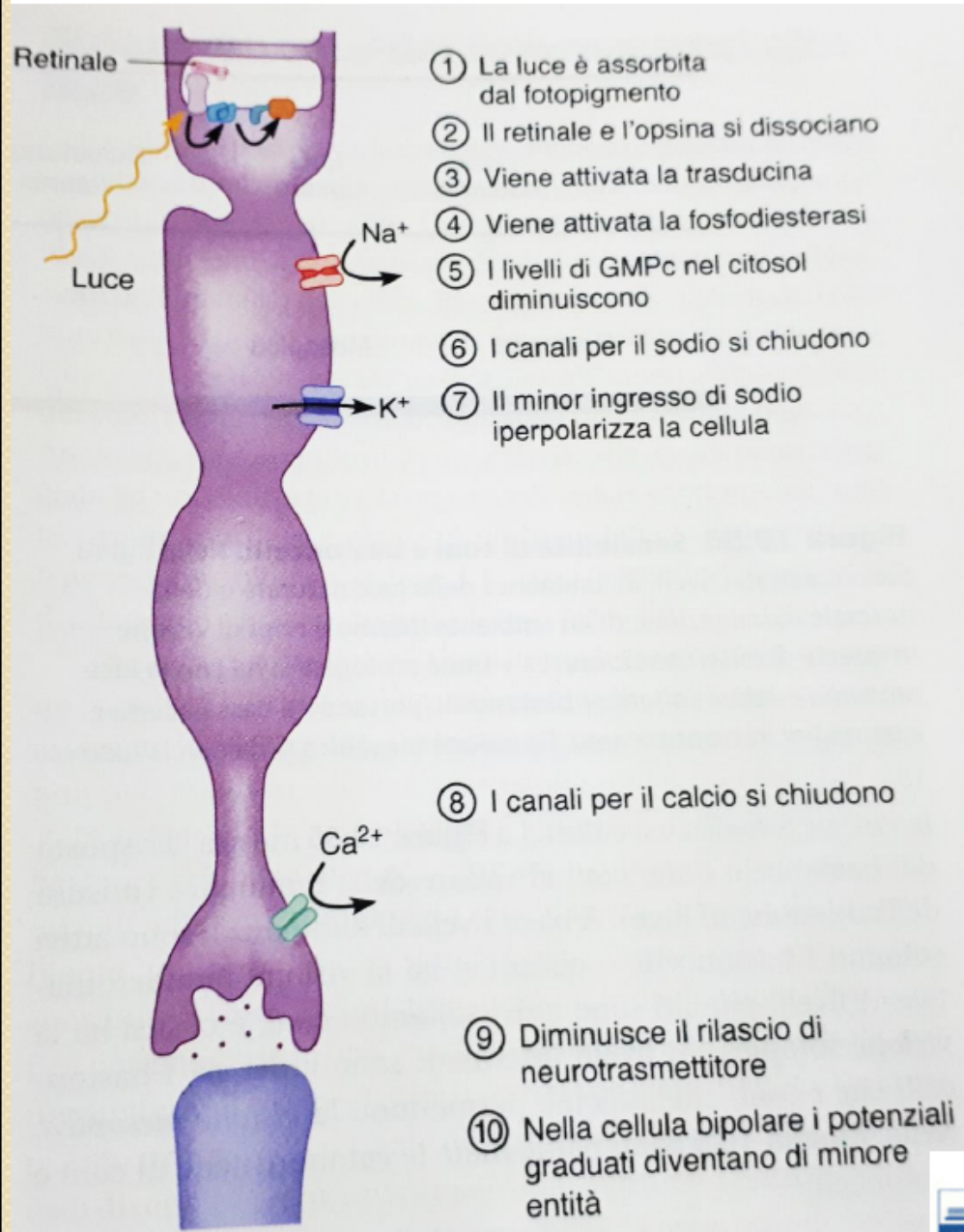
Stato del fotorecettore al buio



- L'effetto complessivo è che il fotorecettore si trova depolarizzato ad un «potenziale di buio» di -40 mV.
- A livello della terminazione sinaptica la depolarizzazione della membrana del fotorecettore induce l'apertura dei canali del Ca²⁺.
- L'ingresso del Ca²⁺ attiva l'esocitosi al buio del neurotrasmettitore (glutammato) che induce la formazione di un potenziale graduato nella cellula bipolare.

Fototrasduzione

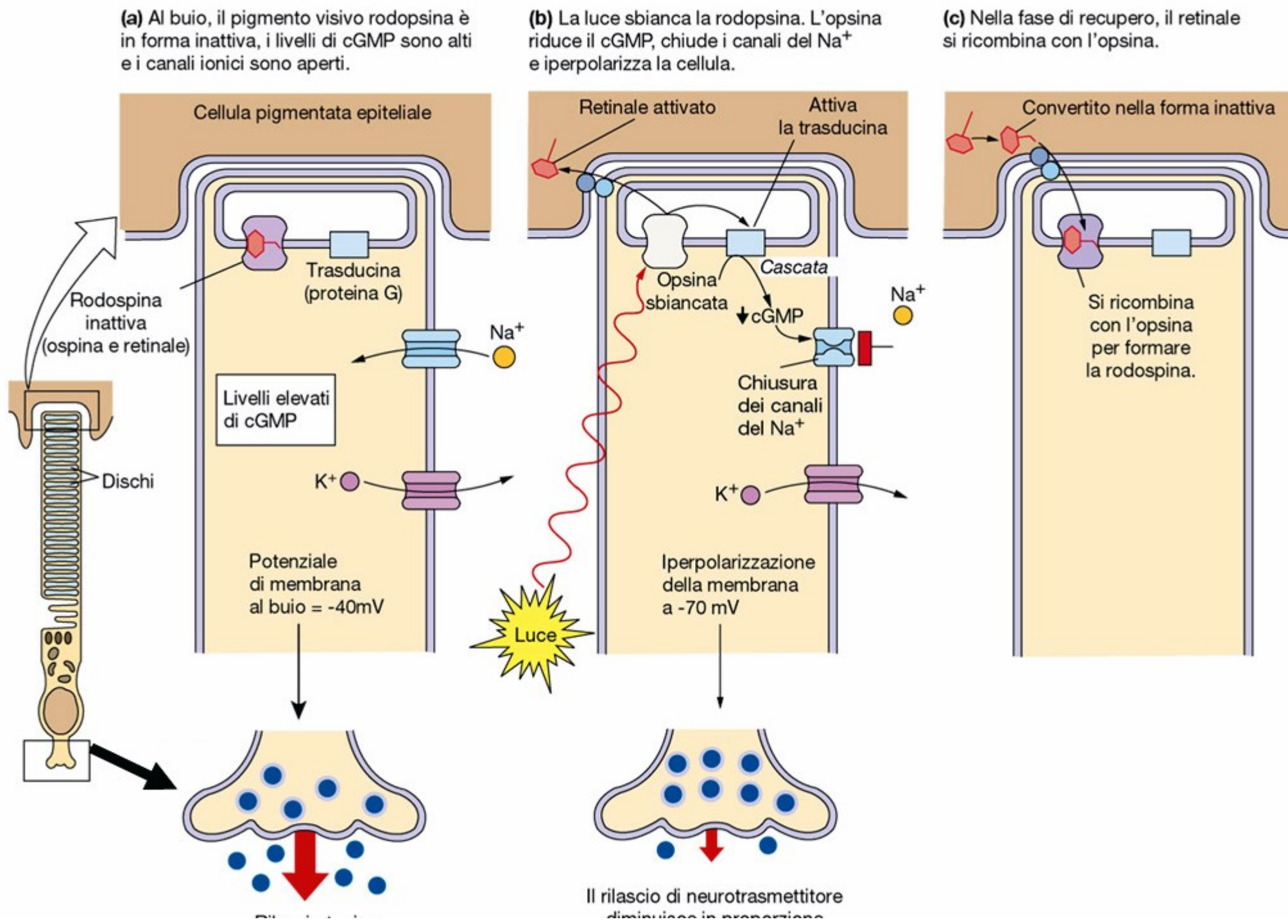
Stato del fotorecettore alla luce



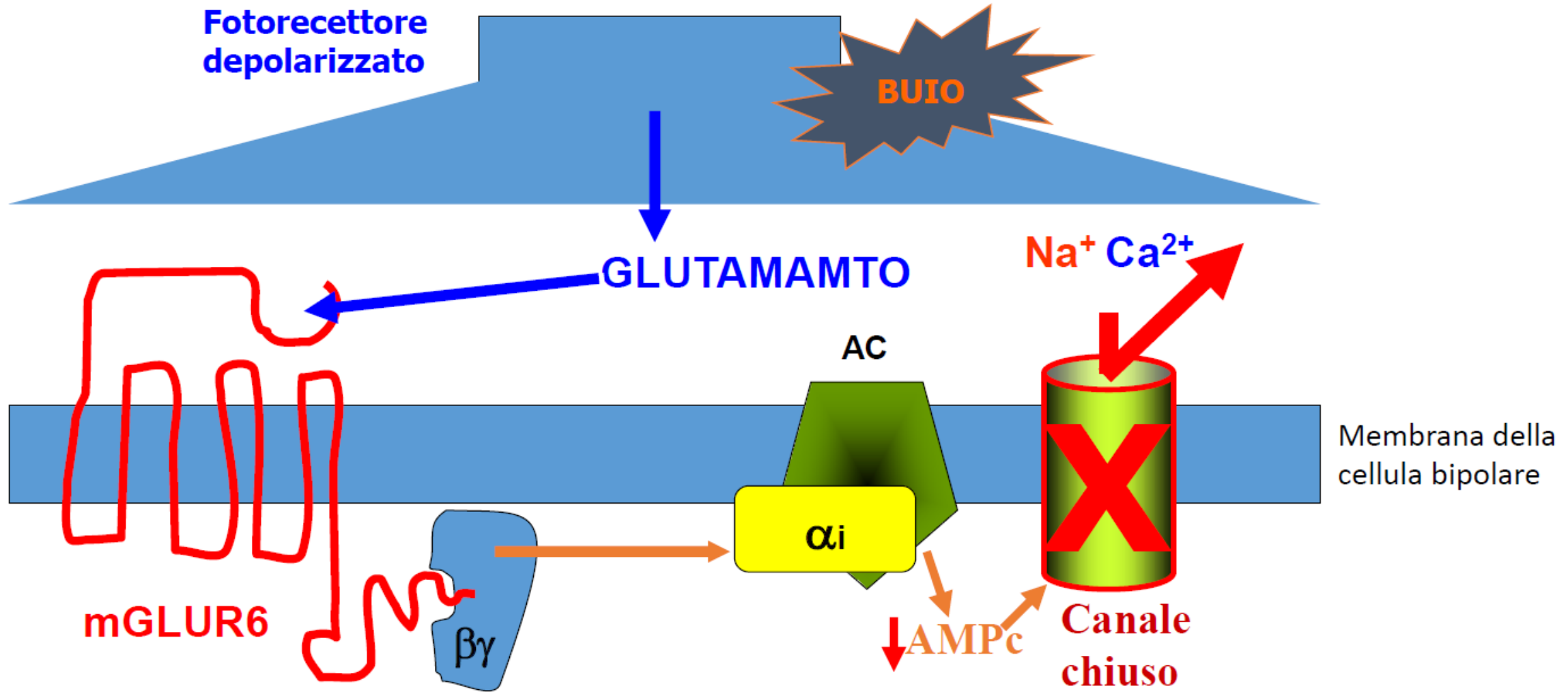
Quando il fotorecettore è esposto alla luce, il retinale cambia conformazione, e si dissocia dall'opsina che cambia conformazione in metarodopsina II. Questa attiva la trasducina che a sua volta attiva la fosfodiesterasi che catalizza la scissione del GMP ciclico.

La diminuzione della concentrazione di GMP ciclico nel segmento esterno provoca la chiusura dei canali CNGC.

Di conseguenza la membrana si iperpolarizza determinando la chiusura dei canali del Ca²⁺ nel segmento interno e conseguente diminuzione della liberazione di neurotrasmettitore.

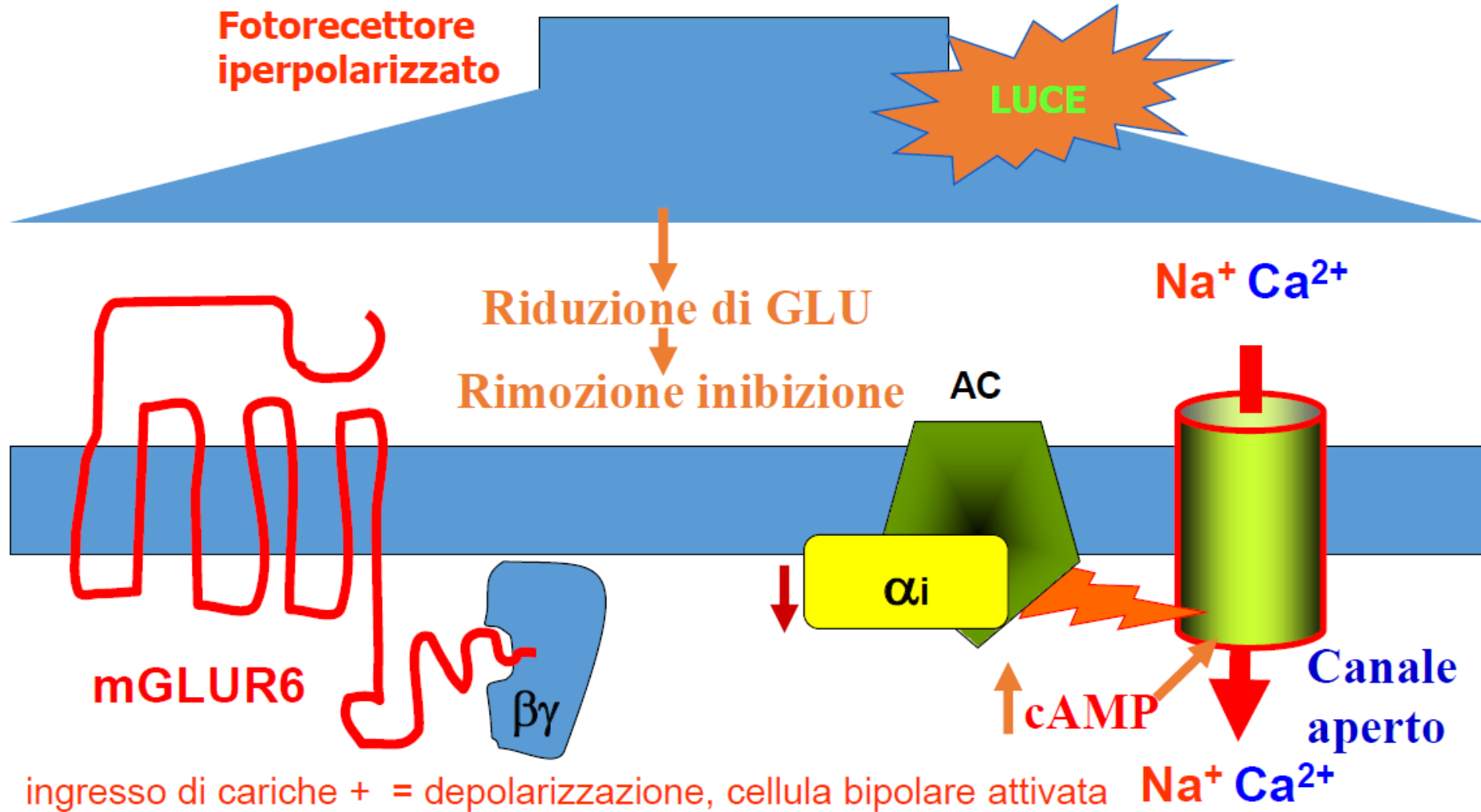


Le cellule bipolari rispondono alla luce con un segno invertito rispetto al fotorecettore. Esse danno risposte depolarizzanti alla luce e sono stimulate da recettori metabotropici (mGluR6)



In condizioni di buio, il rilascio di glutammato, attraverso il suo legame al recettore metabotropico mGluR6 sulla membrana postsinaptica della cellula bipolare, determina l'inibizione dell'adenilato ciclasi, la riduzione della concentrazione di AMP ciclico, chiusura del canale cationico attivato da AMP ciclico e conseguente **iperpolarizzazione**.

Le cellule bipolari rispondono alla luce con un segno invertito rispetto al fotorecettore. Esse danno risposte depolarizzanti alla luce e sono stimulate da recettori metabotropici (mGluR6)



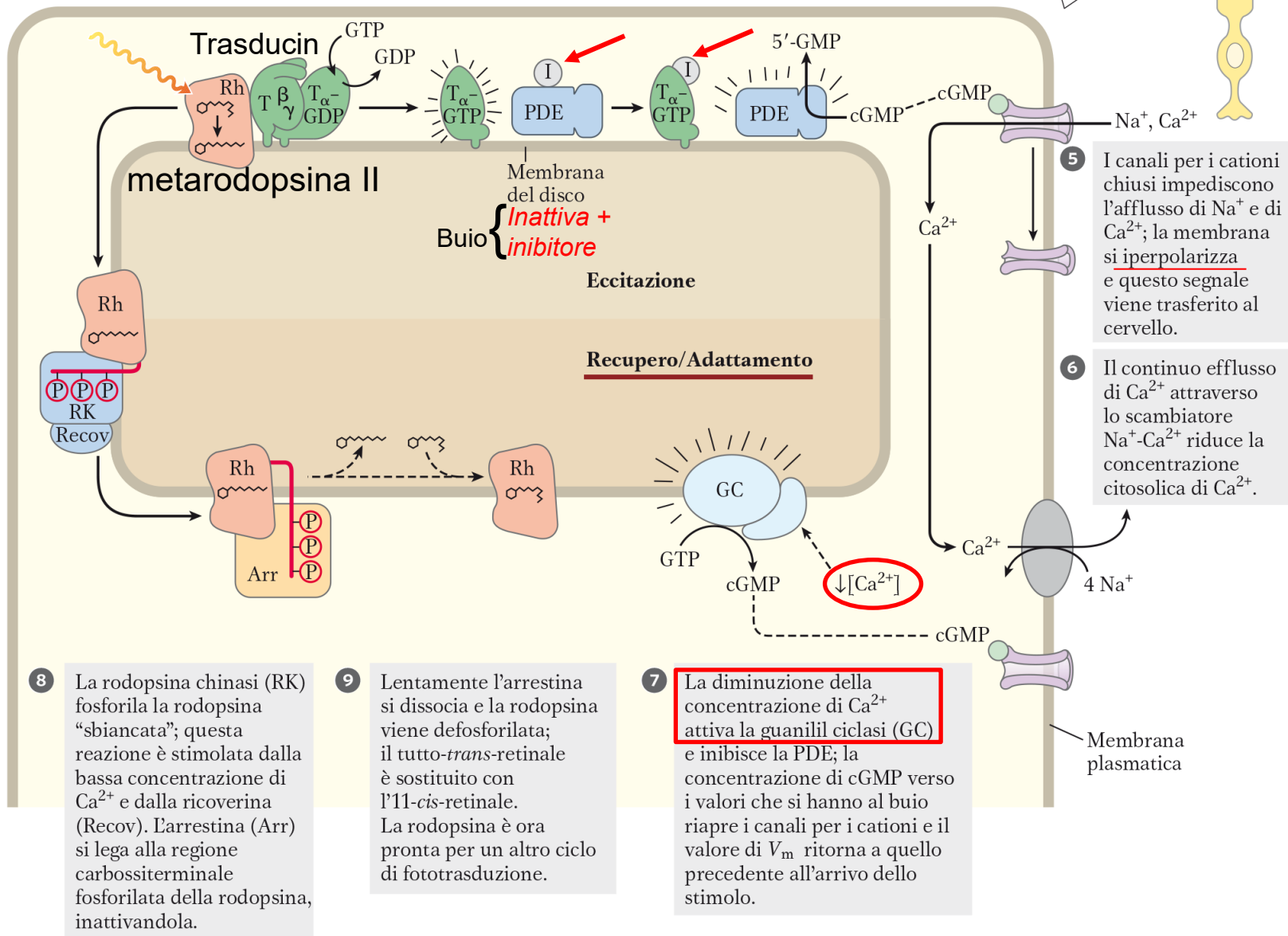
In condizioni di luce, il rilascio di glutammato è inibito, l'inibizione dell'adenilato ciclastasi è rimossa, aumenta la concentrazione di AMP ciclico con conseguente apertura dei canali cationici e **depolarizzazione** della membrana.

1 L'assorbimento della luce converte l'11-*cis*-retinale in tutto-*trans*-retinale, attivando la rodopsina (Rh).

2 La rodopsina attivata catalizza la sostituzione di GDP con GTP sulla trasducina (T), che poi si dissocia in T_{α} -GTP e $T_{\beta\gamma}$.

3 La T_{α} -GTP attiva la cGMP fosfodiesterasi (PDE) mediante il legame e la rimozione della sua subunità inibitrice (I).

4 La PDE attiva riduce la concentrazione di cGMP al di sotto dei livelli necessari per mantenere aperti i canali per i cationi.



Bastoncello

5 I canali per i cationi chiusi impediscono l'afflusso di Na⁺ e di Ca²⁺; la membrana si iperpolarizza e questo segnale viene trasferito al cervello.

6 Il continuo efflusso di Ca²⁺ attraverso lo scambiatore Na⁺-Ca²⁺ riduce la concentrazione citosolica di Ca²⁺.

8 La rodopsina chinasi (RK) fosforila la rodopsina "sbiancata"; questa reazione è stimolata dalla bassa concentrazione di Ca²⁺ e dalla ricoverina (Recov). L'arrestina (Arr) si lega alla regione carbossiterminale fosforilata della rodopsina, inattivandola.

9 Lentamente l'arrestina si dissocia e la rodopsina viene defosforilata; il tutto-*trans*-retinale è sostituito con l'11-*cis*-retinale. La rodopsina è ora pronta per un altro ciclo di fototrasduzione.

7 La diminuzione della concentrazione di Ca²⁺ attiva la guanilil ciclasi (GC) e inibisce la PDE; la concentrazione di cGMP verso i valori che si hanno al buio riapre i canali per i cationi e il valore di V_m ritorna a quello precedente all'arrivo dello stimolo.

Grazie per l'attenzione

