



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**Συσχέτιση του πολυμορφισμού rs9939609 του γονιδίου *FTO* με το κατώφλιο
αντίληψης της γλυκιάς γεύσης σε ομάδα Ελληνίδων εθελοντριών**

Πτυχιακή εργασία

Αμαλία-Ειρήνη Κασμιρίδου-Ξενοδοχίδου

Αθήνα, 2018



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Παπανικολάου Γεώργιος (Επιβλέπων)

**Λέκτορας Παθοφυσιολογίας και Γενετικής του Ανθρώπου, Τμήμα Επιστήμης
Διαιτολογίας – Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Δεδούσης Γεώργιος

**Καθηγητής Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας του Ανθρώπου, Τμήμα
Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Γιαννακούρης Νικόλαος

**Αναπληρωτής Καθηγητής Λειτουργικής Βιολογίας – Φυσιολογίας, Τμήμα
Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Η Αμαλία-Ειρήνη Κασμιρίδου-Ξενοδοχίδου

δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2) Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά τον επιβλέπων μου κ. Γιώργο Παπανικολάου για τις πολύτιμες γνώσεις που μου πρόσφερε καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου, καθώς και για την καθοδήγηση και την υπομονή του στην εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής εργασίας.

Επίσης ευχαριστώ την ερευνητική ομάδα και την Έφη Κατσαρέλη για την ευχάριστη συνεργασία, όπως και τις εθελόντριες που πήραν μέρος στη μελέτη και την έκαναν πραγματικότητα.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους ανθρώπους που με υποστήριξαν σε όλη τη διάρκεια των φοιτητικών μου ετών και με βοήθησαν να πραγματοποιήσω τα όνειρά μου.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περίληψη στα Ελληνικά.....	8
Περίληψη στα Αγγλικά – Abstract.....	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	11
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	12
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	13
ΜΕΡΟΣ Α': ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ.....	14
Κεφάλαιο 1: Η αίσθηση της γεύσης.....	15
1.1. Η ανάπτυξη και η φυσιολογία της γεύσης.....	15
1.2. Ανατομία γλώσσας.....	16
1.2.1. Γευστικές θηλές και γευστικοί κάλυκες.....	16
1.2.2. Είδη κυττάρων στους γευστικούς κάλυκες.....	18
1.3. Γευστικές ποιότητες και υποδοχείς γεύσης.....	21
1.3.1. Αλμυρή γεύση.....	22
1.3.2. Ξινή γεύση.....	23
1.3.3. Γλυκιά γεύση.....	23
1.3.4. Πικρή γεύση.....	23
1.3.5. Umami γεύση.....	24
1.3.6. Άλλες γευστικές ποιότητες.....	24
1.4. Η μεταγωγή της γεύσης.....	24
Κεφάλαιο 2: Η γλυκιά γεύση.....	27
2.1. Η σημασία της γλυκιάς γεύσης.....	27
2.2. Μεταγωγή της γλυκιάς γεύσης.....	27
2.3. Η αντίληψη της γλυκιάς γεύσης.....	28
2.3.1. Υποδοχείς T1R2/T1R3.....	28
2.3.2. α-γευστίνη.....	30
2.3.3. Πολυμορφισμοί.....	31
2.4. Παράγοντες που επιδρούν στην αντίληψη της γλυκιάς γεύσης.....	32
2.4.1. Ορμονικοί παράγοντες.....	33

2.4.2. Ψυχολογικοί παράγοντες.....	35
2.4.3. Συσχέτιση με την αντίληψη πόνου.....	36
2.4.4. Συσχέτιση με Παχυσαρκία και Σακχαρώδη Διαβήτη.....	37
Κεφάλαιο 3: Ψυχομετρικές δοκιμασίες στην αντίληψη της γλυκιάς γεύσης.....	39
3.1. Η θεωρία του κατωφλίου.....	39
3.1.1. Απόλυτο κατώφλιο.....	39
3.2.2. Άλλοι τύποι κατωφλίων.....	41
3.2. Μέθοδος υπολογισμού.....	41
3.2.1. Μέθοδος των ορίων.....	41
3.2.2. Μέθοδοι των υποχρεωτικών εναλλακτικών επιλογών (n-AFC).....	42
3.3. Βαθμονομημένες κλίμακες μεγέθους – gLMS.....	44
Κεφάλαιο 4: Γονίδιο <i>FTO</i>	46
4.1. Η ανακάλυψη του <i>FTO</i>	46
4.2. Χαρακτηριστικά του <i>FTO</i>	47
4.3. Λειτουργική σημασία του <i>FTO</i>	48
4.3.1. Σύνδρομα.....	48
4.3.2. Παχυσαρκία.....	48
4.3.3. Σακχαρώδης Διαβήτης τ. 2 και δράση ινσουλίνης.....	50
4.3.4. Λιπώδης ιστός.....	51
4.3.5. Υποθάλαμος.....	51
4.3.6. Άλλα νοσήματα.....	52
4.4. Διατροφή και μακροσυστατικά.....	53
ΜΕΡΟΣ Β΄: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ	54
Κεφάλαιο 5: Μεθοδολογία.....	55
5.1. Έγκριση Βιοηθικής.....	55
5.2. Επιλογή εθελοντών – Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού.....	56
5.3. Διαδικασίες Δοκιμών.....	56
5.3.1. Προετοιμασία πριν τις δοκιμές.....	57
5.3.2. Διεξαγωγή δοκιμών.....	57
5.4. Οργανοληπτικές δοκιμές – Εργαλεία αξιολόγησης.....	59
5.4.1. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά.....	59

5.4.2. Δοκιμασία 3-AFC.....	59
5.4.3. Δοκιμασία gLMS.....	61
5.4.4. Ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης γλυκών τροφίμων –63	
SWEET-FFQ.....	63
5.4.5. Ερωτηματολόγιο αρέσκειας γλυκών τροφίμων.....	64
5.5. Γονοτύπηση.....	64
5.5.1. Απομόνωση DNA.....	64
5.5.3. Μέθοδος Taqman.....	65
5.6. Μεθοδολογία στατιστικών αναλύσεων.....	66
Κεφάλαιο 6: Αποτελέσματα.....	68
6.1. Χαρακτηριστικά εθελοντριών.....	68
6.1.1. Ισορροπία Hardy-Weinberg.....	68
6.2. Έλεγχος συσχετίσεων.....	69
6.2.1. Γονότυπος και Καλύτερα Εντοπισμένο Κατώφλιο (BET).....	69
6.2.2. Γονότυπος και αρέσκεια στα γλυκά τρόφιμα και κλίμακες gLMS.....	70
6.2.3. Γονότυπος και φαινόμενο του “γλυκατζή”.....	71
Κεφάλαιο 7: Συμπεράσματα – Συζήτηση.....	72
7.1. Κύρια ευρήματα.....	72
7.2. Περιορισμοί μελέτης.....	72
7.3. Τελικό συμπέρασμα.....	73
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	75
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	86

Περίληψη στα Ελληνικά

Το γονίδιο *FTO* έχει συσχετισθεί κυρίως με την αύξηση του σωματικού βάρους, διαδραματίζοντας έτσι ρόλο στην ανάπτυξη παχυσαρκίας και σχετικών νοσημάτων. Η παρούσα μελέτη έχει σκοπό να ερευνήσει την επίδραση του πολυμορφισμού rs9939609 T>A του γονιδίου *FTO* στο κατώφλιο αντίληψης της γλυκιάς γεύσης. Παράλληλα εξετάσθηκε αν υπάρχει συσχέτιση του πολυμορφισμού και με την αρέσκεια στα γλυκά τρόφιμα, την ηδονική απόκριση στο γλυκό, την αντίληψη της έντασης της γλυκιάς γεύσης και το φαινόμενο του “γλυκατζή”. Στην έρευνα έλαβαν μέρος 40 εθελόντριες ηλικίας 18-35 ετών με Δείκτη Μάζας Σώματος <30kg/m². Για την γονοτύπηση χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Taqman, για τον προσδιορισμό των γευστικών κατωφλίων η διαδικασία 3-AFC, η αρέσκεια γλυκών τροφίμων αξιολογήθηκε με ένα ερωτηματολόγιο αναλογικών και εκατοστιαίων κλιμάκων (100mm) και η αντίληψη της έντασης και η ηδονική προτίμηση διαλυμάτων σουκρόζης (2,5%, 5%, 10% και 20% w/v) αξιολογήθηκαν σε ειδικά κατασκευασμένες βαθμονομημένες κλίμακες μεγέθους (gLMS).

Από τις 40 εθελόντριες που πήραν μέρος στη μελέτη γονοτυπήθηκαν επιτυχώς 38 ενώ στοιχεία από τα ερωτηματολόγια ήταν διαθέσιμα για 28 εθελόντριες. Τα αποτελέσματα από τους ελέγχους των συσχετίσεων μεταξύ του γονότυπου και των παραγόντων που αναφέρθηκαν δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά. Τα συμπεράσματα δεν συνηγορούν στην υποστήριξη της υπόθεσης ότι ο πολυμορφισμός rs9939609 T>A σχετίζεται με την αντίληψη του γλυκού, την ηδονική απόκριση ή την κατανάλωση γλυκών τροφίμων. Η συσχέτιση του πολυμορφισμού με το κατώφλιο αντίληψης της γλυκιάς γεύσης δεν ανέδειξε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στους γονότυπους, ωστόσο καταγράφηκε η τάση οι ομοζυγώτες AA να εμφανίζουν μεγαλύτερη μέση κατωφλική τιμή αντίληψης της γλυκιάς γεύσης. Η εξέταση ενός μεγαλύτερου δείγματος εθελοντών θα επέτρεπε την ασφαλή εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την πιθανότητα συσχέτισης του rs9939609 με το κατώφλιο αντίληψης της γλυκιάς γεύσης.

Λέξεις κλειδιά: πολυμορφισμός, γονίδιο της παχυσαρκίας, κατώφλιο, γλυκό, γεύση

Abstract

The *FTO* gene has been associated mainly with the increase of body weight, therefore playing a large part in developing of obesity and related diseases. This study is investigating the association between the *FTO* gene rs9939069 T>A single nucleotide polymorphism (SNP) and the sweet taste threshold. In parallel, it was examined if this SNP has an impact on the liking of sweet foods, the perceived sweet taste intensity and hedonic preference, as well as the phenomenon of the “sweet-eater”. To assess this hypothesis, 40 Greek female volunteers aged 18-35 years participated in the research, with a BMI of $<30\text{kg/m}^2$. Taqman method was used for the genotyping, best estimated threshold (BET) was determined via 3-AFC method, liking of sweet foods was assessed on a 100mm visual scale and perceived sweet taste intensity and hedonic preference of sucrose concentrations (2,5%, 5%, 10% και 20% w/v) were rated on modified general labelled magnitude scales (gLMS).

The genotyping was successful for 38 of 40 volunteers, while data from the questionnaires were available for 28 of them. Results from controls of correlations between the genotype and the factors mentioned were not statistically significant. The conclusions do not support the hypothesis that rs9939609 T> A polymorphism is related to the perception and the hedonic response of sweet taste, or the consumption of sweet foods. The associations between this SNP and the sweet taste threshold did not reveal any statistically significant difference between AA, AT and TT genotypes, however the trend was observed for AA homozygotes to exhibit a higher mean threshold value. Examining a larger sample of volunteers would allow safe conclusions to be drawn on the likelihood of association of rs9939609 SNP with the sweet taste threshold.

Keywords: polymorphism, *FTO*, threshold, sweet, taste

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1.: Η θέση των θηλών στη γλώσσα και η ανατομία του γευστικού κάλυκα.....	18
Εικόνα 1.2.: Τα τρία είδη κυττάρων στους γευστικούς κάλυκες.....	21
Εικόνα 3.1.: Κλίμακα LMS.....	45
Εικόνα 3.2.: Κλίμακες LAM και OPUS.....	45
Εικόνα 5.1.: Η μέθοδος Taqman – Real Time PCR.....	61

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 5.1.: Επίπεδα συγκέντρωσης σουκρόζης στη δοκιμασία AFC.....	61
Πίνακας 5.2.: Επίπεδα συγκεντρώσεων διαλυμάτων σουκρόζης στη δοκιμασία gLMS.....	62
Πίνακας 6.1.: Μέση τιμή αρέσκειας, ηδονικότητας και αξιολόγησης έντασης για κάθε γονότυπο.....	71
Πίνακας 6.2.: Αριθμός ατόμων με 'Ναι' και 'Όχι' στο φαινόμενο του "γλυκατζή" για κάθε γονότυπο.....	71

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 3.1.: Η αρχή του “όλου ή μηδενός”	40
Σχήμα 3.2.: Ο πιθανολογικός χαρακτήρας του κατωφλίου.....	40
Σχήμα 3.3.: Γραφικός προσδιορισμός τυχαίως ορθών ανιχνεύσεων (3-AFC).....	44
Σχήμα 6.1.: Διάγραμμα De Finetti για τον πολυμορφισμό rs9939609.....	69
Σχήμα 6.2.: Μέση τιμή κατωφλίου για κάθε γονότυπο.....	70

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια ο επιπολασμός της παχυσαρκίας στις βιομηχανοποιημένες χώρες αυξάνεται προοδευτικά, αποτελώντας μια μείζονα απειλή για την υγεία. Είναι γνωστό πως συμπεριφοριστικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρεάζουν την τις τροφικές επιλογές και την προσλαμβανόμενη ποσότητα τροφής, συνεπώς έχουν άμεση επίδραση στο σωματικό βάρος. Εκτός αυτού όμως, η έρευνα των τελευταίων ετών έχει στραφεί σε μεγάλο μέρος και προς τους γενετικούς παράγοντες που οδηγούν σε αύξηση του σωματικού βάρους και την παχυσαρκία, έτσι ώστε να βρεθούν τρόποι αντιμετώπισης και πρόληψής της.

Πρόσφατες μελέτες σχετικά με το γενετικό προφίλ της παχυσαρκίας και την ταυτοποίηση των εμπλεκόμενων γονιδίων έκαναν λόγο για το γονίδιο *FTO*. Διαπιστώθηκε πως διάφοροι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί του *FTO* συσχετίζονται με την αύξηση του σωματικού βάρους, όμως ο μηχανισμός δεν είναι ακόμα γνωστός. Επίσης φαίνεται πως επηρεάζουν περιοχές του υποθαλάμου που σχετίζονται με την πρόσληψη τροφής και τα συναισθήματα. Έτσι, η πιθανότητα το γονίδιο *FTO* να συσχετίζεται με την αντίληψη και τις τροφικές επιλογές των ανθρώπων παρουσιάζει μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον.

Γεννάται λοιπόν το ερώτημα, αν το *FTO* εμπλέκεται στην αντίληψη της γεύσης, και κυρίως της γλυκιάς, αφού τα γλυκά τρόφιμα είναι θερμιδικά πλούσια και η αυξημένη κατανάλωσή τους οδηγεί σε αύξηση του σωματικού βάρους. Η ζάχαρη και τα γλυκά τρόφιμα έχουν ηδονική απόκριση και επιδρούν σε λειτουργίες του εγκεφάλου που αφορούν τα συναισθήματα, επομένως υπάρχει πιθανότητα αυτή η επίδραση να εμπλέκεται με αυτήν του *FTO* στον υποθάλαμο. Στην παρούσα μελέτη λοιπόν ερευνήθηκε αν είναι πιθανό, η αντίληψη της γλυκιάς γεύσης να επηρεάζεται από το γονίδιο *FTO*, και συγκεκριμένα μελετήθηκε ο πολυμορφισμός rs9939609.

Α' ΜΕΡΟΣ: ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Η αίσθηση της γεύσης στον άνθρωπο

Η αντίληψη που έχουμε για τον κόσμο εξαρτάται από τις ηλεκτροχημικές νευρικές ώσεις που φθάνουν στον εγκέφαλο από το σύστημα των αισθήσεων (Fox, 2013). Το αισθητικό σύστημα αποτελεί τμήμα του νευρικού συστήματος και απαρτίζεται από τους αισθητικούς υποδοχείς που λαμβάνουν τα ερεθίσματα, τις νευρικές οδούς που μεταφέρουν αυτά στον εγκέφαλο, και τα τμήματα του εγκεφάλου που επιτελούν την επεξεργασία των αισθητικών πληροφοριών. Μια αισθητική πληροφορία μπορεί να είναι συνειδητή ή ασυνείδητη, και ονομάζεται “αίσθηση”. Οι παράμετροι που καθορίζουν ένα αισθητικό ερέθισμα είναι τέσσερις: ο τύπος ή μορφή ερεθίσματος, η ένταση, η εντόπιση και η διάρκεια (Vander et al., 2011). Οι αισθητικοί υποδοχείς διακρίνονται αναλόγως της μορφής ενέργειας που μετατρέπουν σε νευρικές ώσεις και είναι: οι χημειούποδοχείς, οι φωτοϋποδοχείς, οι θερμοϋποδοχείς και οι μηχανοϋποδοχείς. Οι χημειούποδοχείς διαχωρίζονται αναλόγως του περιβάλλοντος που ανιχνεύουν χημικές μεταβολές· οι ενδοδοεκτικοί ανιχνεύουν μεταβολές στο εσωτερικό περιβάλλον, ενώ οι εξωδοεκτικοί στο εξωτερικό περιβάλλον. Στους εξωδοεκτικούς ανήκουν οι υποδοχείς της γεύσης, οι οποίοι αντιδρούν σε χημικά μόρια διαλυμένα στα υγρά της τροφής (Fox, 2013).

1.1. Η ανάπτυξη και η φυσιολογία της γεύσης

Η γεύση ως αίσθηση είναι σημαντική για την ποιότητα ζωής του ανθρώπου διότι συνδέεται άμεσα με τη θρέψη και την προστασία του οργανισμού από δηλητηριώδεις ουσίες (Costanzo, 2010). Ξεκινά να αναπτύσσεται στη μήτρα, καθώς το έμβρυο καταπίνει τα συστατικά του αμνιακού υγρού που περιέχει πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λίπος και μικρά μόρια (Clark-Gambelunghe & Clark, 2015). Οι γεύσεις της διατροφής της μητέρας περνούν στο αμνιακό υγρό και στο μητρικό γάλα, συνεπώς έχουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη της αίσθησης της γεύσης. Αυτό πιθανόν εξηγεί το γεγονός ότι τα παιδιά που έχουν θηλάσει είναι περισσότερο πρόθυμα να δοκιμάσουν νέα τρόφιμα. Η επαναλαμβανόμενη έκθεση και η ποικιλία βοηθούν τα βρέφη και τα νήπια να αποδέχονται τα θρεπτικά τρόφιμα με λιγότερο ελκυστική γεύση, όπως πολλά λαχανικά και φρούτα, με αποτέλεσμα μεγαλώνοντας να

συνηθίζουν τις γεύσεις και να οδηγούνται σε πιο ισορροπημένες διατροφικές επιλογές (Mennella, 2014).

Η αίσθηση της γεύσης δημιουργείται από πολλές ουσίες, με αποτέλεσμα να αντιλαμβανόμαστε πέντε βασικές μορφές ή ποιότητες γεύσης: γλυκό, πικρό, αλμυρό, ξινό και umami (Fox, 2006). Ο συνδυασμός αυτών των βασικών ποιοτήτων γεύσης οδηγεί στην αντίληψη εκατοντάδων διαφορετικών γεύσεων (Hall, 2016). Η εμπειρία της αίσθησης της γεύσης απορρέει από τη συνδυαστική δράση διάφορων αισθήσεων. Αρχικά, η αίσθηση της όσφρησης ενισχύει την αίσθηση της γεύσης, καθώς η μυρωδιά μιας ουσίας συνδέεται με την χημική δομή της, επομένως σε απώλεια της όσφρησης παρατηρείται και απώλεια γεύσης (Vander et al., 2011). Επιπρόσθετα, οι απτικές αισθήσεις της στοματικής κοιλότητας αντιλαμβάνονται την υφή της τροφής, ενώ ορισμένες ουσίες στην τροφή διεγείρουν νευρικές απολήξεις πόνου. Συνολικά αυτοί οι παράγοντες επηρεάζουν την ευληπτότητα της τροφής και κατά συνέπεια την γευστική εμπειρία. Εκτός των άλλων, για τον άνθρωπο είναι σημαντικό και το φαινόμενο της γευστικής προτίμησης. Σύμφωνα με αυτό, στον άνθρωπο υπάρχει ένας μηχανισμός στο κεντρικό νευρικό σύστημα, ο οποίος ρυθμίζει την κατανάλωση τροφών βάσει των αναγκών του σώματος για συγκεκριμένες ουσίες, αλλά και βάσει προηγούμενης ευχάριστης ή δυσάρεστης εμπειρίας (Hall, 2016).

1.2. Ανατομία της γλώσσας

Το αισθητικό σύστημα της γεύσης στα θηλαστικά περιλαμβάνει κύτταρα γεύσης, προσαγωγικά γευστικά νεύρα και εγκεφαλικές δομές που εμπλέκονται στην επεξεργασία της γεύσης (Bachmanov et al., 2014).

1.2.1. Γευστικές θηλές και γευστικοί κάλυκες

- **Γευστικοί Κάλυκες**

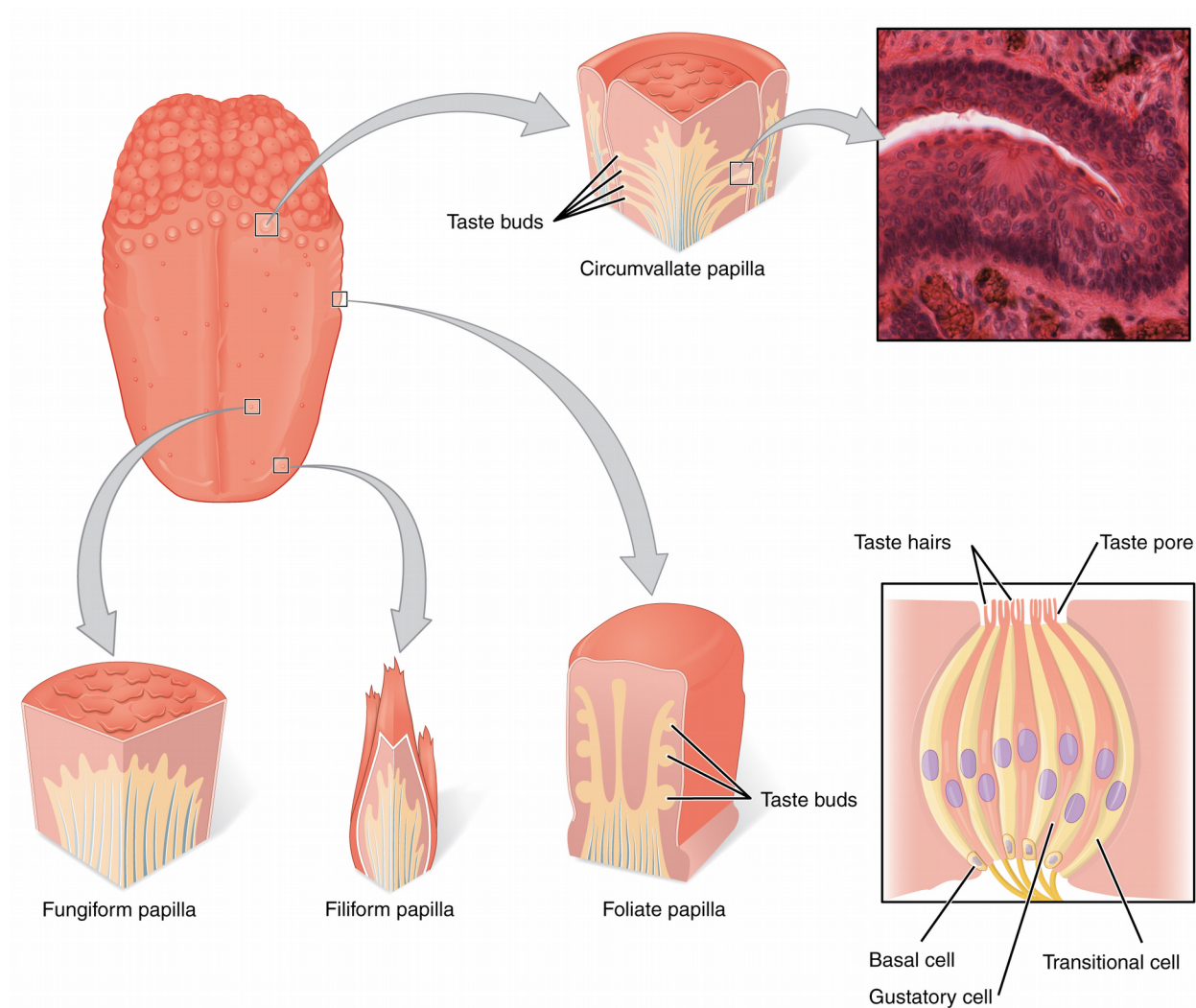
Κυρίαρχο ρόλο στη δημιουργία της αίσθησης της γεύσης κατέχουν οι γευστικοί κάλυκες που βρίσκονται κυρίως στην επιφάνεια της γλώσσας, καθώς και στην υπερώα, στο φάρυγγα

και στο λάρυγγα (Costanzo, 2010), (Fox, 2013). Έχουν σχήμα που παρομοιάζεται με βαρελιού ή κρεμμυδιού (Εικόνα 1.1), περίπου με διάμετρο 1/30 mm και μήκος 1/16 mm (Hall, 2016). Κάθε γευστικό κάλυκα αποτελούν 50 με 100 εξειδικευμένα επιθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα γεύσης ή γευστικά κύτταρα, με μεγάλες μικρολάχνες, οι οποίες μέσω ενός πόρου έρχονται σε επαφή με το εξωτερικό περιβάλλον και το σίελο. Οι μικρολάχνες διαθέτουν πρωτεϊνικούς υποδοχείς όπου προσδένονται οι χημικές ουσίες της τροφής με αποτέλεσμα να εκλύονται διάφοροι χημικοί νευροδιαβιβαστές που ενεργοποιούν τους αισθητικούς νευρώνες. Σε αυτήν τη διαδικασία οφείλονται οι διαφορετικές μορφές της γεύσης (Fox, 2013).

Διαφοροποιημένοι γευστικοί κάλυκες με νεύρωση είναι εμφανείς και πιθανόν λειτουργικοί από την 10η-13η εβδομάδα ανάπτυξης του εμβρύου (Barlow & Klein, 2015).

- **Γευστικές Θηλές**

Η γλώσσα είναι οργανωμένη σε γευστικές θηλές, μέσα στις οποίες βρίσκονται οι γευστικοί κάλυκες που έχουν τα κύτταρα υποδοχείς της γεύσης (Bachmanon et al., 2014). Διακρίνονται τρεις τύποι θηλών που περιέχουν τους γευστικούς κάλυκες: οι καλυκοειδείς ή περιχαρακωμένες, οι φυλλοειδείς και οι μυκητοειδείς (Εικόνα 1.1.) (Costanzo, 2010). Οι καλυκοειδείς ή περιχαρακωμένες θηλές βρίσκονται στο πίσω μέρος της γλώσσας διατεταγμένες σε σειρές με σχήμα V. Λόγω του μεγάλου μεγέθους τους, διαθέτουν το ήμισυ του συνόλου των γευστικών καλύκων. Οι φυλλοειδείς γευστικές θηλές διακρίνονται στις πλάγιες περιοχές της γλώσσας και διαμορφώνουν πτυχές όπου εντοπίζονται οι γευστικοί κάλυκες. Οι μυκητοειδείς γευστικές θηλές παρομοιάζονται με μύκητα και βρίσκονται στην επίπεδη ραχιαία επιφάνεια της γλώσσας, κυρίως προς την άκρη της. Έχουν 3-5 γευστικούς κάλυκες η καθεμία, είναι διάφανες και χαρακτηρίζονται από έντονη αιμάτωση, οπότε και εμφανίζονται ως ερυθρές κηλίδες στη γλώσσα (Costanzo, 2010), (Hall, 2016).



Εικόνα 1.1. Η θέση των θηλών στη γλώσσα και η ανατομία του γευστικού κάλυκα

(By OpenStax [CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)], via Wikimedia Commons, https://commons.wikimedia.org/wiki/File:1402_The_Tongue.jpg)

1.2.2. Είδη κυττάρων στους γευστικούς κάλυκες

Τα γευστικά κύτταρα στους γευστικούς κάλυκες της γλώσσας διαχωρίζονται σε τύπου I, τύπου II, τύπου III και βασικά, ή τύπου IV, και ανανεώνονται συνεχώς καθ' όλη τη διάρκεια ζωής (Barlow & Klein, 2015). Τα κύτταρα τύπου I, II και III στην στοματική κοιλότητα αλληλεπιδρούν με τα γευστικά ερεθίσματα μέσω πρωτεϊνών στους υποδοχείς γεύσης και προκαλούν διέγερση που μεταδίδεται στον εγκέφαλο μέσω προσαγωγικών γευστικών νευρώνων και δημιουργεί την αντίληψη της γεύσης (Εικόνα 1.2.). Η αντίληψη γεύσης έχει τις εξής πτυχές: ένταση, ηδονικότητα (ευχάριστη ή δυσάρεστη) και ποιότητα (Bachmanon et al.,

2014). Τα πιο πολυπληθή είναι τα κύτταρα τύπου I, ακολουθούν τα κύτταρα τύπου II, και τα πιο σπάνια είναι τα τύπου III, ωστόσο μπορεί τα ποσοστά να είναι διαφορετικά σε κάθε περιοχή της γλώσσας (Barlow & Klein, 2015). Τα γευστικά κύτταρα τύπου II και III εμπλέκονται στην αντίληψη της γεύσης, οπότε και ονομάζονται γευστικοί υποδοχείς.

- **Βασικά Κύτταρα**

Τα βασικά κύτταρα είναι αδιαφοροποίητα αρχέγονα κύτταρα που λειτουργούν ως προγονικά κύτταρα των γευστικών υποδοχέων. Τα κύτταρα αυτά ανανεώνονται συνεχώς κάθε 10 μέρες, και τα νέα κύτταρα μεταφέρονται προς το κέντρο του γευστικού κάλυκα όπου διαφοροποιούνται σε νέα γευστικά κύτταρα-υποδοχείς, αντικαθιστώντας εκείνα που αποπίπτουν από τη γλώσσα (Costanzo, 2010). Η πρωτεΐνη SHH ρυθμίζει την διαφοροποίηση των βασικών κυττάρων (Santa-Cruz Calvo & Egar, 2015).

- **Κύτταρα Τύπου I**

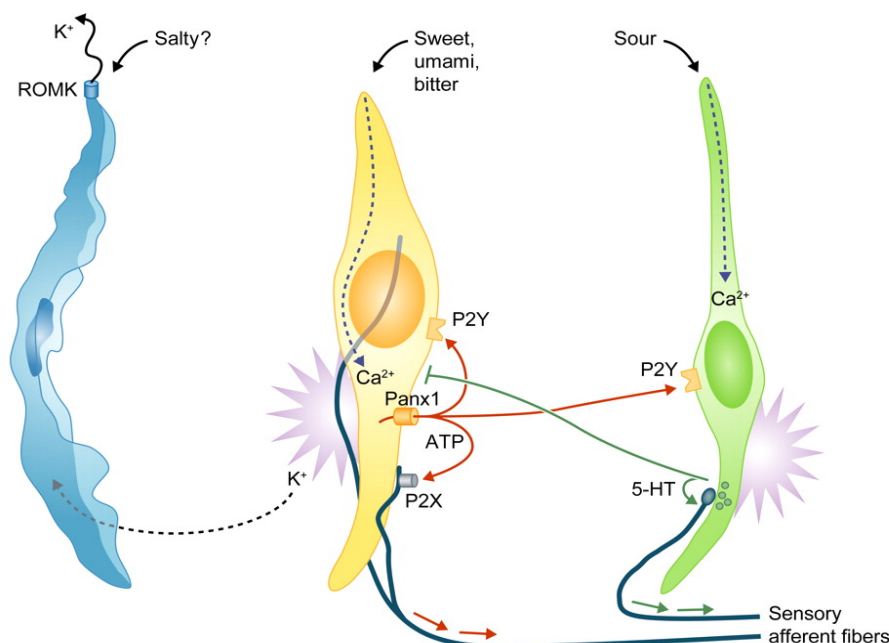
Τα κύτταρα τύπου I ονομάζονται και στηρικτικά και βρίσκονται μεταξύ των γευστικών υποδοχέων. Η λειτουργία τους δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως όσον αφορά την αντίληψη της γεύσης (Costanzo, 2010). Αποτελούν περίπου το 50% των κυττάρων στους γευστικούς κάλυκες και το κυτταρόπλασμά τους επεκτείνεται και δημιουργεί ελάσματα που τυλίγουν τα άλλα κύτταρα. Τα κύτταρα τύπου I παρουσιάζουν ιοντικά ρεύματα και εκφράζουν νουκλεοτιδάση NTPDάση-2 που υδρολύει εξωκυττάριο ATP, μεταφορείς GLAST γλουταμινικού, καθώς και κανάλια καλίου (K^+) ROMK που ρυθμίζουν την ομοιόσταση K^+ . Ο ρόλος τους μοιάζει με αυτόν των μικρογλοιακών νευρικών κυττάρων, καθώς επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις K^+ , ενώ το ATP και το γλουταμινικό λειτουργούν ως νευροδιαβιβαστές (Chaudhari & Roper, 2010). Τα κύτταρα τύπου I εκφράζουν επίσης υπομονάδα α επιθηλιακού καναλιού νατρίου α -ENaC, επομένως πιθανόν συμβάλλουν στην αντίληψη της αλμυρής γεύσης, ωστόσο ο μηχανισμός δεν είναι γνωστός (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015).

- **Κύτταρα Τύπου II**

Τα κύτταρα τύπου II λειτουργούν ως υποδοχείς της γλυκιάς, της πικρής και της umami γεύσης. Είναι συζευγμένα με G-πρωτεΐνες με επτά διαμεμβρανικές περιοχές και εκφράζουν τασεοευαίσθητους διαύλους Na^+ και K^+ που παράγουν δυναμικά ενέργειας αλλά και υπομονάδες ημιδιαύλων. Κάθε κύτταρο εκφράζει GPCRs (υποδοχείς συζευγμένους με G-πρωτεΐνες) μόνο για μία γευστική ποιότητα, γλυκιά, πικρή ή umami (Chaudhari & Roper, 2010). Τα κύτταρα τύπου II φαίνεται πως επικοινωνούν με τους γευστικούς νευρώνες μέσω απελευθέρωσης ATP και ενεργοποίησης πουρινεγικών υποδοχέων στις νευρικές ίνες. Επίσης παρουσιάζουν παρακρινή δράση, παράγοντας τοπικά ορμόνες που δρουν σε γειτονικά κύτταρα, καθώς και αυτοκρινή, επιδρώντας στην μετάδοση του γευστικού σήματος.

- **Κύτταρα Τύπου III**

Τα κύτταρα τύπου III καλούνται και προσυναπτικά διότι ενώνονται με τελικές απολήξεις νευρώνων και εκφράζουν συναπτικές πρωτεΐνες και τασεοευαίσθητους διαύλους Na^+ και K^+ . Είναι υπεύθυνα για τη μεταφορά του μηνύματος από το σώμα του νευρώνα στη συναπτική απόληξη και εκκρίνουν σεροτονίνη (5-HT), ακετυλοχολίνη (ACH), νορεπινεφρίνη (NE) και γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) (Chaudhari & Roper, 2010). Όσον αφορά τη γεύση, τα κύτταρα τύπου III εκφράζουν κανάλια PKD2L1 και PKD1L3 που ευθύνονται για τη μεταγωγή της ξινής γεύσης (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015).



Type I glial-like cell	Type II receptor cell	Type III presynaptic cell
Neurotransmitter clearance	Taste transduction	Surface glycoproteins, ion channels
GLAST Glutamate reuptake	T1Rs, T2Rs Taste GPCRs	NCAM Neuronal adhesion
NTPDase2 Ecto-ATPase	mGluRs Taste GPCRs	PKD channels Sour taste?
NET Norepinephrine uptake	Gα-gus, Gγ13 G protein subunits	Neurotransmitter synthesis
Ion redistribution and transport	PLCβ2 Synthesis of IP3	AADC Biogenic amine synthesis
ROMK K ⁺ homeostasis	TRPM5 Depolarizing cation current	GAD67 GABA synthesis
Other	Excitation and transmitter release	5-HT Neurotransmitter
OXTR Oxytocin signaling?	Na _v 1.7, Na _v 1.3 Action potential generation	Chromogranin Vesicle packaging
	Panx1 ATP release channel	Excitation, transmitter release
		Na _v 1.2 Action potential generation
		Ca _v 2.1, Ca _v 1.2 Voltage-gated Ca ²⁺ current
		SNAP25 SNARE protein, exocytosis

Εικόνα 1.2. Τα τρία είδη κυττάρων στους γευστικούς κάλυκες

(Chaudhari, N., & Roper, S. D. (2010). The cell biology of taste. *The Journal of Cell Biology*, 190(3), 285–296)

1.3. Γευστικές ποιότητες και υποδοχείς γεύσης

Οι διάφορες χημικές ουσίες που έρχονται σε επαφή με τις μικρολάχνες των εξειδικευμένων επιθηλιακών γευστικών κυττάρων προκαλούν την αντίληψη των πέντε διαφορετικών γεύσεων: αλμυρή, ξινή, γλυκιά, πικρή και umami. Η ύπαρξη διακριτών ποιοτήτων γεύσης συνεπάγεται ότι η καθεμία έχει έναν ειδικό μηχανισμό κωδικοποίησης που διαμεσολαβείται από εξειδικευμένους υποδοχείς γεύσης (Bachmanov et al., 2014). Η αλμυρή

και η ξινή γεύση προκαλούνται από την μετακίνηση ιόντων μέσω πόρων της κυτταρικής μεμβράνης. Η γλυκιά, η πικρή και η umami γεύση προκαλούνται από την αλληλεπίδραση των ουσιών με διαμεμβρανικούς υποδοχείς των γευστικών κυττάρων που συνδέονται με G-πρωτεΐνες, ή αλλιώς GCRPs (G-protein coupled receptors), οι οποίες ενεργοποιούν τα συστήματα δεύτερων αγγελιαφόρων, αναλόγως του γευστικού μορίου. Ο τύπος G-πρωτεΐνης που αφορά τη γεύση έχει ταυτοποιηθεί ως α -γευστίνη (Fox, 2013).

Κάθε γευστικό κύτταρο είναι εξειδικευμένο για κάθε γεύση και διεγείρει αντίστοιχο γευστικό νευρώνα που μεταφέρει τα γευστικά σήματα στον εγκέφαλο. Παλαιότερα ήταν διαδεδομένη η πεποίθηση ότι υπήρχαν διαφορετικές περιοχές στη γλώσσα όπου ανιχνευόταν κάθε είδος γεύσης. Ωστόσο πλέον φαίνεται πως οι γευστικοί κάλυκες διαθέτουν γευστικά κύτταρα για όλα τα είδη γεύσης. Εκείνοι που οδηγούν στη διαφοροποίηση των γεύσεων είναι οι γευστικοί νευρώνες, οι οποίοι μεταφέρουν αισθητικές πληροφορίες για μία μόνο γεύση. Έτσι, οι σύνθετες γεύσεις είναι αποτέλεσμα μεταφοράς πληροφοριών από ένα σύνολο ενεργοποιημένων γευστικών νευρώνων σε συνδυασμό με την επίδραση της όσφρησης (Fox, 2013).

1.3.1. Αλμυρή γεύση

Η γεύση του αλμυρού δημιουργείται με τη διέγερση των γευστικών κυττάρων λόγω της παρουσίας ιόντων νατρίου (Na^+) ή άλλων κατιόντων στην τροφή. Τα γευστικά κύτταρα είναι εξειδικευμένα για την αλμυρή γεύση και ο βαθμός ενεργοποίησής τους καθορίζει την ποιότητα της γεύσης του αλμυρού. Τα κατιόντα νατρίου εισέρχονται στο εσωτερικό των ευαίσθητων οσφρητικών κυττάρων μέσω πόρων στην επιφάνεια της μεμβράνης τους, οδηγώντας στην εκπόλωση των κυττάρων και στην έκλυση του χημικού διαβιβαστή τους. Τα ανιόντα στα άλατα νατρίου (π.χ. Cl^-) επηρεάζουν την αντίληψη του αλμυρού, με το NaCl να έχει περισσότερο αλμυρή γεύση από άλλα άλατα. Τα ανιόντα διέρχονται με διαφορετική ταχύτητα από τις στεγανές συνδέσεις μεταξύ των γειτονικών γευστικών κυττάρων και πιο εύκολα περνούν τα ανιόντα χλωρίου (Cl^-). Το γεγονός αυτό πιθανόν να συνδέεται με την πιο αλμυρή γεύση του NaCl (Fox, 2013).

1.3.2. Ξινή γεύση

Η γεύση του ξινού οφείλεται στην παρουσία ιόντων υδρογόνου (H^+) στην τροφή, επομένως όλα τα οξέα έχουν ξινή γεύση. Η ένταση της ξινής γεύσης είναι ανάλογη της οξύτητας του οξέος (Hall, 2016). Τα ιόντα υδρογόνου μετακινούνται μέσω πόρων στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων και συντελούν στο κλείσιμο διαύλων καλίου και τελικά την εκπόλωση της μεμβράνης (Costanzo, 2010), (Fox, 2013).

1.3.3. Γλυκιά γεύση

Όσον αφορά τη γλυκιά γεύση, τα περισσότερα οργανικά μόρια, κυρίως τα σάκχαρα, αποδίδουν διάφορους βαθμούς γλυκύτητας όταν έρθουν σε επαφή με τους υποδοχείς που ελέγχουν οι G-πρωτεΐνες στα εξειδικευμένα γευστικά κύτταρα. Τα αμινοξέα φαινυλαλανίνη και τρυπτοφάνη και οι γλυκαντικές ουσίες ζαχαρίνη και κυκλαμινικό αποδίδουν γλυκιά γεύση με διάφορα συστήματα δεύτερων αγγελιαφόρων, ενεργοποιώντας μεμβρανικό ένζυμο που παράγει τους δεύτερους αγγελιαφόρους τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP_3) και διακυλογλυκερόλη (DAG) (Fox, 2013). Οι υποδοχείς του γλυκού που είναι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες είναι οι T1R2 και T1R3.

1.3.4. Πικρή γεύση

Η γεύση του πικρού προκαλείται από οργανικές ουσίες, κυρίως από ουσίες με μακρά αλυσίδα ατόμων άνθρακα που περιέχουν άζωτο, καθώς και από αλκαλοειδή, στα οποία συγκαταλέγονται η καφεΐνη, η στυχίνη, η νικοτίνη και η κινίνη (Hall, 2016). Η κινίνη διεγείρει τα γευστικά κύτταρα για την πικρή γεύση χωρίς να σχετίζεται με άλλα μόρια. Η πικρή γεύση είναι πιο έντονη από τις άλλες γεύσεις και έχει σχέση με τις δηλητηριώδεις τοξίνες, που συχνά είναι αλκαλοειδή (Fox, 2013). Τα γευστικά μόρια ενώνονται με τους υποδοχείς που συνδέονται με τις G-πρωτεΐνες και οδηγούν στη διάνοιξη των διαύλων παροδικού δυναμικού υποδοχέα, μέσω του μηχανισμού της 1,4,5 τριφωσφορικής ινοσιτόλης/ Ca^{2+} , και τελικά στην εκπόλωση της μεμβράνης (Costanzo, 2010). Η πικρή γεύση ανιχνεύεται από υποδοχέα GCRP τύπου 2, τον T2R που έχει 30 μέλη (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015).

Η σχέση της πικρής και γλυκιάς γεύσης έχει ενδιαφέρον. Πολύ μικρές μεταβολές στην δομή μιας ουσίας μπορούν να μετατρέψουν τη γεύση της από γλυκιά σε πικρή, ενώ υπάρχουν γλυκιές ουσίες που αφήνουν πικρή επίγευση, όπως η σακχαρίνη.

1.3.5. Umami γεύση

Η γεύση umami στα Ιαπωνικά σημαίνει “γευστικό” και σχετίζεται με τη γεύση του κρέατος και του γλουταμινικού μονονατρίου (MSG) από το αμινοξύ γλουταμινικό οξύ (Costanzo, 2010). Οι υποδοχείς GCRP για την umami γεύση είναι οι T1R1 και T1R3 που σχηματίζουν ετεροδιμερές. Στους ανθρώπους η ενεργοποίηση των umami υποδοχέων, γίνεται με τη σύνδεση των αμινοξέων L-γλουταμινικό και L-ασπαρτατικό στις G-πρωτεΐνες, τα οποία υπάρχουν σε όλες τις πρωτεΐνες της διατροφής και μεταδίδουν την γεύση umami (Fox, 2013).

1.3.6. Άλλες γευστικές ποιότητες

Το λίπος της διατροφής είναι γεγονός πως δημιουργεί σωματοαισθητικά ερεθίσματα λόγω της υφής του, ωστόσο τα ελεύθερα λιπαρά οξέα φαίνεται να προκαλούν και γευστικά ερεθίσματα. Υπάρχουν μάλιστα εξειδικευμένοι μεμβρανικοί υποδοχείς στους γευστικούς κάλυκες που ανιχνεύουν τα λιπαρά οξέα στην τροφή, με τον GPR120 να είναι ο πιο ισχυρός, ο οποίος ανιχνεύει μακράς αλύσου λιπαρά οξέα (Liman, Zhang & Montell, 2014), (Chaudhari & Roper, 2010). Συγκεκριμένα φαίνεται πως τα γευστικά κύτταρα τύπου II διαθέτουν υποδοχείς μακράς αλύσου λιπαρών οξέων, όπως GPR120 και CD36 (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015).

Μεταξύ άλλων βρίσκεται και η “γεύση του ασβεστίου”, η οποία απαιτεί λειτουργικό υποδοχέα T1R3, ο οποίος εμπλέκεται στην αντίληψη της γλυκιάς και της umami γεύσης (Tordoff et al., 2012), καθώς και η “γεύση του νερού”, στην οποία όμως επιδρά και το σωματοαισθητηριακό ερέθισμα της υγρασίας (Liman, Zhang & Montell, 2014).

1.4. Η μεταγωγή της γεύσης

Η αίσθηση της γεύσης παρέχεται από το κρανιακό νεύρο VII και IX. Το προσωπικό νεύρο (VII) νευρώνει τους γευστικούς κάλυκες στα δύο πρώτα τριτημόρια της γλώσσας, στις μυκητοειδείς θηλές, ενώ το γλωσσοφαρυγγικό νεύρο (IX) νευρώνει τους γευστικούς κάλυκες στο οπίσθιο τριτημόριο, στις καλυκοειδείς ή περιχαρακωμένες θηλές (Costanzo, 2010), (Hall, 2016). Το προσωπικό νεύρο (VII) διαθέτει δενδριτικές απολήξεις γύρω από τους γευστικούς κάλυκες, οι οποίες μεταφέρουν την αίσθηση της αφής και της θερμοκρασίας (Fox, 2013), (Clark-Gambelunghe & Clark, 2015). Επιπλέον, το κρανιακό νεύρο X ή αλλιώς πνευμονογαστρικό νευρώνει το οπίσθιο τοίχωμα του φάρυγγα και την επιγλωττίδα (Costanzo, 2010).

Ο μηχανισμός της μεταγωγής της γεύσης μπορεί να καταγραφεί επιγραμματικά ως εξής: η γευστική ουσία ενώνεται με τον γευστικό υποδοχέα και προκαλεί την ενεργοποίησή του, η οποία συντελεί σε ενεργοποίηση των ενδοκυτταρικών ενζύμων που παράγουν τους δεύτερους αγγελιαφόρους. Εκείνοι ρυθμίζουν μεμβρανικά ιοντικά κανάλια, και οδηγούν στην εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα την εισροή ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}) και την απελευθέρωσή τους από ενδοκυττάρια αποθήκες. Τέλος, απελευθερώνονται οι νευροδιαβιβαστές που ενεργοποιούν τους μετασυναπτικούς νευρώνες (Lindemann, 1996). Έτσι, η μεταγωγή της γεύσης οδηγεί στην εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης των γευστικών κυττάρων, η οποία έχει αρνητικό ηλεκτρικό φορτίο προς το εσωτερικό της (Hall, 2016).

Στο επίπεδο των προσαγωγών νευρικών ινών πρώτης τάξης δημιουργούνται δυναμικά ενέργειας, τα οποία εισέρχονται στο στέλεχος του εγκεφάλου (Costanzo, 2010). Στη συνέχεια τα τρία κρανιακά νεύρα ακολουθούν ανιούσα πορεία και φτάνουν στους πυρήνες της μονήρους δεσμίδας στον προμήκη μυελό, όπου βρίσκονται οι νευρώνες δεύτερης τάξης, οι οποίοι προβάλλουν στον έσω οπίσθιο κοιλιακό πυρήνα του θαλάμου. Από τον θάλαμο, οι νευρώνες τρίτης τάξης προβάλλουν στο κάτω άκρο της οπίσθιας κεντρικής έλικας του εγκεφαλικού φλοιού, τον γευστικό φλοιό (Costanzo, 2010), (Fox, 2013), (Hall, 2016).

Στο επίπεδο του γευστικού κάλυκα, τα γευστικά ερεθίσματα αρχικά στιγμιαία προκαλούν πολύ αυξημένο ρυθμό εκφόρτισης των νευρικών ινών, ο οποίος όμως στη συνέχεια φθίνει και φτάνει σε σταθερό επίπεδο. Έτσι παρατηρείται εξοικείωση και ένα γευστικό σήμα

ενώ στην αρχή είναι πολύ έντονο, στην πορεία είναι ασθενέστερο καθ' όλη τη διάρκεια της παρουσίας των γευστικών ερεθισμάτων στους γευστικούς κάλυκες. Ωστόσο έχει φανεί πως και το κεντρικό νευρικό σύστημα είναι υπεύθυνο για έναν μεγάλο βαθμό εξοικείωσης της αίσθησης της γεύσης, όμως ο μηχανισμός αυτός δεν είναι απόλυτα γνωστός (Hall, 2016). Κάθε γευστικός κάλυκας νευρώνεται από 3-14 νευρικές ίνες, αναλόγως της περιοχής (Chaudhari & Roper, 2010).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Η γλυκιά γεύση

2.1. Η σημασία της γλυκιάς γεύσης

Οι γευστικές προτιμήσεις των ανθρώπων είναι σε μεγάλο βαθμό έμφυτες και αποτελούν απόρροια της εξέλιξης, καθώς η πικρή γεύση συνδέεται με τοξικές ουσίες και αλλοιωμένα τρόφιμα, ενώ η γλυκιά με τρόφιμα ενεργειακά πλούσια και ασφαλή. Είναι γνωστό ότι τα νεογνά μπορούν να ανιχνεύσουν την ξινή, γλυκιά και πικρή γεύση, ενώ την αλμυρή πιθανόν μετά την ηλικία των 3-4 μηνών (Beauchamp et al., 1986). Η γλυκιά γεύση έμφυτα προκαλεί ευχαρίστηση και από την εμβρυική ηλικία επηρεάζει συστήματα που ελέγχουν τα συναισθήματα (Mennella, Bobowski & Reed, 2016). Χαρακτηριστικά, τα νεογνά προτιμούν το μητρικό γάλα σε σχέση με τη βρεφική φόρμουλα, διότι η ανθρώπινη πρωτεΐνη β-καζεΐνη είναι πιο γλυκιά από την α-καζεΐνη των βοοειδών (Clark-Gambelunghe & Clark, 2015).

Στα νεογνά έχει παρατηρηθεί θετική απόκριση στα γλυκά ερεθίσματα και ορισμένες χαρακτηριστικές εκφράσεις του προσώπου σε απάντηση στην δοκιμή σακχαρόζης σε πληθώρα μελετών. Κάποιες από αυτές είναι η χαλάρωση του προσώπου και το πιπίλισμα (sucking) (Rosenstein & Oster, 1988), ρυθμικές κινήσεις της γλώσσας προς τα έξω, απότομο άνοιγμα-κλείσιμο των χειλιών (“χτύπημα”) και σε κάποιες περιπτώσεις κίνηση των χειλιών προς τα πάνω με τέτοιο τρόπο που να θυμίζει χαμόγελο. Αυτές οι αντιδράσεις των νεογνών χαρακτηρίζονται ως ηδονική (hedonic) απόκριση και δημιουργούνται μόνο λόγω της αντίληψης της γλυκιάς γεύσης, ενώ αντίθετα στην πικρή γεύση τα νεογνά έχουν απόκριση αποστροφής (aversive) (Steiner et al., 2001).

Έχει φανεί ότι η προτίμηση στην γλυκιά γεύση είναι αυξημένη στην παιδική ηλικία αλλά σταδιακά μειώνεται μέχρι την ενηλικίωση, και αυτό ίσως συνδέεται με την ανάγκη τους σε ενέργεια για την ανάπτυξή τους (Mennella, Bobowski & Reed, 2016).

2.2. Μεταγωγή της γλυκιάς γεύσης

Σχετικά με τη μεταγωγή της γλυκιάς γεύσης έχουν προταθεί δύο μηχανισμοί. Ο πρώτος υποστηρίζει ότι οι G-πρωτεΐνες ενεργοποιούν την αδενυλική κυκλάση παράγοντας cAMP (κυκλικό AMP), που οδηγεί στην εκπόλωση των κυττάρων (Fox, 2013). Πιο συγκεκριμένα αναφέρεται ότι η δέσμευση των υποδοχέων T1R ενεργοποιεί την πρωτεΐνη G_s , η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί την αδενυλική κυκλάση και παράγεται cAMP. Το cAMP πιθανόν είτε προκαλεί την εισροή κατιόντων μέσω συγκεκριμένων καναλιών, είτε ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση A (PKA) που φωσφορυλιώνει και κλείνει κανάλια καλίου (K^+), με αποτέλεσμα την εκπόλωση του κυττάρου, την εισροή Ca^{2+} και την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών (Margolskee, 2002).

Σύμφωνα με τον δεύτερο μηχανισμό, τα γλυκά γευστικά ερεθίσματα έρχονται σε επαφή με τους υποδοχείς και μέσω των G-πρωτεϊνών προκαλείται ενεργοποίηση του μεμβρανικού υποδοχέα φωσφολιπάση $C\beta 2$ (PLC $\beta 2$), παράγοντας τους δεύτερους αγγελιαφόρους τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP_3), διακυλογλυκερόλη (DAG) και H^+ . Η IP_3 ενεργοποιεί τον υποδοχέα IP_3R3 με αποτέλεσμα να απελευθερώνεται ενδοκυττάριο ασβέστιο (Ca^{2+}) και να ανοίγουν τα κανάλια TRPM5 (transient receptor potential cation channel, υποοικογένεια M, μέλος 5), που κωδικοποιούνται από το *Trpm5*. Αυτό συντελεί στην αποπόλωση του κυττάρου, στην παραγωγή δυναμικού ενέργειας και στην απελευθέρωση ATP από ιοντικά κανάλια CALHM1 (calcium homeostasis modulator 1), που βρίσκονται στους γευστικούς κάλυκες (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015), (Liman, Zhang & Montell, 2014), (Taruno et al., 2013).

Αξίζει να αναφερθεί πως η αδενοσίνη δρα στους υποδοχείς αδενοσίνης A2B, που διαθέτουν μερικοί υποδοχείς T1R, οι οποίοι σε ενεργοποίησή τους από γλυκά ερεθίσματα αυξάνουν την απελευθέρωση ATP (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015).

2.3. Η αντίληψη της γλυκιάς γεύσης

2.3.1. Υποδοχείς T1R2/T1R3

Οι υποδοχείς της γλυκιάς γεύσης ανήκουν στους GCRPs (G-protein coupled receptors), δηλαδή στους διαμεμβρανικούς υποδοχείς που είναι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες, και συγκεκριμένα κατατάσσονται στην κατηγορία (class) C. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν οι μεταβοτροπικοί (metabotropic) υποδοχείς γλουταμινικού (mGluRs), υποδοχείς γ-αμινοβουτυρικού οξέος τύπου B (GABA_BRs), υποδοχείς ασβεστίου Ca²⁺ (CaSR), υποδοχείς γεύσης (T1R), υποδοχείς φερομονών (V2R) και οσφρητικοί υποδοχείς. Οι υποδοχείς αυτοί έχουν μια εξωκυτταρική περιοχή που ονομάζεται “εντομοπαγίδα της Αφροδίτης” (Venus Flytrap Module VFTM) όπου συνδέονται οι αγωνιστές, καθώς και μια διαμεμβρανική περιοχή με επτά έλικες (HD ή TMD, Heptahelical Transmembrane Domain) που ενεργοποιεί την G-πρωτεΐνη. Οι περισσότεροι υποδοχείς διαθέτουν και μια περιοχή πλούσια σε κυστεΐνη μεταξύ VFTM και TMD, την CRD (Cysteine-Rich Domain) (Cao, Huang et al., 2009). Διάφορα γλυκαντικά προσδένονται σε μία από τις τρεις περιοχές, και ίσως σε αυτό να οφείλεται η διαφορετική αντίληψη κάθε γλυκαντικής ουσίας (Liman, Zhang & Montell, 2014). Φαίνεται πως οι περιοχές TMD των υποδοχέων T1R2 και T1R3 έχουν μέτρια ομοιότητα αλληλουχίας στο 28%, γεγονός που υποδηλώνει διαφορετικό λειτουργικό ρόλο (Chéron et al., 2017).

Στον άνθρωπο και στα θηλαστικά οι πρωτεϊνικοί υποδοχείς T1R περιλαμβάνουν τους T1R2, T1R2 και T1R3, των οποίων τα γονίδια αναφέρονται ως *TAS1R1*, *TAS1R2* και *TAS1R3* στον άνθρωπο και *Tas1r1*, *Tas1r2* και *Tas1r3* σε άλλα είδη. Τα γονίδια αυτά βρίσκονται στον βραχύ βραχίονα του χρωμοσώματος 1 (1p36) με σειρά *TAS1R2*—*TAS1R1*—*TAS1R3*. Για την αντίληψη της γλυκιάς γεύσης ευθύνονται οι υποδοχείς T1R2 και T1R3, οι οποίοι σχηματίζουν ετεροδιμερές που αποκρίνεται στη σακχαρόζη και σε πολλά γλυκά ερεθίσματα (Bachmanon et al., 2014), (Li et al., 2002). Ο υποδοχέας T1R3 ευθύνεται για την αντίληψη των υψηλών συγκεντρώσεων γλυκόζης και γλυκαντικών (Liman, Zhang & Montell, 2014).

Υποδοχείς T1R έχουν ανακαλυφθεί στον στόμαχο και στο έντερο, και φαίνεται να επηρεάζουν την έκφραση ορμονών όπως το GLP-1 (glycagon-like peptide 1), οπότε πιθανόν λειτουργούν ως υποδοχείς γλυκόζης. Ο τρόπος με τον οποίο γίνεται αυτό είναι ο εξής: οι υποδοχείς T1R στο έντερο αποκρίνονται στα γλυκά ερεθίσματα και ρυθμίζουν την έκκριση της πρωτεΐνης SGLT-1. Η πρωτεΐνη αυτή ευθύνεται για τη μεταφορά των σακχάρων εντός των λιποκυττάρων από τον εντερικό αυλό και ανήκει στις SGLT, οι οποίες ρυθμίζουν ανοδικά την

έκκριση GLP-1. Επίσης, υποδοχείς T1R υπάρχουν και στα β-κύτταρα του παγκρέατος και φαίνεται να επιδρούν στην έκκριση ινσουλίνης (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015).

Μέρη του συστήματος σηματοδότησης της γλυκιάς γεύσης όπως το mRNA και η G-πρωτεΐνη του διμερούς του υποδοχέα της γλυκιάς γεύσης (T1R2/T1R3) εκφράζονται στα β-κύτταρα του παγκρέατος και στα κύτταρα MIN6 του ινσουλινώματος, ενός νεοπλάσματος του παγκρέατος. Έχει παρατηρηθεί πως πολλά γλυκαντικά, δρώντας ως ανταγωνιστές της γλυκόζης και ενεργοποιώντας τον υποδοχέα γλυκιάς γεύσης, προκαλούν έκκριση ινσουλίνης από τα κύτταρα MIN6 με μηχανισμούς εξαρτώμενους από Ca^{2+} και cAMP (κυκλικό AMP). Έτσι, το σύστημα αίσθησης της γλυκιάς γεύσης είναι λειτουργικό και στο πάγκρεας (Nakagawa et al., 2009).

2.3.2. α-γευστίνη

Οι G-πρωτεΐνες είναι ετεροτριμερείς πρωτεΐνες που αποτελούνται από τις υπομονάδες α, β και γ, και δεσμεύονται με GTP. Η α-υπομονάδα τους παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία και σε αυτό οφείλεται η εξειδίκευση της μεταγωγής των σημάτων (McLaughlin, McKinnon & Margolskee, 1992). Η γλυκιά γεύση μεταδίδεται ενδοκυτταρικά με την G-πρωτεΐνη α-γευστίνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο *GNAT3* (Mennella, Bobowski & Reed, 2016) και εκφράζεται κυρίως στις μυκητοειδείς θηλές (Tomonari et al., 2012). Η δέσμευση μιας γλυκιάς ουσίας στους υποδοχείς T1R ενεργοποιεί την α-υπομονάδα, η οποία δρα ως δεύτερο μήνυμα απελευθερώνοντας τις υπομονάδες βγ (Chandrashekar et al., 2006). Το ετεροδιμερές β3γ13 της γευστίνης ενεργοποιεί τη φωσφολιπάση Cβ2 (PLCβ2), με αποτέλεσμα να παράγεται διακυλογλυκερόλη (DAG) και τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP_3) που ενεργοποιεί τον υποδοχέα IP_3R3 και έτσι απελευθερώνεται αποθηκευμένο ασβέστιο Ca^{2+} (Clapp et al., 2008).

Ο τρόπος δράσης της α-γευστίνης (Gα) στην γεύση δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως, αλλά φαίνεται να εμπλέκεται στην παραγωγή του cAMP. Σε απουσία της α-γευστίνης έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα cAMP ενδοκυτταρικά, επιδρώντας στην αντίληψη της γλυκιάς γεύσης (Spielman, 1998). Σε αυτό συνηγορεί και μία άλλη έρευνα που έδειξε ότι ακόμα και σε απουσία γευστικού ερεθίσματος, η α-γευστίνη είναι δραστική και ρυθμίζει μια

φωσφοδιεστεράση (PDE), οποία ελέγχει τα επίπεδα cAMP στους γευστικούς κάλυκες. Και πάλι φάνηκε πως σε απουσία της α-γευστίνης σε ποντίκια παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα cAMP. Έτσι, μια σημαντική λειτουργία της α-γευστίνης πιθανόν να είναι η διατήρηση χαμηλών επιπέδων του cAMP στα γευστικά κύτταρα. Εκτός αυτού, προτάθηκε ότι η α-γευστίνη ρυθμίζει την μεσολαβούμενη από πρωτεϊνική κινάση A (PKA) αναστολή των PLCβ2 και IP3R3, οι οποίοι ενεργοποιούν την απελευθέρωση Ca^{2+} . Επομένως, ένας ακόμα ρόλος της α-γευστίνης στη γεύση πιθανόν είναι να διατηρεί τους γευστικούς κάλυκες σε μια ενεργή κατάσταση, έτοιμους να ανταποκριθούν σε ερεθίσματα γεύσης με ισχυρά σήματα Ca^{2+} (Clapp et al., 2008).

2.3.3. Πολυμορφισμοί

Οι υποδοχείς της γλυκιάς γεύσης καθώς και οι G-πρωτεΐνες υπάγονται σε γονιδιακή ρύθμιση, επομένως εκφράζονται διαφορετικά σε κάθε άνθρωπο. Αυτό συντελεί σε διαφορετικές γευστικές προτιμήσεις συνολικά αλλά και σε διαφορετική ευαισθησία στη γλυκιά γεύση, καθώς το κατώφλι αντίληψης του γλυκού επηρεάζεται από αλλαγές στο γονίδιο *TAS1R3* του υποδοχέα T1R3 και στο γονίδιο *GNAT3* της α-γευστίνης. Συγκεκριμένα, ενήλικα άτομα με γονότυπο CC για το γονίδιο *TAS1R3* (rs1015443) ή TT για το *GNAT3* (rs7792845) έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία στη γλυκιά γεύση, δηλαδή την ανιχνεύουν σε μικρότερες συγκεντρώσεις, από τα άτομα με γονότυπο TT, και CC αντίστοιχα (Mennella, Bobowski & Reed, 2016).

Όσον αφορά τα παιδιά, η προτίμηση στη γλυκιά γεύση επηρεάζεται από το γονίδιο *TAS2R38* των υποδοχέων της πικρής γεύσης (T2Rs). Τα παιδιά που έχουν γονότυπο με το αλληλόμορφο “ευαισθησίας” στην πικρή γεύση έχουν χαμηλότερα κατώφλια αντίληψης της γλυκιάς γεύσης και τείνουν να προτιμούν μεγαλύτερα επίπεδα σακχαρώδους από ότι τα παιδιά με το αλληλόμορφο “μη ευαίσθητο” στην πικρή γεύση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να ακολουθούν διατροφή με περισσότερα γλυκά τρόφιμα και κατ’ επέκταση να καταναλώνουν περισσότερη προστιθέμενη ζάχαρη και θερμίδες, οπότε αυξάνεται ο κίνδυνος παχυσαρκίας. Επίσης το αυξημένο σωματικό λίπος σχετίζεται με μειωμένο κατώφλι αντίληψης της γλυκιάς γεύσης (Joseph, Reed & Mennella, 2016).

Δύο C/T μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNP) στις θέσεις -1572 (rs307355) και -1266 (rs35744813) του γονιδίου *TAS1R3* σχετίζονται ισχυρά με την ευαισθησία στη σακχαρώδη και εξηγούν το 16% της μεταβλητότητας της αντίληψης στον πληθυσμό. Οι άνθρωποι με το αλληλόμορφο T έχουν μειωμένη αντίληψη της σακχαρώδους σε σχέση με όσα έχουν το αλληλόμορφο C σε αυτές τις θέσεις, καθώς το αλληλόμορφο T του κάθε SNP οδηγεί σε μειωμένη δραστηριότητα του υποκινητή σε σύγκριση με το αλληλόμορφο C, επιδρώντας στην μετάφραση του γονιδίου. Η παρουσία του T αλληλομόρφου σχετίζεται με μειωμένη ικανότητα διάκρισης της γλυκύτητας και συγκεκριμένα οι ετεροζυγώτες με C/T αλληλόμορφα παρουσίασαν 25% μείωση της ευαισθησίας στην σακχαρώδη, ενώ οι ομοζυγώτες με T/T αλληλόμορφα 50%. Ο γονότυπος C-C είναι ο πιο διαδεδομένος σε όλες τις γεωγραφικές περιοχές εκτός από την Αφρική, ο T-T είναι διανεμημένος ομοιόμορφα παγκοσμίως αλλά πολύ πιο συχνός στην Αφρική, ενώ ο C-T εμφανίζεται σπάνια και κυρίως στην Αφρική (Fushan et al., 2009).

Το γονίδιο *TAS1R2* χαρακτηρίζεται από μεγάλη γενετική ποικιλότητα, όμως υπάρχουν δύο συχνοί πολυμορφισμοί που οδηγούν σε υποκατάσταση αμινοξέων, οι Ser9Cys, δηλαδή υποκατάσταση της σερίνης με κυστεΐνη στη θέση 9, και Ile191Val, δηλαδή υποκατάσταση της ισολευκίνης με βαλίνη στη θέση 191. Αυτοί οι πολυμορφισμοί έχει παρατηρηθεί ότι επιδρούν στην κατανάλωση υδατανθράκων και ζάχαρης, λαμβάνοντας υπόψιν την επίδραση του δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ). Πιο συγκεκριμένα, οι φορείς του αλληλομόρφου της βαλίνης που είχαν $\Delta\text{ΜΣ} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ (υπέρβαρο ή παχυσαρκία) φάνηκε να καταναλώνουν λιγότερους υδατάνθρακες, πρωτεΐνη και θερμίδες από ότι οι ομοζυγώτες του αλληλομόρφου της ισολευκίνης. Έτσι φαίνεται πως η ύπαρξη του πολυμορφισμού Ile191Val μειώνει την κατανάλωση σακχάρων στους υπέρβαρους και παχύσαρκους (Eng et al., 2010).

2.4. Παράγοντες που επιδρούν στην αντίληψη της γλυκιάς γεύσης

Η αντίληψη της γεύσης έχει μεγάλη σημασία για την κατανάλωση τροφής, και άρα ενέργειας που είναι απαραίτητη για την λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού, αλλά επηρεάζει επίσης τις τροφικές επιλογές των ανθρώπων διαμέσου των προσωπικών γευστικών προτιμήσεων. Στα παιδιά αλλά και στους ενήλικες παρατηρείται εύρος στην ευαισθησία στη

γλυκιά γεύση, εν μέρει λόγω της ποικιλίας των γονιδίων των υποδοχέων γεύσης και measures of obesity (Mennella, Bobowski & Reed, 2016). Όπως προαναφέρθηκε, με την πάροδο των ετών η αντίληψη της γλυκιάς γεύσης γίνεται πιο έντονη, και αυτό πιθανόν σχετίζεται με τις αυξημένες ανάγκες για γλυκόζη λόγω της αυξημένης ανάπτυξης στις μικρές ηλικίες.

2.4.1. Ορμονικοί παράγοντες

Οι γευστικοί υποδοχείς στην στοματική κοιλότητα παρουσιάζουν ενδοκρινή λειτουργία διότι παράγουν και εκκρίνουν ορμόνες, οι οποίες ενδεχομένως δρουν τοπικά αλλά εισέρχονται και στην κυκλοφορία. Η χρησιμότητα αυτής της λειτουργίας μπορεί να αφορά την κεφαλκή φάση απόκρισης στην κατανάλωση τροφής, καθώς η πρώτη επαφή της εισερχόμενης τροφής είναι με τα γευστικά κύτταρα (Mennella, Bobowski & Reed, 2016). Ορισμένες νευροπεπτιδικές ορμόνες επηρεάζουν την όρεξη δρώντας στον εγκέφαλο και ρυθμίζουν την μεταγωγή της γεύσης στο επίπεδο του γευστικού κάλυκα (Chaudhari & Roper, 2010).

- **CCK & NPY**

Οι λειτουργίες των ορμονών χολοκυστοκινίνη (CCK) και νευροπεπτίδιο Υ (NPY) στους γευστικούς κάλυκες έχει παρατηρηθεί πως εμπλέκονται στην αντίληψη της γλυκιάς γεύσης. Η CCK δρα αυτοκρινώς μέσω του υποδοχέα χολοκυστοκινίνης τύπου Α (CCK-AR), και φαίνεται πως ποντίκια που δεν διαθέτουν CCK-AR έχουν αυξημένη απόκριση στη γλυκιά γεύση. Το NPY δρα ως ανταγωνιστής CCK και ασκεί αρνητική ρύθμιση στην απόκριση στα γλυκά και umami ερεθίσματα (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015).

- **Γλυκαγόνη, GLP-1 & GLP-2**

Οι ορμόνες γλυκαγόνη, GLP-1 και GLP-2 έχουν ανακαλυφθεί στους γευστικούς υποδοχείς T1R στα γευστικά κύτταρα τύπου II. Η γλυκαγόνη ενισχύει τη μετάδοση της γλυκιάς γεύσης, οπότε σε περίπτωση διαταραχής της στους γευστικούς κάλυκες παρατηρείται μειωμένη μετάδοση της γλυκιάς γεύσης, και η έκκρισή της μειώνεται ως απόκριση σε γλυκά ερεθίσματα (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015). Το GLP-1 εκφράζεται και στα γευστικά κύτταρα

τύπου III και συμβάλλει στην μετάδοση της γλυκιάς γεύσης πιθανόν παρακρινικά. Σε ποντίκια που δεν έχουν υποδοχείς του GLP-1 έχει παρατηρηθεί μειωμένη ευαισθησία και απόκριση σε γλυκά ερεθίσματα (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015), (Shin, Martin et al., 2008).

- **VIP**

Το αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο (VIP) εκφράζεται στα γευστικά κύτταρα που διαθέτουν τους υποδοχείς της γλυκιάς γεύσης T1R2 και T1R3. Από μελέτη σε ποντίκια φάνηκε ότι εκείνα που δεν εκκρίνουν VIP έχουν βελτιωμένη αντίληψη των γλυκών ερεθισμάτων και παρουσιάζουν αυξημένο αριθμό κυττάρων που εκφράζουν GLP-1 στους γευστικούς κάλυκες. Κάτι τέτοιο υποδηλώνει την ύπαρξη εσωτερικής ρύθμισης της ισορροπίας του αριθμού των κυττάρων που εκφράζουν είτε GLP-1 είτε VIP (Martin et al., 2010).

- **Λεπτίνη**

Υποδοχείς της λεπτίνης (Ob-Rb) βρίσκονται στα γευστικά κύτταρα τύπου II, συχνότερα σε όσα έχουν υποδοχείς T1R3, και ενεργοποιούν κανάλια K^+ . Αυτή η ενεργοποίηση αυξάνει την απελευθέρωση ATP και την δραστηριότητα των γευστικών νευρώνων, με αποτέλεσμα να εντείνεται η αντίληψη της γλυκιάς γεύσης. Επομένως στην περίπτωση ευαισθησίας στη λεπτίνη η προτίμηση σε κάτι γλυκό είναι μειωμένη, ενώ σε αντίσταση στη λεπτίνη, όπως παρατηρείται στην παχυσαρκία, αυτός ο μηχανισμός ρύθμισης καταστέλλεται (Yoshida et al., 2015), (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015).

Οι ορμονικοί παράγοντες επηρεάζονται στις βariatρικές επεμβάσεις και στα άτομα που υποβλήθηκαν σε γαστρική παράκαμψη Roux-en-Y (RYGB) έχει παρατηρηθεί μείωση στην προτίμηση στα γλυκά τρόφιμα. Ωστόσο δεν υπάρχουν μελέτες που να εξηγούν αν αυτές οι επεμβάσεις επιδρούν στους γευστικούς κάλυκες ή στις ορμόνες τους (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015).

- **Μικροβίωμα εντέρου**

Το μικροβίωμα του εντέρου επίσης επιδρά στην κατανάλωση γλυκών τροφίμων. Έχει φανεί ότι τα ποντίκια χωρίς μικροβίωμα καταναλώνουν περισσότερο τα γλυκά διαλύματα και αυτό σχετίζεται με την αυξημένη έκφραση των γονιδίων των υποδοχέων T1R, της α-γευστικής και του SGLT-1, καθώς και με την αύξηση των μεταφορέων γλυκόζης στο έντερο. Η προτίμηση στα περισσότερα γλυκά διαλύματα μπορεί να αποτελεί ομοιοστατικό μηχανισμό ρύθμισης της μειωμένης γλυκόζης στο αίμα των άπαχων (lean) ποντικών. Ο μηχανισμός αυτός πιθανόν να εξηγεί και την προτίμηση των lean ποντικών στο λίπος της τροφής. Το μικροβίωμα του εντέρου ρυθμίζει τα επίπεδα των υποδοχέων των λιπαρών οξέων και των ορεξιογόνων και ανορεξιογόνων ορμονών στο έντερο (Santa-Cruz Calvo & Egan, 2015).

2.4.2. Ψυχολογικοί παράγοντες

Οι περιοχές εγκεφάλου που είναι υπεύθυνες για την κατάθλιψη και το άγχος και εκείνες που ελέγχουν την αίσθηση της γεύσης και των προτιμήσεων, αλληλεπικαλύπτονται. Η αμυγδαλή σχετίζεται με την κατάθλιψη και το άγχος και επίσης εμπλέκεται στο νευρικό κύκλωμα των γευστικών κέντρων στον εγκέφαλο. Επιπλέον, τα οιστρογόνα καθώς και η προγεστερόνη και οι μεταβολίτες της, μεταβάλλοντας περιοδικά τις συγκεντρώσεις τους στον εμμηνορρυσιακό κύκλο, δρουν άμεσα στους νευρώνες της αμυγδαλής, άρα πιθανόν επηρεάζουν την αντίληψη της γλυκιάς γεύσης, ωστόσο οι μηχανισμοί δεν είναι ακόμα γνωστοί (Nagai et al., 2015).

Η μελέτη των Arrondo και συν. (2015) αφορούσε γυναίκες με κατάθλιψη και οριακή διαταραχή προσωπικότητας (borderline personality disorder BPD). Παρατηρήθηκε ότι στην ομάδα των ατόμων με BPD υπήρχε μη φυσιολογική εκτίμηση ευχαρίστησης και αηδίας μετά την πρόσληψη γλυκών γευστικών ερεθισμάτων, ενώ δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ των ομάδων κατάθλιψης και ελέγχου, ευρήματα που υποδεικνύουν ότι η ηδονική εμπειρία τόσο των θετικών όσο και των αρνητικών ερεθισμάτων γεύσης είναι αρνητικά προδιατεθειμένη στην BPD. Στην BPD παρατηρείται αίσθημα αηδίας του ατόμου προς τον εαυτό του (self-disgust), το οποίο πυροδοτείται από εξωτερικά ερεθίσματα και φαίνεται να προκαλεί αρνητικές φυσικές αισθήσεις όπως η ναυτία, ενώ μπορεί να βλάψει την απόλαυση των ερεθισμάτων που συνήθως θεωρούνται ευχάριστα, όπως η γλυκιά γεύση.

Τέλος, στην μελέτη των Wang & Spence (2017), παρατηρήθηκε η επίδραση οπτικών και ακουστικών ερεθισμάτων στην αντίληψη της γλυκύτητας. Συγκεκριμένα, οι συμμετέχοντες που δοκίμασαν το μίγμα χυμού ενώ λάμβαναν θετικά οπτικά ή ακουστικά ερεθίσματα, το αξιολόγησαν ως περισσότερο γλυκό σε σύγκριση με όταν τους παρουσιάστηκαν αρνητικά ερεθίσματα.

2.4.3. Συσχέτιση με την αντίληψη πόνου

Η επίδραση της γλυκιάς γεύσης στους μηχανισμούς αντίληψης πόνου έχει μελετηθεί στα βρέφη κατά το τρύπημα της φτέρνας στην δοκιμασία φαινυλκετονουρίας (PKU). Φαίνεται ότι η γλυκιά γεύση επάγει ισχυρά την αναλγησία στην πλειονότητα των βρεφών και των νεογέννητων. Το πιπίλισμα «γλυκιάς» πιπίλας μείωσε την αύξηση του καρδιακού ρυθμού, το κλάμα και τους μορφασμούς των βρεφών τόσο κατά τη διάρκεια όσο μετά την δοκιμασία PKU. Έτσι, η σύνδεση των μορφασμών με τη μείωση του κλάματος και την ελάχιστη αλλαγή στον καρδιακό ρυθμό σε βρέφη που δόθηκαν σακχαρόζη ή γλυκιά πιπίλα, τόσο πριν όσο και κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας, υποδηλώνει ότι οι γκριμάτσες αντικατοπτρίζουν την υποκείμενη αιτία της αντίληψης του πόνου (Blass & Watt, 1999). Εκτός αυτού όμως, έχει φανεί ότι πριν τον εμβολιασμό, τα βρέφη ηλικίας 1-12 μηνών στα οποία δόθηκε σακχαρόζη ή γλυκόζη έκλαψαν λιγότερο και για μικρότερη χρονική διάρκεια (Harrison et al., 2010).

Όσον αφορά την παιδική ηλικία και την προεφηβεία, τα αποτελέσματα της έρευνας των Miller, Barr & Young (1994) έδειξαν ότι η από του στόματος σακχαρόζη μπορεί να καθυστερεί την εκδήλωση πόνου στα παιδιά που υποβάλλονται σε CPT (Cold Pressor Test, δοκιμασία βύθισης του χεριού σε κρύο νερό), δηλαδή να ανεβάζει το κατώφλι αντίληψης πόνου. Σε μία άλλη μελέτη, η επίδραση της γλυκιάς γεύσης στην αντίληψη του πόνου σχετίστηκε με την ηδονική απόκριση. Τα παιδιά που προτιμούσαν υψηλά επίπεδα σακχαρόζης εμφάνισαν ανοχή στον πόνο για σημαντικά μεγαλύτερες χρονικές περιόδους όταν τους δόθηκε διάλυμα σακχαρόζης από όταν τους δόθηκε νερό. Η σακχαρόζη έδρασε ως αναλγητικό μόνο σε όσα παιδιά ήταν φυσιολογικού βάρους και όχι σε όσα ήταν υπέρβαρα, ωστόσο η αιτία αυτού του ευρήματος δεν είναι γνωστή (Pepino and Mennella, 2005).

2.4.4. Συσχέτιση με παχυσαρκία και Σακχαρώδη Διαβήτη

Οι γευστικές προτιμήσεις κάθε ατόμου, εκτός του ότι είναι έμφυτες, διαπλάθονται σε σημαντικό βαθμό σε μικρή ηλικία και αποτυπώνονται στις διαιτητικές επιλογές του (Mennella, Bobowski & Reed, 2016). Οι διαιτητικές επιλογές με τη σειρά τους επηρεάζουν το σωματικό βάρος και συνεπώς στην υγεία του ανθρώπινου οργανισμού (Barlow & Klein, 2015), (Bachmanov et al., 2014). Από την άλλη, η παχυσαρκία και ο σακχαρώδης διαβήτης επιδρούν στις γευστικές προτιμήσεις, συγκεκριμένα μειώνοντας την ευαισθησία στη γλυκιά γεύση. Πειράματα σε ποντίκια έδειξαν πως εκείνα που ακολουθούσαν δίαιτα υψηλή σε λιπαρά χρειάζονταν περισσότερα γλυκά και λιπαρά γεύματα, πιθανόν λόγω αλλαγών στην κατανομή και τον αριθμό των υποδοχέων των γευστικών κυττάρων (Barlow & Klein, 2015).

Στην μελέτη των Cornier et al. (2015) μελετήθηκε η νευρωνική απόκριση σε γλυκά ερεθίσματα ως απάντηση σε βραχυπρόθεσμη ενεργειακή ανισορροπία σε άτομα “ανθεκτικά” στην αύξηση σωματικού βάρους και στην παχυσαρκία (obesity resistant – OR) και σε άτομα “επιρρεπή” (obesity prone – OP). Φάνηκε πως η νευρωνική απόκριση σε κυκλώματα περιοχής εγκεφάλου που είναι σημαντικά για τη ρύθμιση υψηλότερης τάξης της πρόσληψης τροφής, που σχετίζεται με την ανταμοιβή, τα κίνητρα και το περιβάλλον, η προσδοκία βασικής γλυκιάς γεύσης ρυθμίζεται προς τα κάτω, δηλαδή εξασθενεί σημαντικά στα “επιρρεπή” (OP) άτομα (Cornier et al., 2015). Επίσης έχει φανεί πως άτομα με υψηλό ΔΜΣ γεύονται λιγότερο έντονα την γλυκιά γεύση και έχουν αυξημένη προτίμηση σε αυτήν, ωστόσο δεν παρουσιάζουν διαφορές στο κατώφλι αντίληψης αυτής σε σχέση με τους νορμοβαρείς (Low, Lacy & Keast, 2014).

Όσον αφορά τη συσχέτιση με τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, στην μελέτη των De Carli et al. (2017) φάνηκε πως το κατώφλι αντίληψης της γλυκιάς γεύσης ήταν υψηλότερο στα άτομα με ΣΔ2 και η παχυσαρκία κεντρικού τύπου συνδέθηκε ισχυρά με αυτήν την αλλαγή. Αυτό μπορεί να αυξήσει την κατανάλωση γλυκών τροφίμων, γεγονός που με τη σειρά του απορρυθμίζει τα επίπεδα γλυκόζης του αίματος και δυσχεραίνει τον μεταβολικό έλεγχο. Η υπογευσία πιθανόν αποτελεί κομμάτι της νευροπάθειας στα διαβητικά άτομα και επιδρά

αρνητικά στην προσκόλλησή τους στις διατροφικές συστάσεις (De Carli et al., 2017). Γενικότερα, η συσχέτιση της παχυσαρκίας και των συνοδών νοσημάτων με την αντίληψη της γλυκιάς γεύσης είναι αναμενόμενη και από το πρίσμα ότι σε αυτές τις καταστάσεις επηρεάζονται οι ορμόνες που σχετίζονται με την όρεξη, οι οποίες με τη σειρά τους επιδρούν στην αντίληψη της γλυκιάς γεύσης με τους μηχανισμούς που προαναφέρθηκαν στο 2.4.1.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Ουδός αντίληψης της γλυκιάς γεύσης

3.1. Η θεωρία του κατώφλιου

Η ουδός ή το κατώφλιο (threshold) εισήχθη ως όρος από τους ψυχοφυσικούς του 19ου αιώνα και αναφέρεται στο ερέθισμα που καθορίζει το κατώτατο όριο ευαισθησίας του αισθητικού συστήματος, κάτω από το οποίο τα ερεθίσματα δεν γίνονται αντιληπτά. Συγκεκριμένα ορίζεται ως η «δόση» ερεθίσματος που οδηγεί σε μια επιλεγμένη πιθανότητα σωστής απόκρισης βάσει ενός μοντέλου δόσης-απόκρισης (dose-response model). Η δόση μπορεί να αντιπροσωπεύει την ποσότητα, τη διάρκεια ή την ένταση της έκθεσης ή της θεραπείας και η απόκριση μπορεί να αντιπροσωπεύει την ανίχνευση/μη ανίχνευση και την επίδραση. Με το μοντέλο δόσης-απόκρισης μπορεί να εκτιμηθεί η ED100p, δόση η οποία αντιστοιχεί σε 100% πιθανότητα αποκρίσεων. Η δόση διάμεσης δράσης ED50 ορίζεται συνήθως ως το κατώφλιο. Έτσι το κατώφλιο θεωρείται το μεταβατικό σημείο ανάμεσα στην αίσθηση και στη μη αίσθηση, το οποίο θεωρητικά είναι ανεξάρτητο από συνθήκες, ωστόσο πολλοί ψυχολογικοί και φυσιολογικοί παράγοντες φαίνεται πως το μεταβάλλουν (Bi, 2015, p. 329).

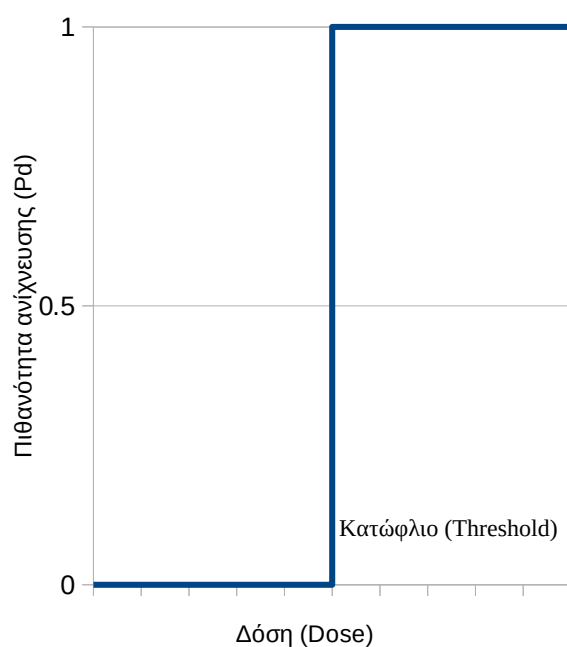
3.1.1. Απόλυτο κατώφλιο

Με τον όρο «απόλυτο κατώφλιο» χαρακτηρίζεται η ελάχιστη ενέργεια που γίνεται αντιληπτή από τον εκτιμητή (το άτομο που υπόκειται στη δοκιμασία), κάτω από την οποία δεν υπάρχει αντίληψη αίσθησης. Ο όρος αυτός υπακούει στην αρχή του «όλου ή μηδενός» που αναπαρίσταται ως γράφημα της πιθανότητας ανίχνευσης στο σχήμα 3.1 (Lawless, 2013, p. 4). Ωστόσο στην πράξη η πιθανότητα ανίχνευσης βάσει της ενέργειας σχηματίζει σιγμοειδή καμπύλη (σχήμα του “κώδωνα”) με το κατώφλιο να κυμαίνεται έτσι ώστε μια συγκεκριμένη ενέργεια να το υπερβαίνει σε ορισμένες περιπτώσεις, όμως όχι σε άλλες (Σχήμα 3.2.). Το κατώφλιο μπορεί να εκτιμηθεί ως ο μέσος όρος των στιγμιαίων τιμών ενέργειας, δηλαδή ως η συγκέντρωση ερεθίσματος για την οποία η πιθανότητα ανίχνευσης είναι 0,5 (ISO 13301:2002). Έτσι το κατώφλιο γίνεται αντιληπτό ως στατιστική οντότητα και όχι ως ένα σταθερό σημείο (Lawless, 2013, p.4) και ορίζεται ως η μικρότερη συγκέντρωση ερεθίσματος που ανιχνεύεται

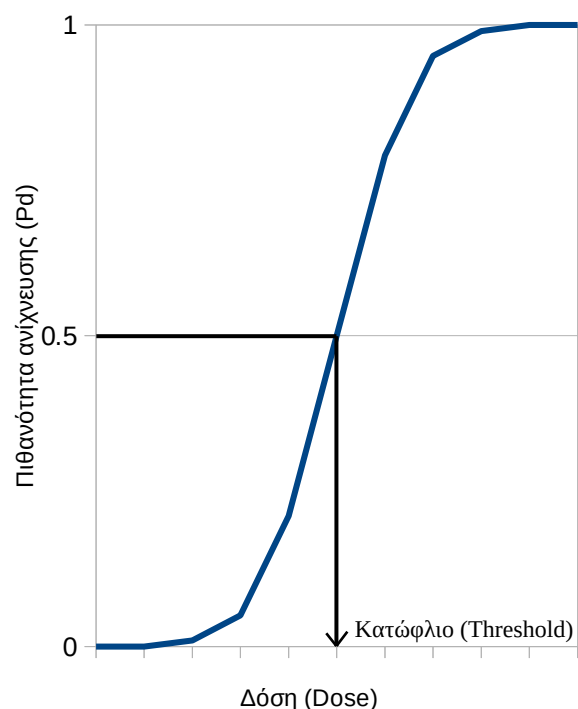
39

στο 50% των δοκιμών από ένα εκτιμητή ή από το 50% του συνόλου των εκτιμητών (Lawless, 2012, p. 37).

Φαίνεται έτσι πως το κατώφλιο έχει πιθανολογικό χαρακτήρα (probabilistic) και υπάρχουν δύο κύριες θεωρίες που προσπάθησαν να εξηγήσουν αυτήν την μεταβλητότητα. Η πρώτη υπέθεσε ότι το πραγματικό στιγμιαίο κατώφλιο του εκτιμητή είναι ένα σταθερό μέτρο που παίρνει διάφορες τιμές και ακολουθεί την κανονική κατανομή. Όμως αν συνέβαινε αυτό, τα πραγματικά δεδομένα της πιθανότητας ανίχνευσης θα παριστάνονταν με τη αθροιστική εκδοχή της κανονικής κατανομής. Σύμφωνα με τη δεύτερη θεωρία το κατώφλιο του εκτιμητή ήταν σταθερό, ενώ το ερέθισμα έπαιρνε διάφορες τιμές οι οποίες όμως ακολουθούσαν την κανονική κατανομή. Και πάλι, αν συνέβαινε αυτό, τότε το αποτέλεσμα της μεταβολής των ερεθισμάτων θα οδηγούσε στη συνήθη ψυχομετρική λειτουργία ακόμα και σε έναν σταθερό και στατικό εκτιμητή (Lawless, 2013, pp. 6-7).



Σχήμα 3.1. Η αρχή του "όλου ή μηδενός"



Σχήμα 3.2. Ο πιθανολογικός χαρακτήρας του κατωφλίου

3.1.2. Άλλοι τύποι κατώφλιων

Εκτός από το «απόλυτο κατώφλιο» που καλείται και «κατώφλιο ανίχνευσης», η ανάγκη για την περιγραφή περισσότερων χαρακτηριστικών ανίχνευσης οδήγησε στην επινόηση και άλλων κατηγοριών κατωφλίου. Το «κατώφλιο αναγνώρισης» περιγράφει την ποσότητα της ενέργειας που απαιτείται ώστε ο εκτιμητής να αναγνωρίσει σωστά το ερέθισμα. Στην γεύση το κατώφλιο ανίχνευσης είναι συχνά χαμηλότερο του κατωφλίου αναγνώρισης. Το «κατώφλιο διαφοροποίησης» αναφέρεται στην ενέργεια που απαιτείται ώστε ο εκτιμητής να αντιληφθεί αν το ερέθισμα γίνεται εντονότερο ή αν εξασθενεί. Στα συστήματα αισθήσεων που υφίστανται κορεσμό, το «τερματικό κατώφλιο» περιγράφει το επίπεδο ενέργειας στο οποίο συνεχείς αυξήσεις της έντασης δεν καταφέρνουν να προκαλέσουν συνακόλουθη αύξηση στη δύναμη της αίσθησης. Το κατώφλιο αυτό μελετάται σπανίως καθώς είναι δύσκολο να δημιουργήσουμε υψηλής έντασης ερεθίσματα χωρίς επίκληση σε επίπονες αποκρίσεις ή άλλες αλλαγές στην ποιότητα του ερεθίσματος. Πρόσφατα προτάθηκε και το «κατώφλιο της απόρριψης» από τον Prescott και τους συνεργάτες του (2005), που αντιπροσωπεύει το επίπεδο ενέργειας όπου η αίσθηση της γεύσης είναι δυσάρεστη για ένα τρόφιμο ή ένα ρόφημα (Lawless, 2013, pp. 7-8).

3.2. Μέθοδοι υπολογισμού

3.2.1. Μέθοδος των ορίων

Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος στην κλασσική ψυχοφυσική για την μέτρηση των κατωφλίων ήταν η μέθοδος των ορίων. Προσφέρονται στον εκτιμητή δείγματα αρχικά με αύξουσα συγκέντρωση και στη συνέχεια με φθίνουσα και εκείνος κρίνει την παρουσία ή την απουσία του ερεθίσματος. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται και καταγράφονται κάθε φορά οι τιμές όπου υπάρχει εντόπιση ή απώλεια του ερεθίσματος, έως ότου η απόκριση του εκτιμητή τείνει να σταθεροποιείται. Το κατώφλιο προκύπτει από τον μέσο όρο των τιμών αυτών.

Ωστόσο η μέθοδος των ορίων παρουσιάζει μειονεκτήματα. Αρχικά βασίζεται στην υποκειμενική ικανότητα αντίληψης και ευαισθησίας του εκτιμητή και στην συμπεριφορά του

απέναντι σε ένα ερέθισμα, γεγονός που επηρεάζει το κατώφλι. Επίσης, κατά τη φθίνουσα σειρά της δοκιμασίας παρατηρείται κόπωση και αισθητηριακή προσαρμογή του εκτιμητή. (Chambers, 1996, p. 56), (Lawless, 2013, p. 8).

3.2.2. Μέθοδοι των υποχρεωτικών εναλλακτικών επιλογών (n-AFC)

Τα προβλήματα που προκύπτουν από την μέθοδο των ορίων οδήγησαν στην δημιουργία των μεθόδων των υποχρεωτικών εναλλακτικών επιλογών. Η ατομική κρίση και η προκατάληψη του εκτιμητή είναι ανεξάρτητες από την ευαισθησία του, επομένως η αναγκαστική επιλογή μπορεί να διακρίνει καλύτερα την ικανότητα ανίχνευσης του ερεθίσματος από τον εκτιμητή. Οι μέθοδοι ASTM E 679-91 και E 1432-91 αποτελούν μεθόδους αύξουσας υποχρεωτικής επιλογής (3-AFC), όπου τα δείγματα παρουσιάζονται μόνο με αύξουσα σειρά συγκεντρώσεων, με ένα δείγμα-στόχο (target) και δύο τυφλά (blanks) σε κάθε επίπεδο. Ο εκτιμητής καλείται να εντοπίσει το δείγμα-στόχο που περιέχει την ουσία που μελετάται. (ISO 13301:2002), (Chambers, 1996, p. 56), (Lawless, 2013, pp. 9-10).

- **Υπολογισμός κατωφλίου στην 3-AFC**

Το ατομικό κατώφλιο στην περίπτωση της μεθόδου 3-AFC υπολογίζεται μέσω της πρώτης σωστής ανίχνευσης ερεθίσματος κατά την αυξανόμενη σειρά συγκεντρώσεων, δεδομένου ότι όλες οι ακόλουθες απαντήσεις είναι επίσης σωστές. Οι αυξανόμενες συγκεντρώσεις ακολουθούν ένα πρότυπο γεωμετρικής προόδου, δηλαδή αποτελούν πολλαπλάσια κάποιου συγκεκριμένου αριθμού. Για τον υπολογισμό του ατομικού καλύτερου εντοπισμένου κατώφλιου (ΚΕΚ) (Best Estimated Threshold, BET) δεν λαμβάνεται υπόψη ο αριθμητικός αλλά ο γεωμετρικός μέσος διότι έχει την ιδιότητα να διατηρεί μια σταθερότητα και να μην επηρεάζεται από ακραίες τιμές. Έτσι το ΚΕΚ ορίζεται ως ο γεωμετρικός μέσος των δύο επιπέδων συγκέντρωσης: το πρώτο επιτυχές επίπεδο συγκέντρωσης του οποίου οι ακόλουθες απαντήσεις ήταν επίσης επιτυχείς, δηλαδή ανίχνευσαν την ουσία, και το τελευταίο ανεπιτυχές επίπεδο συγκέντρωσης πριν την ακολουθία των επιτυχών. Ο γεωμετρικός μέσος ορίζεται ως η N-οστή ρίζα μίας ακολουθίας N στοιχείων, στη συνέχεια τα δεδομένα μπορούν

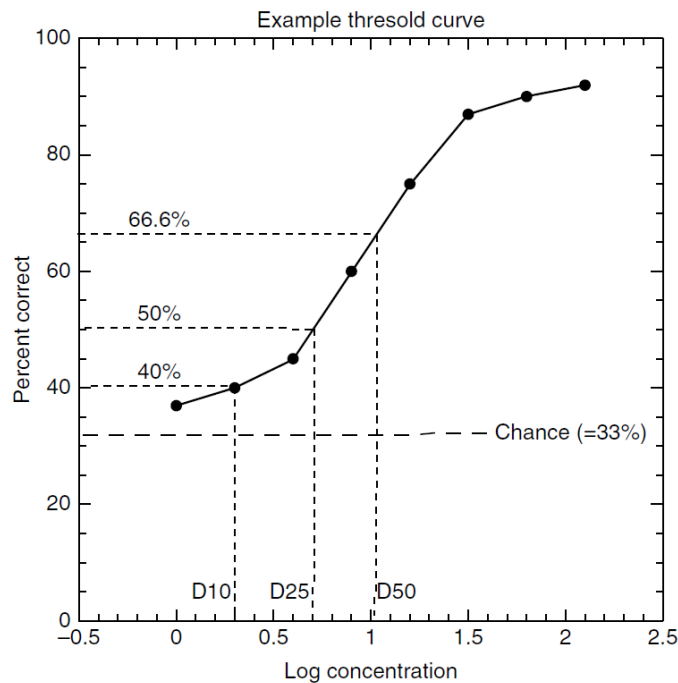
να λογαριθμιστούν, να προσδιοριστεί ο μέσος των λογαριθμισμένων δεδομένων και τελικά ο μέσος να αντιλογαριθμιστεί.

Ωστόσο στη μέθοδο αύξουσας αναγκαστικής επιλογής των ορίων υπάρχει ακόμα το πρόβλημα ότι οι εκτιμητές μπορεί απλώς τυχαία να μαντέψουν σωστά (συμβαίνει στο 33,3% των περιπτώσεων στην δοκιμασία 3-AFC). Για τον λόγο αυτό εφαρμόζεται ο μαθηματικός τύπος του Abbott:

$$P_{obs} = P_D + P_{chance} (1 - P_D)$$

Το P_D αντιπροσωπεύει το ποσοστό πραγματικής ανίχνευσης, το P_{obs} το ποσοστό της παρατηρηθείσας σωστής επιλογής του δείγματος-στόχου, και το P_{chance} συμβολίζει την τυχαία επιλογή ή το 1/3 της πρότυπης μεθόδου 3-AFC. Για τον προσδιορισμό του κατωφλίου ενός συνόλου ατόμων πρέπει να υπολογιστούν τα σωστά ποσοστά για κάθε επίπεδο συγκέντρωσης και στη συνέχεια να παρασταθούν γραφικά. Η συγκέντρωση που αντιπροσωπεύει το ζητούμενο κατώφλιο, για οποιαδήποτε μέθοδο εναλλακτικής υποχρεωτικής επιλογής, είναι αυτή που ικανοποιεί τον τύπο του Abbott στο 50% των πραγματικών διακρίσεων (D50). Η εκτίμηση των ατομικών κατωφλίων δεν είναι απαραίτητη καθώς τα ατομικά δεδομένα συνεισφέρουν ισόποσα. Για τον προσδιορισμό του διορθωμένου κατωφλίου μέσω του κριτηρίου της 50% ανίχνευσης, χρειάζεται να λάβουμε υπόψη τα 2/3 ή το 66,7% των σωστών απαντήσεων στην πρότυπη διαδικασία 3-AFC (Σχήμα 3.3.) (Lawless, 2013, pp. 10-12).

Το ατομικό ΚΕΚ αναγνώρισης βρίσκεται στο σημείο με τη χαμηλότερη συγκέντρωση που επιτρέπει την ανίχνευση του ερεθίσματος και είναι αυτό που θα χρησιμοποιηθεί στην παρούσα μελέτη.



Σχήμα 3.3. Γραφικός προσδιορισμός τυχαίως ορθών ανιχνεύσεων. Χρησιμοποιώντας την μέθοδο 3-AFC, μπορούμε να παρεμβάλουμε σε ένα γράφημα τη σχέση της αναλογίας των ορθών ανιχνεύσεων με τα επίπεδα συγκέντρωσης (ή τα λογαριθμισμένα επίπεδα συγκέντρωσης) για να βρούμε το επίπεδο του κατωφλίου που έχει επιλεχθεί τυχαίως ορθά (66,6% για ανίχνευση 50%).

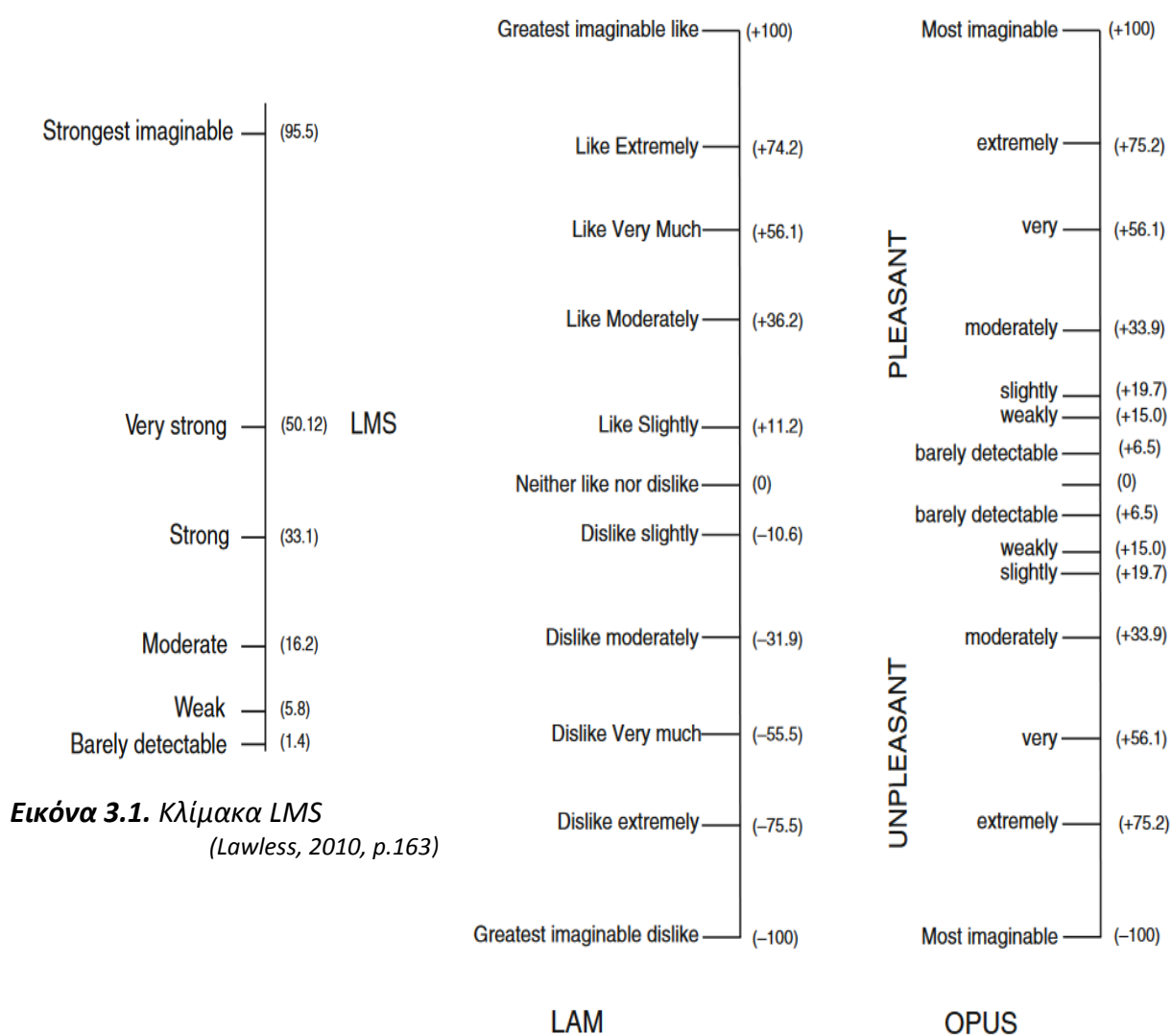
(Lawless, 2013, p.12)

3.3. Βαθμονομημένες κλίμακες μεγέθους – gLMS

Οι βαθμονομημένες κλίμακες μεγέθους (Labelled Magnitude Scales – LMS) είναι μία ομάδα τεχνικών μέτρησης που χρησιμοποιούνται στις ηδονικές μετρήσεις που προτάθηκαν από τους Green και συν. (1993). Παρέχουν αναλογικές πληροφορίες και παράλληλα προσδίδουν κοινές λεκτικές περιγραφές κατά μήκος της γραμμικής κλίμακας ως ένα απλό πλαίσιο αναφοράς. Περιλαμβάνουν μία οριζόντια ή κάθετη γραμμή με τις επισημάνσεις να βρίσκονται σε συγκεκριμένες αποστάσεις πάνω σε αυτή, οι οποίες βαθμονομούνται σύμφωνα με τις οδηγίες των αναλογικών κλιμάκων. Οι συμμετέχοντες πρέπει να σημαδέψουν κατά μήκος της γραμμής κάποιο σημείο που να αντικατοπτρίζει την αντιληπτή ένταση της αίσθησης ή την ένταση της προτίμησης και της απέχθειάς τους. Οι επισημασμένες γραμμικές κλίμακες

δίνουν δεδομένα τα οποία είναι σύμφωνα με αυτά της εκτίμησης μεγέθους (Lawless & Heymann, 2010, pp. 162-163) (Εικόνα 3.1.)

Εκτός από τις κλίμακες LMS δημιουργήθηκαν βαθμονομημένες κλίμακες συναισθηματικού μεγέθους (Labelled Affective Magnitude – LAM) από τους Schutz και Cardello (2001) που χρησιμοποιούν άμεση αναλογική κλιμάκωση των λεκτικών περιγραφών της ηδονικής κλίμακας 9-σημείων, καθώς και παρόμοιες κλίμακες για την από του στόματος αρέσκεια και δυσαρέσκεια (OPUS) από τους Guest και συν. (2007) (Εικόνα 3.2.) (Lawless & Heymann, 2010, pp. 163-164).



Εικόνα 3.1. Κλίμακα LMS
(Lawless, 2010, p.163)

Εικόνα 3.2. Κλίμακες LAM και OPUS

(Lawless, 2010, p.164)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Το γονίδιο *FTO*

4.1. Η ανακάλυψη του *FTO*

Το 1994 οι van der Hoeven και συν. ταυτοποίησαν την μετάλλαξη *Ft* (Fused toes) στους ποντικούς, η οποία προκύπτει από εισαγωγή διαγονιδίου, συντελώντας στην διαγραφή 1,6 Mb της αλληλουχίας του γονιδιώματος, στην D περιοχή του χρωμοσώματος 8 (Peters et al., 2002). Σε αυτήν την περιοχή ανήκουν τα γονίδια *Fts*, *Ftm* και *Fto* με άγνωστη λειτουργία, και ολόκληρο το σύμπλεγμα γονιδίων *IroquoisB* (*IrxB*) (Peters et al., 2002). Στα ετερόζυγα ποντίκια η μετάλλαξη οδηγεί σε συνδακτυλία στα μπροστινά άκρα (fused toes) και υπερπλασία του θύμου αδένος που φαίνεται να επηρεάζει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Τα ομόζυγα ποντίκια *Ft/Ft* έχουν καθυστερημένη εμβρυική ανάπτυξη, πεθαίνουν κατά τις ημέρες E 10.5 και E 14.5 της κύησης και παρουσιάζουν δυσπλασίες σε κρανιοπροσωπικές δομές και στην καρδιά, καθώς και τυχαίο έλεγχο δεξιάς-αριστερής ασυμμετρίας (Peters et al., 1999), (Peters et al., 2002).

Το γονίδιο *Fto* είναι το μεγαλύτερο που διαγράφεται στην μετάλλαξη *Ft*, με μέγεθος πάνω από 400 kb αλληλουχίας γονιδιώματος. Έχει ερευνητικό ενδιαφέρον διότι φυσιολογικά εκφράζεται από την E 8.5 ημέρα κύησης, επομένως η απουσία έκφρασής του στην μετάλλαξη *Ft* πιθανόν εμπλέκεται στα χαρακτηριστικά του φαινότυπου που περιγράφηκαν πιο πάνω (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, δυσπλασίες, δεξιά-αριστερή ασυμμετρία) (Stevens et al., 1999), (Peters et al., 2002).

Η ανακάλυψη του γονιδίου *FTO* (fat mass and obesity associated gene) στον άνθρωπο έγινε το 2007 από τρεις ανεξάρτητες έρευνες. Η μία αφορούσε τη συσχέτιση του γονιδιώματος με τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2^ο σε ένα δείγμα 38.000 ατόμων μελετήθηκαν 490.032 αυτοσωμικοί μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs), από τους οποίους ο rs9939609 του *FTO* φάνηκε πως προδιαθέτει για ΣΔ2, μέσω επίδρασης στο ΔΜΣ (Frayling et al., 2007). Στην δεύτερη μελετήθηκαν 362.129 SNPs και η συσχέτισή τους με τρία χαρακτηριστικά παχυσαρκίας: ΔΜΣ, περιφέρεια μέσης και σωματικό βάρος. Ο πολυμορφισμός rs9930506 στο

FTO σχετίσθηκε έντονα με αύξηση των μέτρων αυτών των χαρακτηριστικών (Scuteri et al., 2007). Η τρίτη ταυτοποίησε το *FTO* ενώ μελετούσε 48 SNPs για συσχέτιση με την παχυσαρκία (Dina et al., 2007).

4.2. Χαρακτηριστικά του *FTO*

Σύμφωνα με τα ευρήματα των Fredriksson και συν., το γονίδιο *FTO* υπάρχει στην εξέλιξη των σπονδυλωτών για τουλάχιστον 450 εκατομμύρια χρόνια και είναι πιθανό να υπάρχει στα περισσότερα σπονδυλωτά. Εκφράζεται ευρέως στους ιστούς των ενηλίκων και των εμβρύων, στον λιπώδη ιστό αλλά και στο κεντρικό νευρικό σύστημα και στο κύκλωμα τροφοδοσίας του, όπου βρίσκεται σε ξεχωριστούς πυρήνες του υποθαλάμου, του εγκεφαλικού στελέχους και της εκτεταμένης αμυγδαλής (Fredriksson et al., 2008).

Το γονίδιο *FTO* ταυτοποιήθηκε να είναι ομόλογο με την οικογένεια των μη αιμικών διοξυγενασών (Alk-B-) που μπορούν να αφαιρούν N-μεθυλιωμένες βάσεις RNA ή μονόκλωνου DNA. Κωδικοποιεί μια διμεθυλάση νουκλεϊκού οξέος εξαρτώμενη από το α-κετογλουταρικό ή 2-οξογλουταρικό και βρίσκεται στον πυρήνα των κυττάρων (Rendo et al., 2009). Η ανάλυση αλληλουχίας έδειξε ότι η πρωτεΐνη *FTO* περιέχει πτυχή διπλής β-έλικας (DSBH), ομόλογη προς εκείνες των οξυγενασών Fe (II) και 2-οξογλουταρικού (2OG). Η προβλεπόμενη πτυχή DSFT περιέχει τέσσερα συντηρημένα κατάλοιπα που χαρακτηρίζουν τις θέσεις πρόσδεσης Fe (II) και 2OG. Οι 2OG οξυγενάσες εμπλέκονται σε διαδικασίες επιδιόρθωσης του DNA, μεταβολισμού των λιπαρών οξέων και μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων. Απαιτούν μη αιμικό σίδηρο [Fe (II)] και, σχεδόν πάντοτε, 2OG ως συμπράγοντες και χρησιμοποιούν οξυγόνο, παράγοντας ηλεκτρικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα ως παραπροϊόντα (κύκλος Krebs) (Gerken et al., 2007).

Το *FTO* είναι ένα μεγάλο γονίδιο του χρωμοσώματος 16 με 9 εξόνια με γενετική αλληλουχία πάνω από 400 kb (410.507 bp). Η περιοχή του πρώτου ιντρόνιου είναι έντονα συντηρημένη μεταξύ των ειδών και σχετίζεται με τουλάχιστον 40 μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς που συνδέονται έντονα στους καυκάσιους πληθυσμούς (Loos & Bouchard, 2008). Μεταξύ αυτών είναι ο rs9939609 που αντιπροσωπεύει ένα σύμπλεγμα από 10 SNPs στο

πρώτο ιντρόνιο του *FTO* και σχετίζεται με 45 επιπρόσθετους μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς σε μία περιοχή μεγέθους 47 kb, που περιλαμβάνει μέρη των πρώτων δύο ιντρονίων και του εξονίου 2 του *FTO*. Όλοι οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί που αφορούν τον ΔΜΣ συνδέονται έντονα μεταξύ τους (Frayling et al., 2007).

4.3. Λειτουργική σημασία του *FTO*

4.3.1. Σύνδρομο

Έχουν μελετηθεί μεταλλάξεις στο χρωμόσωμα 16 που επηρεάζουν την λειτουργία του γονιδίου *FTO*. Η μερική τρισωμία στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 16 λόγω αλληλεπικάλυψης της περιοχής 16q οδηγεί σε σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από σοβαρή ασυμμετρία μαστών (ανισομαστία), μέτρια προς σοβαρή νοητική καθυστέρηση, δυσμορφίες προσώπου και αναπτυξιακές ανωμαλίες, καθώς και παχυσαρκία (Stratakis et al., 2000).

Η μετάλλαξη R316Q στο γονίδιο *FTO* στο χρωμόσωμα 16q12 μελετήθηκε σε μια μεγάλη οικογένεια με 9 προσβεβλημένα άτομα (ομόζυγα) που παρουσίαζαν καθυστερημένη ανάπτυξη μετά τη γέννηση, μικροκεφαλία, σοβαρή ψυχοκινητική καθυστέρηση, ελλείψεις στη λειτουργικότητα του εγκεφάλου και χαρακτηριστική δυσμορφία προσώπου. Κάποια από αυτά παρουσίαζαν και δυσμορφίες στην δομή του εγκεφάλου, καρδιακές ελλείψεις, ανωμαλίες των γεννητικών οργάνων και σχισμή του ουρανίσκου. Η μετάλλαξη φαίνεται πως απενεργοποιεί την ενζυμική δραστηριότητα του *FTO* και επιδρά στη φυσιολογική ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού και του καρδιαγγειακού συστήματος, έτσι είναι υπεύθυνη για ένα αυτοσωμικό υπολειπόμενο θανατηφόρο σύνδρομο (Boissel et al., 2009).

4.3.2. Παχυσαρκία

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας των Frayling και συν., η ύπαρξη του μονονουκλεοτιδικού πολυμορφισμού rs9939609 στο *FTO* σχετίζεται με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2), η οποία όμως διαμεσολαβείται από την έντονη συσχέτιση του αλληλομόρφου κινδύνου (A) με αυξημένο ΔΜΣ. Το A αλληλόμορφο σχετίσθηκε με κίνδυνο για υπέρβαρο και

παχυσαρκία σε σύγκριση με το T αλληλόμορφο, όπως επίσης με αυξημένο βάρος σώματος, περιφέρεια μέσης και υποδόριο λίπος, ενώ με καμία επίδραση στο ύψος. Πιο συγκεκριμένα, οι ενήλικες ομόζυγοι για το αλληλόμορφο κινδύνου έχουν αυξημένο βάρος κατά 3 κιλά και έχουν 1,67 φορές αυξημένες πιθανότητες για παχυσαρκία σε σχέση με τα άτομα που δεν κληρονομούν το αλληλόμορφο. Οι ομοζυγώτες του A αλληλομόρφου του πολυμορφισμού είχαν υψηλότερο ΔΜΣ από τους ετεροζυγώτες, και κάθε αντίγραφο του αλληλομόρφου αντιστοιχεί σε αύξηση του ΔΜΣ περίπου κατά $0,4 \text{ kg/m}^2$ ([βάρος σε κιλά]/[ύψος σε μέτρα]²), σε όλες τις ηλικίες και χωρίς διαφορά σε άντρες και γυναίκες. Ο πολυμορφισμός rs9939609 εξήγησε το 1% του εύρους του ΔΜΣ στον πληθυσμό και ο κίνδυνος ήταν 20,4% για παχυσαρκία και 12,7% για υπέρβαρο. Όσον αφορά τα παιδιά, το αλληλόμορφο A δεν σχετίστηκε με το βάρος γέννησης και την εμβρυική ανάπτυξη, ωστόσο σε όλες τις ηλικίες σχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο υπέρβαρου και παιδικής παχυσαρκίας, ιδιαίτερα μετά τα 7 έτη (Frayling et al., 2007).

Η έρευνα των Scuteri et al. (2007) μελέτησε δείγμα 6.148 ατόμων στη Σαρδηνία και χρησιμοποίησε δεδομένα της μελέτης GenNet με δείγμα 3.467 ατόμων (Thiel et al., 2003). Τα αποτελέσματα έδειξαν ισχυρή συσχέτιση του μονονουκλεοτιδικού πολυμορφισμού rs9930506 με αύξηση του ΔΜΣ, της περιφέρειας μέσης και του σωματικού βάρους στους πληθυσμούς των Σαρδηνίων, των Ευρωπαίων Αμερικάνων (EA) και των Ισπανόφωνων Αμερικάνων (HA), αλλά όχι των Αφρο-Αμερικάνων (AA). Στον πληθυσμό των Σαρδηνίων οι ομοζυγώτες για το αλληλόμορφο κινδύνου G του πολυμορφισμού είχαν αυξημένο ΔΜΣ κατά $1,3 \text{ kg/m}^2$ σε σχέση με τους ομοζυγώτες του A αλληλόμορφου, ενώ στο δείγμα της GenNet κατά περίπου $1,0 \text{ kg/m}^2$ (Scuteri et al., 2007).

Το γονίδιο *FTO* φαίνεται να μην επιδρά στον ΔΜΣ και στον κίνδυνο για παχυσαρκία στους πληθυσμούς της Αφρικής και της Ανατολικής Ασίας, πιθανόν λόγω εξελικτικών αλλαγών που οδήγησαν σε διαφορετική γενετική “αρχιτεκτονική” της παχυσαρκίας σε αυτούς τους πληθυσμούς. Ωστόσο η συχνότητα εμφάνισής του στους πληθυσμούς της Ευρώπης είναι υψηλή, με περίπου 63% να είναι ετερόζυγοι και 16% ομόζυγοι για το αλληλόμορφο κινδύνου (Loos & Bouchard, 2008).

Στη μελέτη των Dina και συν. (2007) ταυτοποιήθηκε ένα σύνολο πολυμορφισμών στο πρώτο ιντρόνιο του *FTO* στο χρωμόσωμα 16q12.2 που σχετίζεται ισχυρά με την παχυσαρκία τύπου III ($\Delta\text{ΜΣ} > 40\text{kg/m}^2$) σε ενήλικες, παρομοίως σε άνδρες και γυναίκες, και την πρώιμη ακραία παχυσαρκία (early-onset extreme obesity) σε παιδιά Ευρωπαϊκής καταγωγής. Το αλληλόμορφο κινδύνου αποδίδει ποσοστό 22% για την κοινή παχυσαρκία (Dina et al., 2007).

Οι επιδράσεις του *FTO* στο σωματικό βάρος, στη σύσταση σώματος και στον κίνδυνο ανάπτυξης υπέρβαρου και παχυσαρκίας στα παιδιά και στους εφήβους μελετήθηκαν διεξοδικά στην επισκόπηση των Rendo και συν. (2009), κυρίως όσον αφορά τον πολυμορφισμό rs9939609 του γονιδίου *FTO*. Η συχνότητα εμφάνισης του αλληλόμορφου κινδύνου Α ήταν 0,38-0,49 σε διαφορετικούς Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς και ανά αλληλόμορφο Α αυξανόταν ο κίνδυνος υπέρβαρου και παχυσαρκίας, ο $\Delta\text{ΜΣ}$, η περιφέρεια μέσης και η λιπώδης μάζα, καθώς και η κατανάλωση ενέργειας και λίπους, ενώ μειωνόταν η αντίληψη κορεσμού. Γενικότερα, το αλληλόμορφο κινδύνου Α σχετίστηκε στα παιδιά και στους εφήβους με αύξηση του σωματικού βάρους (Rendo et al., 2009).

Πιο πρόσφατα ευρήματα αφορούν την επίδραση του γονιδίου *FTO* στο γονίδιο *IRX3* που έχει ρόλο στη ρύθμιση της σωματικής μάζας και σύστασης στους ανθρώπους, καθώς και στο γονίδιο *RPGRIP1L* που σχετίστηκε με παχυσαρκία σε ποντίκια (Liu et al., 2018).

4.3.3. Σακχαρώδης Διαβήτης τ. 2 και δράση ινσουλίνης

Ένα σύνολο μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών κοντά στο γονίδιο *FTO*, μεταξύ αυτών και ο rs8050136, σχετίζονται έντονα με τον κίνδυνο σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2) (Scott et al., 2007).

Η ινσουλίνη έχει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του σωματικού βάρους διότι δρα στον εγκέφαλο ως σήμα κορεσμού και παχυσαρκίας, ενώ αυξάνει την αυθόρμητη δραστηριότητα του εγκεφαλικού φλοιού στα άτομα φυσιολογικού βάρους. Το αλληλόμορφο κινδύνου του πολυμορφισμού rs8050136 του *FTO* σχετίστηκε με μειωμένη επίδραση της ινσουλίνης σε αυτή τη δραστηριότητα. Αυτό σημαίνει πως οι παραλλαγές του γονιδίου *FTO* επιδρούν στην

παθogenese της παχυσαρκίας μέσω μείωσης της ευαισθησίας του εγκεφαλικού φλοιού στην ινσουλίνη (Tschritter et al., 2007).

4.3.4. Λιπώδης Ιστός

Το αλληλόμορφο κινδύνου του πολυμορφισμού rs1421085 του *FTO* έχει φανεί να επιδρά στον λιπώδη ιστό, καταστέλλοντας τη μιτοχονδριακή θερμογένεση σε πρόδρομα λιποκύτταρα με έναν ιστό-αυτόνομο τρόπο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την κυτταρικά αυτόνομη μετατροπή των φαιών λιποκυττάρων που καταναλώνουν ενέργεια σε ενεργά λευκά λιποκύτταρα που αποθηκεύουν ενέργεια, που οδηγεί μέσω μηχανισμών στη μείωση της μιτοχονδριακής θερμογένεσης και στην αύξηση της αποθήκευσης λιπιδίων (Claussnitzer et al., 2015).

Ο πολυμορφισμός rs9939609 του γονιδίου *FTO* έχει σχετισθεί με αύξηση της λιπόλυσης, ανεξάρτητα από τον ΔΜΣ. Πιο συγκεκριμένα, έχει βρεθεί πως σε ομοζυγώτες για το T αλληλόμορφο η in vitro βασική απελευθέρωση γλυκερόλης στα λιποκύτταρα ήταν αυξημένη κατά 22% και η in vivo συγκέντρωση γλυκερόλης στο πλάσμα αυξημένη κατά 30% σε σχέση με τους φορείς του A αλληλόμορφου, ενώ τα επίπεδα mRNA του *FTO* στον λιπώδη ιστό ήταν αυξημένα στην παχυσαρκία. Αυτά τα δεδομένα προτείνουν την ύπαρξη ρόλου του γονιδίου *FTO* στη λιπόλυση στα λιποκύτταρα, εξηγώντας τη επίδρασή του στη ρύθμιση του σωματικού βάρους (Wåhlén, Sjölín & Hoffstedt, 2008).

4.3.5. Υποθάλαμος

Η δράση του γονιδίου *FTO* στον υποθάλαμο έχει σημαντικό ρόλο στους μηχανισμούς ρύθμισης της κατανάλωσης φαγητού που έχουν σχέση με την ενέργεια. Έχει φανεί ότι η στέρηση φαγητού ρυθμίζει προς τα πάνω τα επίπεδα mRNA του *FTO*, ενώ η κατανάλωση λευκίνης προς τα κάτω. Η τάση για κατανάλωση περισσότερης ενέργειας χωρίς επίδραση στο σωματικό βάρος έχει συσχετισθεί με χαμηλότερα επίπεδα mRNA του *FTO*. Το *FTO* βρίσκεται σε θέσεις που σχετίζονται με την πείνα και τον κορεσμό και εντοπίζεται μαζί με την ανορεξιογόνο ορμόνη οξυτοκίνη. Δεν σχετίζεται με την ανταπόκριση στην τροφή αλλά με την πρόσληψη

ενέργειας, και οι νευρώνες που εμπλέκονται στην λήξη της διαδικασίας σίτισης εκφράζουν το *FTO*. Η βασική έκφραση του *FTO* φαίνεται να συνδέεται όχι μόνο με την πρόσληψη ενέργειας αλλά και με τον ενεργειακό μεταβολισμό (Olszewski et al., 2009).

Στην μελέτη των Wiemerslage και συν. σχετίστηκε ο πολυμορφισμός rs9939609 του *FTO* με τη δραστηριότητα του εγκεφάλου στην όψη εικόνων φαγητού. Ο γονότυπος AA, δηλαδή το αλληλόμορφο κινδύνου για παχυσαρκία, είχε αυξημένη δραστηριότητα στην όψη εικόνων φαγητών με διαφορετικό θερμιδικό περιεχόμενο σε σχέση με τον TT γονότυπο, κυρίως σε περιοχές που σχετίζονται με το συναίσθημα, τη μνήμη, την αυτο- εικόνα και την ανταμοιβή. Η συσχέτιση αυτή πιθανόν να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αύξηση του σωματικού βάρους στα άτομα με τον γονότυπο AA του πολυμορφισμού (Wiemerslage et al., 2016).

Άλλες έρευνες έχουν δείξει ότι το *FTO* στον υποθάλαμο επηρεάζει τη ρύθμιση των επιπέδων λεπτίνης, την ευαισθησία στη λεπτίνη, τη σηματοδότηση της γκρελίνης και το ντοπαμινεργικό κύκλωμα του εγκεφάλου, επομένως έχει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της ενεργειακής ισορροπίας και της πρόσληψης τροφής (Speakman, 2015).

4.3.6. Άλλα νοσήματα

Τα τελευταία χρόνια γίνεται λόγος για συσχέτιση πολυμορφισμών rs9939609, rs17817449, rs8050136, rs1477196, rs6499640, rs16953002, rs11075995 και rs1121980 του γονιδίου *FTO* με την ανάπτυξη καρκίνου, μέσω ρύθμισης της γενετικής έκφρασης, ωστόσο δεν υπάρχουν ακόμα ξεκάθαρα ευρήματα. Υπάρχει η υπόθεση ότι οι πολυμορφισμοί στο ιντρόνιο 8 του *FTO* μπορεί να είναι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου (Hernández-Caballero & Sierra-Ramírez, 2015).

Οι πολυμορφισμοί rs9939609 με A το αλληλόμορφο κινδύνου, και rs1421085 με C το αλληλόμορφο κινδύνου έχουν σχετισθεί με το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS). Μεταξύ των ομοζυγωτών, στους AA/CC ο ΔΜΣ ήταν αυξημένος κατά 3,3 kg/m² και το σωματικό βάρος κατά 9,6 kg σε σχέση με τους TT. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το υπόβαθρο του

PCOS ρυθμίζει την επίδραση του *FTO* στο σωματικό βάρος και στον ΔΜΣ (Wojciechowski et al., 2012). Η μελέτη των Liu, Xie και συν. (2017), έδειξε ισχυρή συσχέτιση του πολυμορφισμού rs9939609 του *FTO* με τον κίνδυνο για PCOS τόσο σε Ασιάτισες όσο και Καυκάσιες, επομένως το αλληλόμορφο Α είναι παράγοντας κινδύνου (Liu, Xie et al., 2017).

Η μετα-ανάλυση των Liu, Mou & Pan (2013), έδειξε ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση του κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο (CVD risk) με τον πολυμορφισμό rs9939609 του *FTO*, η οποία ήταν ανεξάρτητη από τον ΔΜΣ και άλλους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο (Liu, Mou & Pan, 2013).

4.4. Διατροφή και μακροσυστατικά

Σύμφωνα με την επισκόπηση των Doaei και συν. (2017), τα ευρήματα σχετικά με την επίδραση των μακροσυστατικών στην έκφραση του γονιδίου του *FTO* στον υποθάλαμο είναι ανάμικτα και δεν μπορούμε να εξάγουμε κάποιο συγκεκριμένο αποτέλεσμα. Η πλειονότητα των μελετών έδειξε πως η αύξηση στην κατανάλωση μακροσυστατικών μειώνει την έκφραση του γονιδίου *FTO*, επομένως με αυτόν τον τρόπο ενισχύεται η πιθανότητα η συσχέτιση αυτών των δύο παραγόντων να είναι πραγματική (Doaei et al., 2017). Σε μία από τις έρευνες που μελετήθηκαν αναφέρθηκε πως η ενεργειακή πρόσληψη των ατόμων με αλληλόμορφο κινδύνου για το *FTO* ήταν μειωμένη κατά 6,46 kcal/ημέρα για κάθε αλληλόμορφο, και τα άτομα κατανάλωναν μεγαλύτερες ποσότητες πρωτεϊνών και λιπών (Livingstone, Celis-Morales et al., 2015).

Είναι σημαντικό να αναφερθεί η πρόταση των σχετικά με την επίδραση της διατροφής στα άτομα με αλληλόμορφο κινδύνου για το *FTO*. Η μείωση των κορεσμένων λιπαρών οξέων της διατροφής και η αντικατάστασή τους με μονο- και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως συμβαίνει στη Μεσογειακή Διατροφή, βοηθά στη μείωση του ΔΜΣ των ατόμων αυτών και επιδρά θετικά στο λιπιδαιμικό προφίλ τους και στην ινσουλινοαντίσταση (Przeliorz-Pyszczyk & Regulska-Ilow, 2017).

Β' ΜΕΡΟΣ: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Μεθοδολογία

Οι πειραματικές διαδικασίες για την συσχέτιση του πολυμορφισμού rs9939609 του γονιδίου *FTO* με το κατώφλιο αντίληψης της γλυκιάς γεύσης ήταν μέρος μίας ευρύτερης μελέτης που αφορούσε την αντίληψη της γλυκιάς γεύσης σε Ελληνίδες εθελόντριες. Οι εθελόντριες κλήθηκαν να λάβουν μέρος σε οργανοληπτικές δοκιμές και να συμπληρώσουν ορισμένα ερωτηματολόγια. Πιο συγκεκριμένα, η αντίληψη της γλυκιάς γεύσης αξιολογήθηκε μέσω της μεθόδου 3-AFC και μέσω βαθμονομημένης κλίμακας έντασης (gLMS), ενώ η γονοτύπηση έγινε με τη μεθοδολογία Taqman.

Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκε συνδυασμός αναλυτικών μεθόδων οργανοληπτικού ελέγχου. Ως οργανοληπτικός έλεγχος ορίζεται η διερεύνηση των ιδιοτήτων των τροφίμων με τη βοήθεια των αισθητήριων οργάνων του ανθρώπου. Ο οργανοληπτικός έλεγχος πραγματοποιείται μέσα από μια σειρά μεθόδων που ονομάζονται οργανοληπτικές δοκιμές και ουσιαστικά ο δοκιμαστής καλείται να αξιολογήσει τα ερεθίσματα που λαμβάνει, με τη χρήση των αισθήσεών του. Στο πείραμά μας εφαρμόστηκαν δοκιμές διάκρισης οι οποίες στόχευαν στην καταγραφή διάκρισης ή μη, της διαφοράς μεταξύ διαφόρων υδατικών διαλυμάτων (μέθοδοι διαφοράς) ή στην ικανότητα να ανιχνευθεί κάποιο συγκεκριμένο χαρακτηριστικό στα δείγματα (μέθοδοι ευαισθησίας), στην περίπτωσή μας η γλυκιά γεύση.

5.1. Έγκριση Βιοηθικής

Η μελέτη εγκρίθηκε από την επιτροπή βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και διεξήχθη σύμφωνα με την κείμενη εθνική νομοθεσία και τις διεθνείς συνθήκες που αφορούν την βιοϊατρική έρευνα και την προστασία των δεδομένων προσωπικού χαρακτήρα όπως προβλέπεται από:

- Την Σύμβαση του Συμβουλίου της Ευρώπης για τα Ανθρώπινα Δικαιώματα και τη Βιοϊατρική, (Σύμβαση του Οβιέδο), ενσωματωμένη στο εθνικό δίκαιο με τον νόμο 2619/1998.
- Το Πρόσθετο Πρωτόκολλο της Σύμβασης για την βιοϊατρική έρευνα
- Την Οικουμενική διακήρυξη της UNESCO για το ανθρώπινο γονιδίωμα και τα

δικαιώματα του ανθρώπου

- Την Οικουμενική διακήρυξη για τα γενετικά δεδομένα του ανθρώπου
- Τον νόμο 2472/1997 για την Προστασία του ατόμου από την επεξεργασία δεδομένων προσωπικού χαρακτήρα.

Τα δεδομένα των εθελοντριών ανωνυμοποιήθηκαν πριν την επεξεργασία τους καθιστώντας αδύνατη την ταυτοποίησή τους από τα άτομα που συμμετείχαν στην επεξεργασία των δεδομένων, ενώ η αρίθμηση των δειγμάτων έγινε με τυχαίο τρόπο

5.2. Επιλογή εθελοντών – Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού

Η επιλογή των εθελοντών έγινε υπό ορισμένα κριτήρια που εξυπηρετούν τους σκοπούς της έρευνας. Αναζητήθηκαν Ελληνίδες γυναίκες, 18-35 ετών, φυσιολογικού βάρους έως υπέρβαρο ($ΔΜΣ < 30 \text{ kg/m}^2$), οι οποίες δεν κάπνιζαν, δεν έπασχαν από ψυχική ή κάποια άλλη συστηματική νόσο, δεν λάμβαναν χρόνια συστηματική φαρμακευτική αγωγή (εκτός από αντισυλληπτικά χάπια), δεν κατανάλωναν συστηματικά αλκοόλ και δεν βρίσκονταν σε εγκυμοσύνη ή γαλουχία.

Τα παραπάνω κριτήρια σχετίζονται με τους βασικότερους παράγοντες που δυνητικά μπορούν να επηρεάσουν τη γεύση και γι' αυτό τέθηκαν υπό περιορισμό καθώς η έρευνα εστιάζει το ενδιαφέρον της σε γενετικούς παράγοντες. Η πλειονότητα των εθελοντριών αποτελούσε φοιτήτριες του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Ύστερα από τη θετική τους ανταπόκριση σε σχετική ανακοίνωση μέσω ηλεκτρονικού ταχυδρομείου, οι ενδιαφερόμενες αρχικά κλήθηκαν να συμπληρώσουν μία ηλεκτρονική φόρμα επικοινωνίας. Στη συνέχεια, κατά την πρώτη δοκιμή, έγινε έλεγχος αν πράγματι πληρούσαν τα κριτήρια συμμετοχής στη μελέτη.

5.3. Διαδικασίες δοκιμών

Οι εθελόντριες διαιρέθηκαν σε ομάδες 10 ατόμων, ώστε να υπάρχει επάρκεια στο χώρο των δοκιμών αλλά και καλύτερος έλεγχος. Όλες οι δοκιμές λάμβαναν χώρα πρωινές ώρες, 9.30 π.μ. ή 10.00 π.μ. Κάθε εθελόντρια κλήθηκε να παρουσιαστεί και να συμμετάσχει σε

δύο δοκιμές (Α' και Β') που διαρκούσαν περίπου 2 ώρες. Οι δύο δοκιμές περιλάμβαναν κάποιες κοινές και κάποιες διαφορετικές δοκιμασίες. Σκοπός της διαίρεσης του πειράματος ήταν η αποφυγή της πιθανής κούρασης των εθελοντριών από τις συνεχείς γευστικές δοκιμές και τη συμπλήρωση πολλών εγγράφων, αλλά και η αποφυγή της αλλοίωσης της γευστικής αντίληψης από την συνεχή εξάσκηση των γευστικών υποδοχέων.

5.3.1. Προετοιμασία πριν τις δοκιμές

Μία εβδομάδα πριν τη κάθε συνεδρία αλλά και την προηγούμενη ημέρα, οι εθελόντριες λάμβαναν ένα ηλεκτρονικό μήνυμα ως υπενθύμιση της ώρας προσέλευσής τους στον χώρο των δοκιμών, το οποίο περιλάμβανε και έντυπες οδηγίες σχετικά με τις ορθές πρακτικές που πρέπει να ακολουθήσουν τόσο κατά τη διάρκεια (όχι συνεργασία μεταξύ τους κατά την αξιολόγηση των δειγμάτων), αλλά και μια ημέρα πριν τις γευστικές δοκιμές (νηστικοί). Πριν την έναρξη των δοκιμών πραγματοποιούταν 10λεπτη διάλεξη στην οποία δίνονταν οδηγίες για την διενέργεια των οργανοληπτικών δοκιμών και τη συμπλήρωση των ερωτηματολογίων. Η εκπαίδευση για τη λήψη DNA έγινε στο τέλος της διάλεξης με τη βοήθεια video.

Τα δείγματα γευστικής δοκιμής προετοιμάζονταν την παραμονή της εκάστοτε συνεδρίας ενώ η τελική τοποθέτηση των δειγμάτων στα δοκιμαστικά ποτηράκια και στους δίσκους γινόταν λίγες ώρες πριν την είσοδο των εθελοντριών στον εξεταστικό χώρο. Στις θέσεις των εθελοντριών τοποθετούνταν από ένας δίσκος με ποτηράκια, ένα πτυελοδοχείο, ένα ποτήρι με εμφιαλωμένο νερό και μια χαρτοπετσέτα. Τόσο τα δείγματα όσο και το νερό ήταν σε σταθερή θερμοκρασία δωματίου έτσι ώστε η γευστική αντίληψη να είναι μέγιστη. Από τις εθελόντριες ζητήθηκε να μην καταπίνουν το δείγμα, αλλά να κάνουν πλύση του στόματος με το διάλυμα και στην συνέχεια να χρησιμοποιούν το πτυελοδοχείο.

5.3.2. Διεξαγωγή δοκιμών

Κάθε δοκιμή χωρίστηκε σε δύο μέρη. Αρχικά λάμβανε χώρα η συμπλήρωση των ερωτηματολογίων, ενώ ακολουθούσε η οργανοληπτική δοκιμή δύο δίσκων με επτά τριάδες

ποτηριών. Ενδιάμεσα υπήρχε δεκαπεντάλεπτο διάλειμμα, ώστε να αποφευχθούν κάποια πιθανά προβλήματα: η διάσπαση συγκέντρωσης και η πνευματική κούραση του εθελοντή από τη συμπλήρωση των εγγράφων, καθώς και η τροποποίηση της γευστικής διάκρισης και ικανότητας των υποδοχέων των θηλών της γλώσσας από τη συνεχή εξάσκηση. Στο διάλειμμα αυτό προσφέρθηκε στις εθελόντριες νερό και αλατισμένο κρακεράκι έτσι ώστε να “ξεκουραστούν” οι γευστικοί κάλυκες και να είναι πάλι ικανοί να αποδώσουν το μέγιστο στο δεύτερο μέρος.

A' ΔΟΚΙΜΗ

Στην πρώτη δοκιμή οι εθελόντριες αρχικά κλήθηκαν να διαβάσουν και να υπογράψουν την συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους στη μελέτη. Να τονιστεί πως η μελέτη είχε εγκριθεί από επιτροπή βιοηθικής πριν την έναρξη των δοκιμών. Μετά την ενυπόγραφη συγκατάθεση των εθελοντριών, πραγματοποιήθηκαν με τη σειρά που αναφέρονται τα εξής:

- Ολιγόλεπτη ομιλία καλωσορίσματος και επεξηγήσεων
- Συμπλήρωση εγγράφων δημογραφικών στοιχείων, ιστορικού, κριτηρίων ένταξης και αποκλεισμού στη μελέτη καθώς κι ερωτηματολόγιο διατροφικών συνηθειών και FFQ
- Συμπλήρωση δύο ψυχομετρικών εγγράφων: ερωτηματολόγιο ZDRS και STAI
- Συλλογή σιέλου
- Λήψη DNA
- Συμπλήρωση κλίμακας κορεσμού
- Γευστικές δοκιμασίες (πρώτες δύο σειρές)
- Διάλειμμα – Συμπλήρωση εγγράφου ανάκλησης 24ώρου
- Γευστικές δοκιμασίες (επόμενες δύο σειρές)
- Ανθρωπομετρικές μετρήσεις
- Φωτογράφιση γλώσσας

B' ΔΟΚΙΜΗ

Η δεύτερη επίσκεψη ήταν συντομότερη και περιελάμβανε τα εξής:

- Συμπλήρωση ψυχομετρικού ερωτηματολογίου STAI
- Συμπλήρωση κλίμακας κορεσμού
- Γευστικές δοκιμασίες (πρώτες δύο σειρές)
- Διάλειμμα
- Γευστικές δοκιμασίες (επόμενες δύο σειρές)
- Γευστικές δοκιμασίες επίγευσης
- Γευστικές δοκιμασίες έντασης γεύσης

5.4. Οργανοληπτικές δοκιμές – εργαλεία αξιολόγησης

5.4.1. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Το ύψος και το βάρος των εθελοντριών προσδιορίστηκε με ακρίβεια 0,1cm και 100gr αντίστοιχα και οι μετρήσεις έγιναν χωρίς παπούτσια. Η περιφέρεια μέσης και ισχίων μετρήθηκαν με μεζούρα με ακρίβεια 0,1cm. Σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή για το κάθε μηχάνημα μετρήθηκαν η αρτηριακή πίεση (συστολική και διαστολική) με ηλεκτρονικό πιεσόμετρο και η θερμοκρασία σώματος με θερμόμετρο υπέρυθρων. Έπειτα για τον υπολογισμό του Δείκτη Μάζας Σώματος χρησιμοποιήθηκε ο τύπος $(\text{Βάρος})/(\text{Ύψος})^2$ (Βάρος: Kg και Ύψος: m).

5.4.2. Δοκιμασία 3-AFC

Για την παρουσίαση και την διαχείριση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της αύξουσας εναλλακτικής υποχρεωτικής επιλογής των ορίων (AFC) σε συνδυασμό με αυτή της τριγωνικής δοκιμής (triangle test ή triangular test). Τα δείγματα δόθηκαν στις εθελόντριες σε στοιχισμένες κατά σειρά τριάδες, που αποτελούνταν από δύο όμοια κι ένα διαφορετικό παρασκεύασμα, ενώ εκείνες κλήθηκαν να υποδείξουν το διαφορετικό. Η τριγωνική δοκιμή ενδείκνυται σε περιπτώσεις όπου εξετάζεται κυρίως η ικανότητα διάκρισης των δοκιμαστών συγκεκριμένης διαφοράς αλλά και όταν έχουμε να κάνουμε με μικρές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων. Πλεονεκτεί έναντι άλλων οργανοληπτικών μεθόδων στο ότι είναι πιο ευαίσθητη κι

έχει μεγαλύτερη στατιστική ισχύ, γεγονός που μας επιτρέπει να χρησιμοποιήσουμε λιγότερους εθελοντές για την εξασφάλιση του ίδιου βαθμού βεβαιότητας.

Δύο τύποι γλυκού ερεθίσματος χρησιμοποιήθηκαν στην δοκιμασία 3-AFC, η σουκρόζη και η ασπαρτάμη, για να εξυπηρετήσουν τους σκοπούς μίας παράλληλης υπο-μελέτης, αφού κατά την πειραματική διαδικασία η ερευνητική ομάδα συνεργάστηκε για την επίτευξη διαφόρων ερευνητικών σκοπών. Τα δείγματα που δόθηκαν ήταν είτε νερό είτε υδατικά διαλύματα με το γλυκό ερέθισμα σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Η κωδικοποίηση των δειγμάτων έγινε με τυχαίους τριψήφιους αριθμούς ώστε να μην προιδεάζονται οι εθελόντριες από κλίμακες (πχ 1, 2, 3 ή Α, Β, Γ) και να υπάρχει μηδενική καθοδήγηση προς το σωστό δείγμα. Τα ποτηράκια που χρησιμοποιήθηκαν και όλα τα υπόλοιπα σκεύη (δίσκοι, ποτήρια νερού, πτυελοδοχεία κλπ) ήταν πανομοιότυπα μεταξύ τους, διατηρώντας έτσι ένα σταθερό και αμετάβλητο οπτικό πεδίο στις εθελόντριες.

Συνολικά, υπήρχαν τέσσερις δίσκοι για κάθε εθελόντρια για κάθε τύπο ερεθίσματος. Οι δύο δίσκοι για κάθε τύπο ερεθίσματος δίνονταν στην πρώτη συνεδρία και οι άλλοι δύο στην δεύτερη συνεδρία. Κάθε δίσκος περιλάμβανε επτά σειρές δοκιμαστικών ποτηριών, εκ των οποίων η κάθε μία αποτελούνταν από τρία δείγματα. Οι επτά σειρές διαλυμάτων αντιπροσώπευαν τα επτά επίπεδα συγκεντρώσεων με αύξουσα πορεία από κάτω προς τα πάνω. Τα τρία δείγματα που περιλάμβανε κάθε σειρά αποτελούνταν από ένα δείγμα-στόχο και δύο μηδενικά (καθαρό νερό) και η τοποθέτησή τους ήταν τυχαία σε κάθε σειρά. Οι εθελόντριες κλήθηκαν να δοκιμάζουν τα δείγματα ανά τριάδα διαλυμάτων, από το πρώτο κάτω αριστερά και με κατεύθυνση από αριστερά προς τα δεξιά και από κάτω (πιο αραιό) προς τα πάνω (πιο πυκνό), και να σημειώνουν στο ερωτηματολόγιο που τους είχε δοθεί το δείγμα κάθε τριάδας που είχε γλυκιά γεύση. Σε περίπτωση που δεν γνώριζαν την απάντηση, έπρεπε να μαντέψουν. Οι εθελόντριες τοποθετούσαν όλη την ποσότητα στο στόμα τους και την ανακάτευαν με τη γλώσσα τους ώσπου την απέβαλαν σε ένα πτυελοδοχείο. Μεταξύ των δοκιμών κάθε δείγματος, έπρεπε να ξεπλένουν το στόμα τους με λίγο νερό, το οποίο επίσης απέβαλαν στο πτυελοδοχείο. Η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε δύο φορές για τη σουκρόζη και δύο φορές για την ασπαρτάμη σε κάθε συνεδρία. Μετά τους δύο πρώτους

δίσκους, οι συμμετέχουσες ξεκουράζονταν από τις γευστικές δοκιμές συμπληρώνοντας άλλα ερωτηματολόγια ανάλογα με τη συνεδρία.

Τα επίπεδα συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν κατά την δοκιμασία 3-AFC ήταν επτά για κάθε τύπο ερεθίσματος και φαίνονται στον πίνακα 5.1. Η διαβάθμιση των συγκεντρώσεων των δειγμάτων έγινε με βάση τη μέθοδο ευαισθησίας των δοκιμών αραιώσης. Οι δοκιμές αραιώσης είναι ουσιαστικά η εφαρμογή στην πράξη των δοκιμών αισθαντικότητας, δηλαδή της ανίχνευσης της ελάχιστης συγκέντρωσης ενός χαρακτηριστικού στο δείγμα. Για την επίτευξη αυτού του στόχου απαιτείται μια μέτρηση της διαφοράς μεταξύ ενός προϊόντος – δείγματος μάρτυρα και διαφόρων παραλλαγών των προϊόντων. Μία δοκιμή αραιώσης ξεκινά με την εύρεση του κατάλληλου δείγματος μάρτυρα, που στο πείραμά μας ήταν εμφιαλωμένο νερό. Το δείγμα μας ήταν υδατικό διάλυμα σουκρόζης. Στη συνέχεια προσδιορίζεται η ανώτερη συγκέντρωση της ουσίας που ελέγχουμε στο δείγμα, στην περίπτωση μας της σουκρόζης. Με τη βοήθεια δύο ή τριών ευαίσθητων δοκιμαστών που είναι ευαίσθητοι στο γλυκό ερέθισμα προσδιορίζεται το ελάχιστο όριο του ερεθίσματος που γίνεται με βεβαιότητα αντιληπτό. Με τον ίδιο τρόπο επιλέγεται το μικρότερο όριο το οποίο είναι πιθανό να είναι αντιληπτό, δηλαδή η μικρότερη διαφορά μεταξύ του δείγματος μάρτυρα και του δείγματος με τη σουκρόζη που ίσως είναι πιθανό να γίνει αντιληπτό. Έπειτα ορίζεται μια σειρά αραιώσεων που συμπεριλαμβάνει τα ανώτερα και τα κατώτατα όρια που ορίστηκαν προηγουμένως. Στην περίπτωση μας έγιναν 6 αραιώσεις και προέκυψαν 7 διαλύματα με την ανώτατη συγκέντρωση σουκρόζης να είναι 10% w/v και την κατώτατη να είναι 0,15625% w/v.

Επίπεδο Συγκεντρώσεων	1	2	3	4	5	6	7
Σουκρόζη % w/v	0,15625	0,3125	0,625	1,25	2,5	5	10

Πίνακας 5.1. Επίπεδα συγκέντρωσης σουκρόζης στη δοκιμασία 3-AFC

5.4.3. Δοκιμασία gLMS

Ο τύπος γλυκού ερεθίσματος που χρησιμοποιήθηκε στη δοκιμασία ήταν η σουκρόζη (δισακχαρίτης γλυκόζης-φρουκτόζης), διαλυμένη σε εμφιαλωμένο νερό. Η σουκρόζη χρησιμοποιήθηκε επειδή αποτελεί το πιο κοινά χρησιμοποιούμενο γλυκαντικό στην περιοχή

συλλογής του δείγματος και βασικό αντιπρόσωπο της γλυκιάς γεύσης. Το εύρος των συγκεντρώσεων που χρησιμοποιήθηκαν στις αισθητηριακές μετρήσεις της δοκιμασίας απεικονίζεται στον πίνακα 5.2. Οι συγκεντρώσεις επιλέχθηκαν έτσι ώστε η χαμηλότερη συγκέντρωση να αναγνωρίζεται από όλες τις εθελόντριες, ενώ η υψηλότερη συγκέντρωση ορίστηκε έτσι ώστε να προκαλεί ένα εξαιρετικά γλυκό ερέθισμα στις εθελόντριες.

Επίπεδο Συγκεντρώσεων	1	2	3	4
Σουκρόζη % w/v	2,5%	5%	10%	20%

Πίνακας 5.2. Επίπεδα συγκεντρώσεων διαλυμάτων σουκρόζης στη δοκιμασία gLMS

Οι βαθμονομημένες κλίμακες μεγέθους (gLMS) χρησιμοποιήθηκαν για να αξιολογήσουν την αντίληψη της έντασης και της ηδονικής προτίμησης των διαφόρων συγκεντρώσεων του γλυκού ερεθίσματος. Η αξιολόγηση έγινε για κάθε διαφορετική συγκέντρωση πάνω σε έναν κάθετα βαθμονομημένο άξονα. Η κλίμακα για την αξιολόγηση της έντασης περιλάμβανε χαρακτηρισμούς από «ελάχιστα ανιχνεύσιμη» έως «μέγιστη δυνατή αίσθηση». Αντίστοιχα, η κλίμακα για την αξιολόγηση της ηδονικής προτίμησης περιλάμβανε χαρακτηρισμούς από «ισχυρότερη δυνατή απέχθεια» έως «ισχυρότερη δυνατή αρέσκεια». Κάθε δοκιμαστικό ποτηράκι περιείχε περίπου 10ml διαλύματος των διαφόρων συγκεντρώσεων σουκρόζης και όλα δόθηκαν στις εθελόντριες σε θερμοκρασία δωματίου, με σειρά αυξανόμενης συγκέντρωσης. Κάθε δείγμα είχε κωδικοποιηθεί με έναν τυχαίο τριψήφιο αριθμό. Οι εθελόντριες κλήθηκαν να τοποθετήσουν όλη την ποσότητα στο στόμα τους, να την ανακατέψουν με τη γλώσσα τους και στη συνέχεια να την αποβάλουν σε ένα πτυελοδοχείο. Στη συνέχεια τους ζητήθηκε να αξιολογήσουν την ένταση της γλυκύτητας σημειώνοντας κατάλληλα πάνω στην αντίστοιχη κλίμακα gLMS και γράφοντας τον τριψήφιο κωδικό αριθμό για κάθε δείγμα που δοκίμαζαν. Πριν προχωρήσουν στην δοκιμή του επόμενου δείγματος, οι συμμετάσχουσες έπρεπε να αξιολογήσουν και την ηδονική προτίμησή τους στην αντίστοιχη ηδονική κλίμακα gLMS, με αντίστοιχο τρόπο. Μεταξύ των δοκιμών των διαφόρων συγκεντρώσεων οι εθελόντριες ξέπλεναν το στόμα τους με εμφιαλωμένο νερό, το οποίο επίσης απέβαλαν σε πτυελοδοχείο.

5.4.4. Ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης γλυκών τροφίμων – SWEET-FFQ

Το ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων δίνει πληροφορίες για τη συνήθη διαιτητική πρόσληψη, αξιολογώντας της συχνότητας με την οποία συγκεκριμένα τρόφιμα ή ομάδες τροφίμων καταναλώνονται κατά τη διάρκεια μίας συγκεκριμένης χρονικής περιόδου. Αποτελεί την καλύτερη μέθοδο για την ανίχνευση των διαιτητικών συνηθειών μίας ομάδας ή ενός πληθυσμού, καθώς δεν έχει υψηλές απαιτήσεις από τους εξεταζόμενους, συμπληρώνεται από τους ίδιους και έχει χαμηλό κόστος. Είναι περισσότερο αντιπροσωπευτικό της συνήθους πρόσληψης διότι οι πληροφορίες συλλέγονται από μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Μανιός, 2006, pp. 31-35).

Ένα απλό, μη-ποσοτικό, SWEET-FFQ σχεδιάστηκε με σκοπό της αξιολόγηση της συνήθους πρόσληψης γλυκών τροφίμων και ποτών και δόθηκε προς συμπλήρωση στις εθελόντριες κατά την δεύτερη συνεδρία τους. Το SWEET-FFQ περιλάμβανε ένα σύνολο 138 τροφίμων και ποτών, τα οποία μοιράστηκαν σε 9 κατηγορίες: φρούτα, λαχανικά, γαλακτοκομικά, δημητριακά, υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλοσιρόπιο – σιρόπι αραβοσίτου με υψηλή περιεκτικότητα φρουκτόζης – (HFCS), σνακ, επιδόρπια, επαλειφόμενα-γλυκαντικά και αναψυκτικά-ποτά. Η συχνότητα πρόσληψης αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας οκτώ κατηγορίες: ποτέ, 1 φορά το μήνα, 2-3 φορές το μήνα, 1 φορά την εβδομάδα, 2-4 φορές την εβδομάδα, 5-6 φορές την εβδομάδα, 1 φορά την ημέρα, 2 ή περισσότερες φορές την ημέρα. Οι εθελόντριες κλήθηκαν να επιλέξουν μία απάντηση η οποία περιγράφει καλύτερα την πρόσληψη του κάθε τροφίμου κατά τον τελευταίο μήνα.

Το SWEET-FFQ περιλάμβανε επίσης συμπληρωματικές ερωτήσεις που αφορούσαν την αξιολόγηση των αγαπημένων τροφίμων, της συνήθειας των σνακ, των λιγούρων, και της προσθήκης γλυκαντικών σε ροφήματα και τρόφιμα. Έτσι υπήρχε η δυνατότητα κατανόησης της ευχαρίστησης που λαμβάνουν οι εθελόντριες από τα γλυκά. Επίσης εξετάστηκε το αν είχαν προτίμηση για γλυκά ή αλμυρά τρόφιμα, καθώς και το φαινόμενο του «γλυκατζή». Οι εθελόντριες σημείωσαν το αν οι ίδιες πίστευαν ότι ήταν «γλυκατζούδες» και κατέγραψαν την προσωπική τους αντίληψη της σημασίας του φαινομένου του «γλυκατζή». Οι

συμπληρωματικές ερωτήσεις απαντήθηκαν κυρίως λεκτικά και χρησιμοποιήθηκαν για να εμπλουτίσουν τα υπόλοιπα δεδομένα.

5.4.5. Ερωτηματολόγιο αρέσκειας γλυκών τροφίμων

Το ερωτηματολόγιο αρέσκειας γλυκών τροφίμων σχεδιάστηκε με σκοπό να μετρήσει τις ηδονικές προτιμήσεις γλυκών τροφίμων και ποτών που γνωρίζουν καλά και συνηθίζουν να καταναλώνουν οι εθελόντριες της έρευνας και τους δόθηκε κατά την δεύτερη συνεδρία. Για τη μέτρηση της ηδονικής προτίμησης χρησιμοποιήθηκε μία εκατοστιαία κλίμακα (100mm) γραμμικής σήμανσης. Τα άκρα της κλίμακας έφεραν τη σήμανση «Μου αρέσει πάρα πολύ» και «Δεν μου αρέσει καθόλου». Οι εθελόντριες κλήθηκαν να σημειώσουν σε μία προκαθορισμένη γραμμή το πόσο τους άρεσε το κάθε ένα από τα 13 τρόφιμα ή ποτά που περιλάμβανε το ερωτηματολόγιο.

5.5. Γονοτύπηση

5.5.1. Απομόνωση DNA

Η λήψη του DNA έγινε από επιθηλιακά κύτταρα παρειάς με τη χρήση ειδικής μπατονέτας. Η απομόνωση του DNA έγινε με τη χρήση του Isohelix DDK DNA Isolation Kits, το οποίο περιέχει τα εξής:

- Διάλυμα LS (Lysis buffer)
- Πρωτεϊνάση K (PK), η οποία διαλύεται σε κατάλληλη ποσότητα απιονισμένου νερού
- Διάλυμα CT (Capture buffer)
- Διάλυμα TE (Re-hydration buffer)

Η διαδικασία της απομόνωσης του DNA ακολουθεί τα εξής βήματα:

A' Μέρος – σταθεροποίηση του DNA

1. Προσθήκη 500μl διαλύματος LS στο σωλήνα που περιέχει την μπατονέτα
2. Προσθήκη 20μl διαλύματος PK στο σωλήνα. Σύντομη ανάδευση με Vortex

B' Μέρος – απομόνωση του DNA

3. Τοποθέτηση του σωλήνα σε υδατόλουτρο 60°C για 1 ώρα. Σύντομη ανάδευση με χρήση Vortex
4. Μεταφορά του υγρού από τον σωλήνα (περίπου 400μl) σε σωλήνα φυγοκέντρισης
5. Προαιρετικά: φυγοκέντριση της μπατονέτας και προσθήκη του υγρού που προκύπτει στα 400μl
6. Προσθήκη 400μl CT (500μl αν έγινε το 5). Σύντομο Vortex
7. Τοποθέτηση σωλήνα σε μικροφυγόκεντρο στη μέγιστη ταχύτητα (13.4K rpm/12,000 x g) για 7 λεπτά – το DNA θα σχηματίσει σβόλο
8. Απομάκρυνση του υπερκείμενου υγρού με προσοχή να μην καταστραφεί ο σβόλος DNA
9. Σύντομη φυγοκέντριση ξανά και απομάκρυνση του υπόλοιπου υγρού. Είναι σημαντικό να απομακρυνθεί όλο το υγρό
10. Προσθήκη 150μl διαλύματος TE στον σωλήνα
11. Αναμονή 5 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου. Σύντομο Vortex
12. Φυγοκέντριση ξανά στη μέγιστη ταχύτητα για 15 λεπτά. Μεταφορά του υπερκείμενου υγρού σε σωλήνα 1,5ml, με προσοχή να μην καταστραφεί ο σβόλος του DNA
13. Το δείγμα DNA είναι έτοιμο για χρήση. Μπορεί να αποθηκευτεί στους 4°C για σύντομο χρονικό διάστημα ή στους -20°C για μεγάλο.

5.5.2. Μέθοδος Taqman

Η τεχνολογία της γονοτύπησης που χρησιμοποιήθηκε είναι η μεθοδολογία Taqman και συγκεκριμένα το πρωτόκολλο Taqman SNP Genotyping Assays Protocol της Applied Biosystems. Η μέθοδος περιλαμβάνει μία ολοκληρωμένη συλλογή εκκινητών και ανιχνευτών ιχνηθετημένων με ειδική φθορίζουσα ουσία, που οδηγούν στο προσδιορισμό αντίστοιχων απλών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών σε ανθρώπινα δείγματα DNA. Ο κάθε ανιχνευτής περιέχει ένα φθορίζον μόριο στο 5' άκρο και ένα μόριο απόσβεσης (αδρανοποιητής) στο 3' άκρο του, οπότε ο συνδυασμός των κατάλληλα ιχνηθετημένων ανιχνευτών δίνει τη δυνατότητα να ανιχνεύονται τα διαφορετικά προϊόντα της PCR. Όταν ο κάθε ανιχνευτής Taqman δεν υβριδίζεται στο πρότυπο DNA, τότε δεν εκπέμπεται το αντίστοιχο σήμα φθορισμού, διότι τα δύο μόρια (φθορίζον και απόσβεσης) στα άκρα του βρίσκονται κοντά. Όταν όμως ο σωστός ανιχνευτής συνδεθεί με την αλληλουχία-στόχο, τότε κατά τη διάρκεια της

1. Assay components and DNA template

2. Denatured template and annealing assay components

3. Polymerization and signal generation

Legend

- V VIC® dye
- F FAM™ dye
- Q Quencher
- MGB Minor Groove Binder
- AmpliTaq Gold® DNA Polymerase
- Probe
- Primer
- Template
- Extended primer

Για την αξιολόγηση της συσχέτισης μεταξύ του γονότυπου (ποιοτική μεταβλητή) και κάποιας ποσοτικής μεταβλητής χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Ανάλυσης Διακύμανσης κατά ένα Παράγοντα (One-Way ANOVA) αν η ποσοτική ακολουθούσε κανονική κατανομή, ενώ όταν δεν την ακολουθούσε με Kruskal-Wallis. Η μηδενική και η εναλλακτική υπόθεση είναι:

- H_0 = η μέση τιμή της ποσοτικής μεταβλητής είναι ίση για τους τρεις γονότυπους, επομένως δεν υπάρχει συσχέτιση
- H_1 = η μέση τιμή διαφέρει τουλάχιστον ανάμεσα σε 2 από τους 3 γονότυπους, συνεπώς υπάρχει συσχέτιση

Για την ορθή εφαρμογή της ANOVA έγινε έλεγχος της ισότητας των διακυμάνσεων και η μηδενική υπόθεση είναι ότι η προϋπόθεση της ομοσκεδαστικότητας ισχύει.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Στατιστική ανάλυση – Αποτελέσματα

Αποτελέσματα γονοτύπησης συγκεντρώθηκαν για 38 από τις 40 εθελόντριες και χρησιμοποιήθηκαν για τη συσχέτιση γονότυπου και κατώφλιου. Στοιχεία αρέσκειας σε γλυκά τρόφιμα και κλίμακες gMLS συγκεντρώθηκαν για 28 από τις 40 εθελόντριες.

6.1. Χαρακτηριστικά εθελοντριών

Όλες οι γυναίκες που έλαβαν μέρος ήταν ελληνικής καταγωγής, 18-35 ετών και είχαν ΔΜΣ $<30\text{kg/m}^2$. Οι διακριτές κατηγορικές και ποσοτικές μεταβλητές που επιλέχθηκαν να συσχετισθούν με τον γονότυπο για το γονίδιο *FTO* (AA, AT και TT) είναι οι εξής:

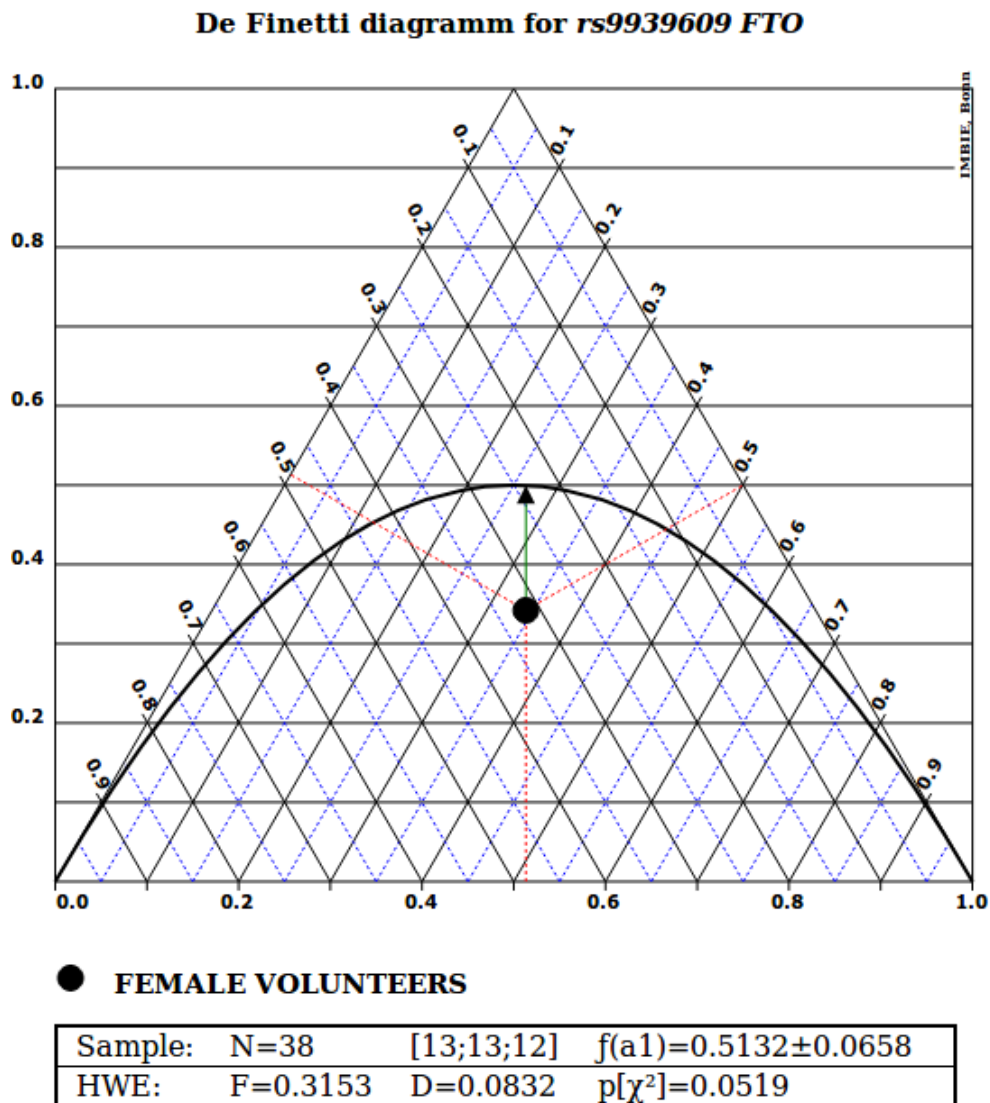
- Ο γεωμετρικός μέσος του Καλύτερα Εντοπισμένου Κατώφλιου, υπολογισμένο μέσω της 3-AFC
- Η μέση αρέσκεια στα γλυκά τρόφιμα (13 τρόφιμα), σε κλίμακα 0-100mm
- Η αξιολόγηση της ηδονικότητας της γλυκιάς γεύσης στα τέσσερα δείγματα σουκρόζης με την κλίμακα gLMS, σε κλίμακα 0-200mm
- Η αξιολόγηση της έντασης της γλυκιάς γεύσης στα τέσσερα δείγματα σουκρόζης με την κλίμακα gLMS, σε κλίμακα 0-100mm
- Το φαινόμενο του “γλυκατζή”, με δύο κατηγορίες “Ναι” και “Όχι”

6.1.1. Ισορροπία Hardy-Weinberg

Με το διάγραμμα De Finetti αναπαρίσταται η κατανομή των συχνοτήτων των γονότυπων και η συχνότητα των αλληλόμορφων για έναν γενετικό τόπο με δύο αλληλόμορφα. Για τον έλεγχο αν ο πληθυσμός βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg η μηδενική και η εναλλακτική υπόθεση είναι:

- H_0 : ο πληθυσμός βρίσκεται σε ισορροπία H-W
- H_1 : ο πληθυσμός δεν βρίσκεται σε ισορροπία H-W,

και χρησιμοποιείται ο έλεγχος χ^2 καλής προσαρμογής. Αν το επίπεδο σημαντικότητας $p > 0,05$, τότε ισχύει η H_0 , ενώ ισχύει η H_1 αν $p < 0,05$.



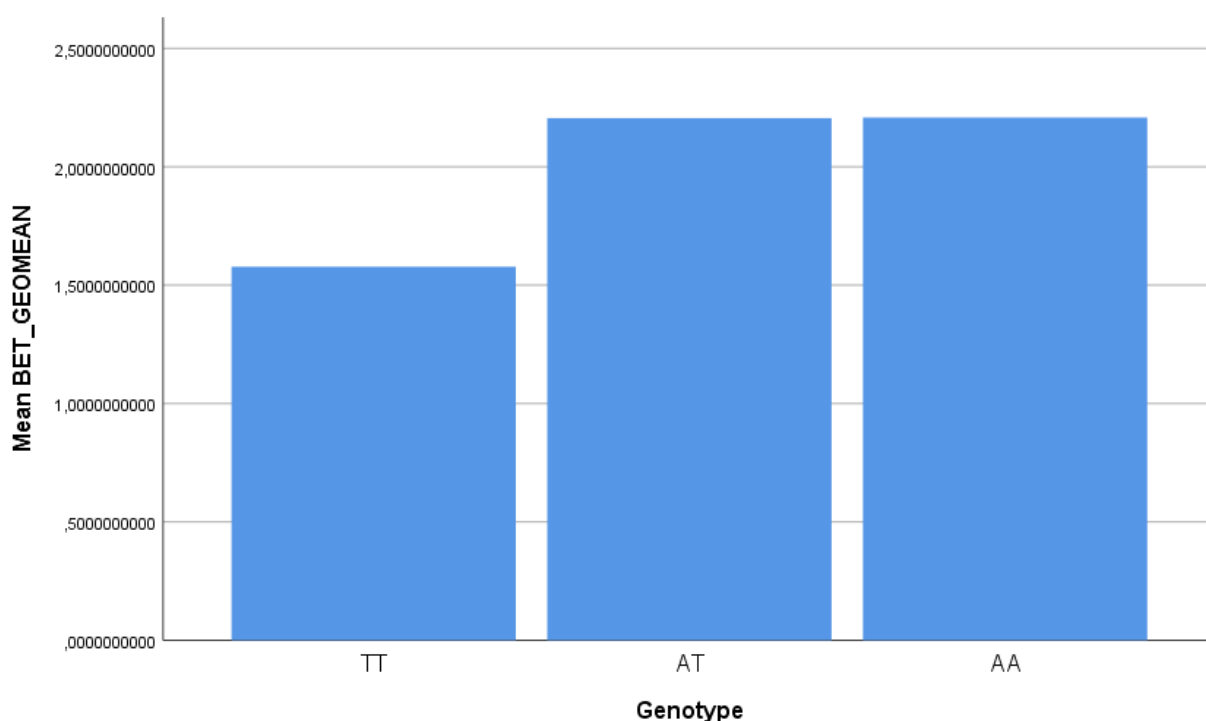
Σχήμα 6.1. Διάγραμμα De Finetti για τον πολυμορφισμό rs9939609

Από τις εθελόντριες, 13 είχαν γονότυπο TT , 13 AT και 12 AA, ενώ για δύο δεν βρέθηκε ο γονότυπος. Παρατηρούμε ότι $p=0,0519>0,05$, επομένως ισχύει η μηδενική υπόθεση και ο πληθυσμός που μελετάται, δηλαδή οι εθελόντριες, βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg.

6.2. Έλεγχος συσχετίσεων

6.2.1. Γονότυπος και Καλύτερα Εντοπισμένο Κατώφλιο (BET)

Για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ του γονότυπου των εθελοντριών και του καλύτερα εντοπισμένου κατωφλίου (BET) χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Kruskal-Wallis, διότι δεν ακολουθεί την κανονική κατανομή. Διαπιστώθηκε ότι το κατώφλιο δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των τριών γονότυπων AA, AT και TT ($p=0,210$). Παρότι τα αποτελέσματα δεν είναι στατιστικά σημαντικά, στο σχήμα 6.2. φαίνεται πως η τιμή του κατωφλίου είναι η μικρότερη στους ομοζυγώτες TT και μεγαλύτερη στους ομοζυγώτες AA και τους ετεροζυγώτες AT.



Σχήμα 6.2. Μέση τιμή κατωφλίου για κάθε γονότυπο

6.2.2. Γονότυπος και αρέσκεια στα γλυκά τρόφιμα και κλίμακες gLMS

Η μέση τιμή της αρέσκειας στα γλυκά τρόφιμα, όπως υπολογίσθηκε από το ερωτηματολόγιο αρέσκειας 13 γλυκών τροφίμων σε εκατοστιαία κλίμακα (100mm) γραμμικής σήμανσης, της ηδονικής προτίμησης και της αξιολόγησης της έντασης του γλυκού για 4 διαλύματα σουκρόζης, 2,5, 5, 10 και 20% w/v που αξιολογήθηκαν με τις κλίμακες gLMS, συσχετίσθηκε με τον γονότυπο των εθελοντριών. Χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Kruskal-Wallis για όλες τις μεταβλητές, καθώς οι περισσότερες από αυτές δεν ακολουθούσαν κανονική

κατανομή. Τα αποτελέσματα απεικονίζονται στον πίνακα 6.2. Καμία από τις μεταβλητές δεν βρέθηκε να διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των τριών γονότυπων ΤΤ, ΑΤ και ΑΑ.

Μέση τιμή	Γονότυπος			p
	ΤΤ	ΑΤ	ΑΑ	
Αρέσκεια στα γλυκά τρόφιμα	53,03429901	64,01709403	59,19230602	0,355
Ηδονικότητα 2,5% w/v	125,22	116,67	110,54	0,177
Ηδονικότητα 5% w/v	142,78	134,33	123,70	0,384
Ηδονικότητα 10% w/v	143,33	127,11	132,70	0,467
Ηδονικότητα 20% w/v	131,44	109,22	126,60	0,472
Αξιολόγηση έντασης 2,5% w/v	31,11	36,22	30,40	0,730
Αξιολόγηση έντασης 5% w/v	58,44	56,44	53,30	0,901
Αξιολόγηση έντασης 10% w/v	77,11	73,11	71,10	0,799
Αξιολόγηση έντασης 20% w/v	92,11	91,67	87,50	0,717

Πίνακας 6.1. Μέση τιμή αρέσκειας, ηδονικότητας και αξιολόγησης έντασης για κάθε γονότυπο

6.2.3. Γονότυπος και φαινόμενο του “γλυκατζή”

Για τον έλεγχο συσχέτισης μεταξύ του γονότυπου και του φαινομένου του γλυκατζή χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος ανεξαρτησίας χ^2 . Οι τρεις κατηγορίες του γονότυπου είναι ΑΑ, ΑΤ και ΤΤ, και οι δύο κατηγορίες του “γλυκατζή” είναι ‘Ναι’ και ‘Όχι’. Από την ανάλυση προέκυψε η τιμή του κριτηρίου $\chi^2=4,692$ και του επιπέδου στατιστικής σημαντικότητας $p=0,101>0,05$, επομένως οι δύο μεταβλητές είναι ανεξάρτητες.

		Γονότυπος		
		ΤΤ	ΑΤ	ΑΑ
Γλυκατζής	ΝΑΙ	4	3	8
	ΟΧΙ	5	6	2

Πίνακας 6.2. Αριθμός ατόμων με ‘Ναι’ και ‘Όχι’ στο φαινόμενο του “γλυκατζή” για κάθε γονότυπο

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Συμπεράσματα - Συζήτηση

7.1. Κύρια ευρήματα

Η παρούσα πειραματική μελέτη βασίστηκε στην υπόθεση ότι η δράση του γονιδίου *FTO* στον υποθάλαμο επιδρά στον ουδό αντίληψης, στην αρέσκεια, στην ηδονικότητα και στην αντίληψη της έντασης της γλυκιάς γεύσης, καθώς και στο φαινόμενο του “γλυκατζή”. Μελετήθηκε ο πολυμορφισμός rs9939609 του γονιδίου με αλληλόμορφα A (κινδύνου) και T, όμως η μελέτη δεν κατάφερε να εξάγει στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα.

Αναλυτικότερα:

- το κατώφλιο έδειξε να έχει μικρότερη μέση τιμή για τα άτομα που είχαν γονότυπο TT σε σχέση με αυτά που είχαν AA και AT, άρα το αλληλόμορφο κινδύνου A ίσως συσχετίζεται με αυξημένο κατώφλι αντίληψης της γλυκιάς γεύσης, ωστόσο τα αποτελέσματα της ανάλυσης δεν είναι στατιστικά σημαντικά
- δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της μέσης τιμής αρέσκειας στα 13 γλυκά τρόφιμα με τον γονότυπο
- δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της μέσης τιμής ηδονικότητας της γλυκιάς γεύσης σε όλες τις συγκεντρώσεις δ/των σουκρόζης με τον γονότυπο
- η μέση τιμή αξιολόγησης της έντασης της γλυκιάς γεύσης (γλυκύτητας) σε όλες τις συγκεντρώσεις δεν συσχετίζεται με τον γονότυπο
- δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της αυτο- αξιολόγησης στον χαρακτηρισμό του “γλυκατζή” με τον γονότυπο

7.2. Περιορισμοί μελέτης

Η παρούσα μελέτη αποτελεί ένα μέρος μιας μεγαλύτερης έρευνας που αφορά τη μελέτη του γενετικού υπόβαθρου της γευστικής λειτουργίας σε πληθυσμό με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, επομένως τέθηκαν συγκεκριμένοι περιορισμοί. Το δείγμα αποτελούταν μόνο από γυναίκες, με σκοπό την αποφυγή πολλών συγχυτικών παραγόντων και τελικά ήταν αρκετά

ομοιογενές στερώντας του την αντιπροσωπευτικότητα για το σύνολο του πληθυσμού της Ελλάδας. Το τελικό δείγμα είχε πολύ μικρή ηλικιακή διακύμανση (21,6 +/-2,47 έτη) και φυσιολογικό Δείκτη Μάζας Σώματος (22,17+/-2,72 kg/m²). Λόγω του μέρους όπου διεξήχθησαν οι δοκιμές, η πλειοψηφία των συμμετεχουσών ήταν φοιτήτριες Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου, οπότε οι διατροφικές τους επιλογές ήταν περισσότερο αυτο-ελεγχόμενες. Αυτό βέβαια βοήθησε στην ευκολότερη διεξαγωγή του πειράματος, καθώς υπήρχε κάποιος βαθμός εξοικείωσης των εθελοντριών.

Το ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης γλυκών τροφίμων (SWEET-FFQ) καθώς και το ερωτηματολόγιο αρέσκειας 13 γλυκών τροφίμων σχεδιάστηκαν για τη συγκεκριμένη μελέτη, διότι δεν υπήρχαν άλλα διαθέσιμα αξιόπιστα εργαλεία. Μελλοντικά θα μπορούσαν να τυποποιηθούν κάποια τέτοια εργαλεία αξιολόγησης της πρόσληψης και της αρέσκειας συγκεκριμένα γλυκών τροφίμων. Από την άλλη, οι κλίμακες ηδονικότητας και έντασης είναι μεν αξιόπιστες, όμως υπόκεινται στην υποκειμενικότητα του ατόμου και αυτό μπορεί να επιφέρει αποκλίσεις από την θεωρητικά πραγματική κατάσταση.

Από την ανάλυση των δεδομένων δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα όσον αφορά τη συσχέτιση του πολυμορφισμού rs9939609 με το κατώφλιο αντίληψης, την ηδονικότητα, την αξιολόγηση της έντασης γλυκύτητας και το φαινόμενο του “γλυκατζή”. Αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στο γεγονός ότι το δείγμα ήταν πολύ μικρό (38 άτομα στο κατώφλιο, 28 στις άλλες μεταβλητές), δεδομένου ότι η μελέτη στοχεύει στην παρουσίαση επίδρασης του γονοτύπου (Α αλληλόμορφο του rs9939609) στον φαινότυπο (οι μεταβλητές που μελετήθηκαν).

7.3. Συμπεράσματα

Η λειτουργικότητα του γονιδίου *FTO* μέχρι και σήμερα δεν είναι απόλυτα γνωστή. Έχει παρατηρηθεί ισχυρή συσχέτιση του πολυμορφισμού rs9939609 με την παχυσαρκία (κεφάλαιο 4.3.), όμως ο υποκείμενος βιολογικός μηχανισμός παραμένει αδιευκρίνιστος. Η μελέτη των Wiemerslage και συν. υποστηρίζει ότι το *FTO* εμπλέκεται σε λειτουργίες του υποθαλάμου που αφορούν την κατανάλωση τροφής, την πείνα και τον κορεσμό. Πιο συγκεκριμένα, τα άτομα

που έφεραν το αλληλόμορφο κινδύνου A, συγκριτικά με τους ομοζυγώτες TT, είχαν αυξημένη δραστηριότητα στην όψη εικόνων φαγητού σε περιοχές που σχετίζονται με το συναίσθημα, τη μνήμη, την αυτο- εικόνα και την ανταμοιβή (Wiemerslage et al., 2016). Οι Karra και συν. πρότειναν ότι το *FTO* επιδρά στους μηχανισμούς ή στα νευρικά κυκλώματα που ρυθμίζουν τις αλλαγές της ηδονικής απόκρισης στο φαγητό, και συγκεκριμένα παρατήρησαν ότι τα άτομα με γονότυπο AA για τον πολυμορφισμό rs9939609 χαρακτήρισαν ως πιο ελκυστικές εικόνες φαγητών πλούσιων σε ενέργεια σε σχέση με τα άτομα με TT (Karra et al., 2013).

Από την άλλη, η γλυκιά γεύση χρήζει περαιτέρω έρευνας διότι είναι πιθανό να επηρεάζεται από πολλούς ακόμα άγνωστους ως τώρα παράγοντες. Το κατώφλιο αντίληψης της γλυκιάς γεύσης, η αρέσκεια, η ηδονικότητα και η αντίληψη της έντασης του γλυκού εμπλέκονται επίσης σε λειτουργίες του υποθαλάμου, όπως και το γονίδιο *FTO*. Όπως περιγράφηκε από τις παραπάνω μελέτες, το *FTO* επηρεάζει την αντίληψη και τη συναισθηματική απόκριση στα θερμιδικά πλούσια φαγητά, επομένως είναι πιθανόν το *FTO* να συμμετέχει και στην αντίληψη και ηδονικότητα της γλυκιάς γεύσης και των γλυκών τροφίμων, τα οποία είναι θερμιδικά πλούσια.

Έτσι, στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η υπόθεση ο πολυμορφισμός rs9939609 του γονιδίου *FTO* που εκφράζεται στον υποθάλαμο να εμφανίζει συσχέτιση με παραμέτρους αντίληψης της γλυκιάς γεύσης, που με τη σειρά τους επιδρούν στην κατανάλωση γλυκών τροφίμων, με αποτέλεσμα την αύξηση του σωματικού βάρους. Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης δεν συνηγορούν στην υποστήριξη αυτής της υπόθεσης χωρίς ωστόσο να έχουν την ισχύ να απορρίψουν ολοκληρωτικά μια πιθανή συσχέτιση του πολυμορφισμού rs9939609 με το κατώφλιο αντίληψης της γλυκιάς γεύσης. Η διεξαγωγή μελετών σε μεγαλύτερο δείγμα εθελοντών, θα επέτρεπε να ελεγχθεί αποτελεσματικότερα η ισχύς ή η απόρριψη της παραπάνω υπόθεσης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Arrondo, G., Murray, G. K., Hill, E., Szalma, B., Yathiraj, K., Denman, C., & Dudas, R. B. (2015). Hedonic and disgust taste perception in borderline personality disorder and depression. *The British Journal of Psychiatry*, 207(1), 79–80.
<http://doi.org/10.1192/bjp.bp.114.150433>
- Bachmanov, A. A., Bosak, N. P., Lin, C., Matsumoto, I., Ohmoto, M., Reed, D. R., & Nelson, T. M. (2014). Genetics of Taste Receptors. *Current Pharmaceutical Design*, 20(16), 2669–2683.
<https://doi.org/10.2174/13816128113199990566>
- Barlow, L. A., & Klein, O. D. (2015). Developing and Regenerating a Sense of Taste. *Current Topics in Developmental Biology*, 111, 401-419.
<https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2014.11.012>
- Beauchamp, G. K., Cowart, B. J., & Moran, M. (1986). Developmental changes in salt acceptability in human infants. *Developmental Psychobiology*, 19(1), 17-25.
<https://doi.org/10.1002/dev.420190103>
- Bi, J. (2015). Sensory Discrimination Tests and Measurements: Sensometrics in Sensory Evaluation. 2nd Edition, Oxford: Wiley/Blackwell Publishing. ISBN: 978-1-118-73353-0
- Blass, E. M., & Watt, L. B. (1999). Suckling- and sucrose-induced analgesia in human newborns. *Pain*, 83(3), 611-623.
- Boissel, S., Reish, O., Proulx, K., Kawagoe-Takaki, H., Sedgwick, B., Yeo, G. S. H., Meyre, D., Golzio, C., Molinari, F., Kadhom, N., Etchevers, H. C., Saudek, V., Farooqi, I. S., Froguel, P., Lindahl, T., O'Rahilly, S., Munnich, A., & Colleaux, L. (2009). Loss-of-Function Mutation in the Dioxygenase-Encoding *FTO* Gene Causes Severe Growth Retardation and Multiple Malformations. *American Journal of Human Genetics*, 85(1), 106–111.
<http://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.06.002>

- Cao, J., Huang, S., Qian, J., Huang, J., Jin, L., Su, Z., & Liu, J. (2009). Evolution of the class C GPCR Venus flytrap modules involved positive selected functional divergence. *BMC Evolutionary Biology*, 9:67. <http://doi.org/10.1186/1471-2148-9-67>
- Chambers, E., & Baker Wolf, M. (1996). Sensory Testing Methods: Second Edition. ASTM Manual Series, No. 26. ASTM International (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS)
- Chandrashekar, J., Mark A. Hoon, M. A., Ryba, N. J. P., & Zuker, C. S. (2006). The receptors and cells for mammalian taste. *Nature*, 444, 288-294. <http://dx.doi.org/10.1038/nature05401>
- Chaudhari, N., & Roper, S. D. (2010). The cell biology of taste. *The Journal of Cell Biology*, 190(3), 285–296. <http://doi.org/10.1083/jcb.201003144>
- Chaudhari, N., & Roper, S. D. (2010). The cell biology of taste. *The Journal of Cell Biology*, 191(2), 429. <http://doi.org/10.1083/jcb.20100314420100927c>
- Chéron, J.-B., Golebiowski, J., Antonczak, S., & Fiorucci, S. (2017). The anatomy of mammalian sweet taste receptors. *Proteins*, 85(2), 332-341. <https://doi.org/10.1002/prot.25228>
- Clapp, T. R., Trubey, K. R., Vandenbeuch, A., Stone, L. M., Margolskee, R. F., Chaudhari, N., & Kinnamon, S. C. (2008). Tonic activity of Gα-gustducin regulates taste cell responsivity. *FEBS Letters*, 582(27), 3783–3787. <http://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.10.007>
- Clark-Gambelunghe, M. B., & Clark, D. A. (2015). Sensory Development. *Pediatric Clinics of North America*, 62(2), 367-384. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2014.11.003>
- Cornier, M.-A., Shott, M. E., Thomas, E. A., Bechtell, J. L., Bessesen, D. H., Tregellas, J. R., & Frank, G. K. (2015). The Effects of Energy Balance, Obesity-Prone and Sex on the Neuronal Response to Sweet Taste. *Behavioural Brain Research*, 278, 446–452. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.10.024>

Costanzo, L. S. (2010). Φυσιολογία (4η Αγγλική): Ιατρικές Εκδόσεις Λαγός Δημήτριος.

De Carli, L., Gambino, R., Lubrano, C. Rosato, R., Bongiovanni, D., Lanfranco, F., Broglio, F., Ghigo, E., & Bo, S. (2017). Impaired taste sensation in type 2 diabetic patients without chronic complications: a case–control study. *Journal of Endocrinological Investigation*, pp 1–8. <https://doi.org/10.1007/s40618-017-0798-4>

Dina, C., Meyre, D., Gallina, S., Durand, E., Körner, A., Jacobson, P., Carlsson, L. M., Kiess, W., Vatin, V., Lecoœur, C., Delplanque, J., Vaillant, E., Pattou, F., Ruiz, J., Weill, J., Levy-Marchal, C., Horber, F., Potoczna, N., Hercberg, S., Le Stunff, C., Bougnères, P., Kovacs, P., Marre, M., Balkau, B., Cauchi, S., Chèvre, J. C., & Froguel, P. (2007). Variation in *FTO* contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nature Genetics*, 39(6), 724–726. <https://doi.org/10.1038/ng2048>

Doaei, S., Kalantari, N., Mohammadi, N. K., Tabesh, G. A., & Gholamalizadeh, M. (2017). Macronutrients and the *FTO* gene expression in hypothalamus; a systematic review of experimental studies. *Indian Heart Journal*, 69(2), 277–281. <http://doi.org/10.1016/j.ihj.2017.01.014>

Fox, S. I. (2013). Φυσιολογία του ανθρώπου (Κ. Μανδρούκας, Eds.) (9η Αγγλική): Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε.

Frayling, T. M., Timpson, N. J., Weedon, M. N., Zeggini, E., Freathy, R. M., Lindgren, C. M., Perry, J. R., Elliott, K. S., Lango, H., Rayner, N. W., Shields, B., Harries, L. W., Barrett, J. C., Ellard, S., Groves, C. J., Knight, B., Patch, A. M., Ness, A. R., Ebrahim, S., Lawlor, D. A., Ring, S. M., Ben-Shlomo, Y., Jarvelin, M. R., Sovio, U., Bennett, A. J., Melzer, D., Ferrucci, L., Loos, R. J., Barroso, I., Wareham, N. J., Karpe, F., Owen, K. R., Cardon, L. R., Walker, M., Hitman, G. A., Palmer, C. N., Doney, A. S., Morris, A. D., Smith, G. D., Hattersley, A. T., & McCarthy, M. I. (2007). A Common Variant in the *FTO* Gene Is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. *Science (New York, N.Y.)*, 316(5826), 889–894. <http://doi.org/10.1126/science.1141634>

Fredriksson, R., Hägglund, M., Olszewski, P. K., Stephansson, O., Jacobsson, J. A., Olszewska, A. M., Levine, A. S., Lindblom, J., Schiöth, H. B. (2008). The obesity gene, *FTO*, is of ancient origin, up-regulated during food deprivation and expressed in neurons of feeding-related nuclei of the brain. *Endocrinology*, 149(5), 2062–2071.

<https://doi.org/10.1210/en.2007-1457>

Gerken, T., Girard, C. A., Tung, Y.-C. L., Webby, C. J., Saudek, V., Hewitson, K. S., Yeo, G. S., McDonough, M. A., Cunliffe, S., McNeill, L. A., Galvanovskis, J., Rorsman, P., Robins, P., Prieur, X., Coll, A. P., Ma, M., Jovanovic, Z., Farooqi, I. S., Sedgwick, B., Barroso, I., Lindahl, T., Ponting, C. P., Ashcroft, F. M., O'Rahilly, S. & Schofield, C. J. (2007). The Obesity-Associated *FTO* Gene Encodes a 2-Oxoglutarate-Dependent Nucleic Acid Demethylase. *Science (New York, N.Y.)*, 318(5855), 1469–1472.

<http://doi.org/10.1126/science.1151710>

Hall, J. E. (2016). Ιατρική Φυσιολογία (Guyton and Hall) (13η Αγγλική): Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε.

Harrison, D., Stevens, B., Bueno, M., Yamada, J., Adams-Webber, T., Beyene, J., & Ohlsson, A. (2010). Efficacy of sweet solutions for analgesia in infants between 1 and 12 months of age: a systematic review. *Archives of Disease in Childhood*, 95(6), 406–413.

<http://dx.doi.org/10.1136/adc.2009.174227>

Hernández-Caballero, M. E. & Sierra-Ramírez, J. A. (2015). Single nucleotide polymorphisms of the *FTO* gene and cancer risk: an overview. *Molecular Biology Reports*, 42(3), 699-704.

<https://doi.org/10.1007/s11033-014-3817-y>

ISO 13301:2002

Joseph, P. V., Reed, D. R., & Mennella, J. A. (2016). Individual Differences among Children in Sucrose Detection Thresholds: Relationship with Age, Sex, and Bitter Taste Genotype.

- Karra, E., O'Daly, O. G., Choudhury, A. I., Yousseif, A., Millership, S., Neary, M. T., Scott, W. R., Chandarana, K., Manning, S., Hess, M. E., Iwakura, H., Akamizu, T., Millet, Q., Gelegen, C., Drew, M. E., Rahman, S., Emmanuel, J. J., Williams, S. C., Rüther, U. U., Brüning, J. C., Withers, D. J., Zelaya, F. O., & Batterham, R. L. (2013). A link between *FTO*, ghrelin, and impaired brain food-cue responsivity. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(8), 3539–3551. <http://doi.org/10.1172/JCI44403>
- Lawless, H. T. (2012). *Laboratory exercises for sensory evaluation*: Springer Science & Business Media.
- Lawless, H. T. (2013). *Quantitative Sensory Analysis Psychophysics, Models and Intelligent Design*.
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: principles and practices*: Springer Science & Business Media.
- Liman, E. R., Zhang, Y. V., & Montell, C. (2014). Peripheral Coding of Taste. *Neuron*, 81(5), 984–1000. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.02.022>
- Lindemann, B. (1996). Chemoreception: Tasting the sweet and the bitter. *Current Biology*, 6(10), 1234–1237. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(96\)00704-X](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(96)00704-X)
- Livingstone, K. M., Celis-Morales, C., Lara, J., Ashor, A. W., Lovegrove, J. A., Martinez, J. A., Saris, W. H., Gibney, M., Manios, Y., Traczyk, I., Dreven, C. A., Daniel, H., Gibney, E. R., Brennan, L., Bouwman, J., Grimaldi, K. A., Mathers, J. C. & Food4Me (2015). Associations between *FTO* genotype and total energy and macronutrient intake in adults: a systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews*, 16(8), 666–678. <https://doi.org/10.1111/obr.12290>

- Liu, S. J., Tang, H. L., He, Q., Lu, P., Fu T., Xu, X. L., Su, T., Gao, M. M., Duan, S., Luo, Y., & Long Y. S. (2018). *FTO* is a transcriptional repressor to auto-regulate its own gene and potentially associated with homeostasis of body weight. *Journal of Molecular Cell Biology*. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjy028>
- Liu, A. L., Xie, H. J., Xie, H. Y., Liu, J., Yin, J., Hu, J. S., & Peng, C. Y. (2017). Association between fat mass and obesity associated (*FTO*) gene rs9939609 A/T polymorphism and polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *BMC Medical Genetics*, 18, 89. <http://doi.org/10.1186/s12881-017-0452-1>
- Loos, R. J. and Bouchard, C. (2008). *FTO*: the first gene contributing to common forms of human obesity. *Obesity Reviews*, 9(3), 246-250. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2008.00481.x>
- Low, Y. Q., Lacy, K., & Keast, R. (2014). The Role of Sweet Taste in Satiation and Satiety. *Nutrients*, 6(9), 3431–3450. <http://doi.org/10.3390/nu6093431>
- Martin, B., Shin, Y.-K., White, C. M., Ji, S., Kim, W., Carlson, O. D., Napora, J. K., Chadwick, W., Chapter, M., Waschek, J. A., Mattson, M. P., Maudsley, S., & Egan, J. M. (2010). Vasoactive Intestinal Peptide–Null Mice Demonstrate Enhanced Sweet Taste Preference, Dysglycemia, and Reduced Taste Bud Leptin Receptor Expression. *Diabetes*, 59(5), 1143–1152. <http://doi.org/10.2337/db09-0807>
- McLaughlin, S. K., McKinnon, P. J., & Margolskee, R. F. (1992). Gustducin is a taste-cell-specific G protein closely related to the transducins. *Nature*, 357, 563-569. <https://doi.org/10.1038/357563a0>
- Margolskee, R. F. (2002). Molecular Mechanisms of Bitter and Sweet Taste Transduction. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(1), 1-4. <https://doi.org/10.1074/jbc.R100054200>

- Mennella, J. A. (2014). Ontogeny of taste preferences: basic biology and implications for health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 99(3), 704S–711S.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.113.067694>
- Mennella, J. A., Bobowski, N. K., & Reed, D. R. (2016). The development of sweet taste: From biology to hedonics. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 17(2), 171–178.
<http://doi.org/10.1007/s11154-016-9360-5>
- Miller, A., Barr, R. G., & Young, S. N. (1994). The cold pressor test in children: methodological aspects and the analgesic effect of intraoral sucrose. *Pain*, 56(2), 175–183.
[https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90092-2](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)90092-2)
- Nagai, M., Matsumoto, S., Endo, J., Sakamoto, R., & Wada, M. (2015). Sweet taste threshold for sucrose inversely correlates with depression symptoms in female college students in the luteal phase. *Physiology & Behavior*, 141, 92-96.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.01.003>
- Nakagawa, Y., Nagasawa, M., Yamada, S., Hara, A., Mogami, H., Nikolaev, V. O., Lohse, M. J.,³ Shigemura, N., Ninomiya, Y., & Kojima, I. (2009). Sweet Taste Receptor Expressed in Pancreatic β -Cells Activates the Calcium and Cyclic AMP Signaling Systems and Stimulates Insulin Secretion. *PLoS ONE*, 4(4), e5106.
<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0005106>
- Olszewski, P. K., Fredriksson, R., Olszewska, A. M., Stephansson, O., Alsiö, J., Radomska, K. J., Levine, A. S., & Schiöth, H. B. (2009). Hypothalamic *FTO* is associated with the regulation of energy intake not feeding reward. *BMC Neuroscience*, 10, 129.
<http://doi.org/10.1186/1471-2202-10-129>
- Pepino, M. Y., & Mennella, J. A. (2005). Sucrose-Induced Analgesia is related to Sweet Preferences in Children but not Adults. *Pain*, 119(1-3), 210–218.
<http://doi.org/10.1016/j.pain.2005.09.029>

Peters, T., Ausmeier, T., & Rüther, U. (1999). Cloning of Fatso (*Fto*), a novel gene deleted by the Fused toes (*Ft*) mouse mutation. *Mammalian Genome*, 10, 983–986.

<https://doi.org/10.1007/s003359901144>

Peters, T., Ausmeier, K., Dildrop, R., & Rüther, U. (2002). The mouse Fused toes (*Ft*) mutation is the result of a 1.6-Mb deletion including the entire Iroquois B gene cluster. *Mammalian Genome*, 13(4), 186-188. <https://doi.org/10.1007/s00335-001-2142-7>

Przeliorz-Pyszczyk, A., Regulska-Ilow, B. (2017). The role of macronutrient intake in reducing the risk of obesity and overweight among carriers of different polymorphisms of *FTO* gene. A review. *Annals of the National Institute of Hygiene (Roczniki Państwowego Zakładu Higieny)*, 68(1), 5-13.

Rendo, T., Moleres, A., & Marti Del Moral, A. (2009). Effects of the *FTO* gene on lifestyle intervention studies in children. *Obesity Facts*, 2(6), 393-9.

<https://doi.org/10.1159/000262296>

Rosenstein, D., & Oster, H. (1988). Differential facial responses to four basic tastes in newborns. *Child Development*, 59(6), 1555–1568. <http://dx.doi.org/10.2307/1130670>

Scott, L. J., Mohlke, K. L., Bonnycastle, L. L., Willer, C. J., Li, Y., Duren, W. L., Erdos, M. R., Stringham, H. M., Chines, P. S., Jackson, A. U., Prokunina-Olsson, L., Ding, C. J., Swift, A. J., Narisu, N., Hu, T., Pruim, R., Xiao, R., Li, X. Y., Conneely, K. N., Riebow, N. L., Sprau, A. G., Tong, M., White, P. P., Hetrick, K. N., Barnhart, M. W., Bark, C. W., Goldstein, J. L., Watkins, L., Xiang, F., Saramies, J., Buchanan, T. A., Watanabe, R. M., Valle, T. T., Kinnunen, L., Abecasis, G. R., Pugh, E. W., Doheny, K. F., Bergman, R. N., Tuomilehto, J., Collins, F. S., & Boehnke, M. (2007). A Genome-Wide Association Study of Type 2 Diabetes in Finns Detects Multiple Susceptibility Variants. *Science (New York, N.Y.)*, 316(5829), 1341–1345. <http://doi.org/10.1126/science.1142382>

- Scuteri, A., Sanna, S., Chen, W.-M., Uda, M., Albai, G., Strait, J., Najjar, S., Nagaraja, R., Orrú, M., Usala, G., Dei, M., Lai, S., Maschio, A., Busonero, F., Mulas, A., Ehret, G. B., Fink, A. A., Weder, A. B., Cooper, R. S., Galan, P., Chakravarti, A., Schlessinger, D., Cao, A., Lakatta, E., & Abecasis, G. R. (2007). Genome-Wide Association Scan Shows Genetic Variants in the *FTO* Gene Are Associated with Obesity-Related Traits. *PLoS Genetics*, 3(7), e115. <http://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030115>
- Shin, Y.-K., Martin, B., Golden, E., Doston, C. D., Maudsley, S., Kim, W., Jang, H.-J., Mattson, M. P., Drucker, D. J., Egan, J. M., & Munger, S. D. (2008). Modulation of taste sensitivity by GLP-1 signaling. *Journal of Neurochemistry*, 106(1), 455–463. <http://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05397.x>
- Speakman, J. R. (2015). The ‘Fat Mass and Obesity Related’ (*FTO*) gene: Mechanisms of Impact on Obesity and Energy Balance. *Current Obesity Reports*, 4(1), 73-91. <https://doi.org/10.1007/s13679-015-0143-1>
- Spielman, A. I. (1998). Gustducin and its Role in Taste. *Journal of Dental Research*, 77(4), 539-544. <https://doi.org/10.1177/00220345980770040601>
- Steiner, J. E., Glaser, D., Hawilo, M. E., Berridge, K. C. (2001). Comparative expression of hedonic impact: affective reactions to taste by human infants and other primates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25(1), 53–74. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(00\)00051-8](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00051-8)
- Stratakis, C. A., Lafferty, A., Taymans, S. E., Gafni, R. I., Meck, J. M., & Blacato, J. (2000). Anisomastia Associated with Interstitial Duplication of Chromosome 16, Mental Retardation, Obesity, Dysmorphic Facies, and Digital Anomalies: Molecular Mapping of a New Syndrome by Fluorescent *in Situ* Hybridization and Microsatellites to 16q13 (*D16S419-D16S503*). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(9), 3396–3401. <https://doi.org/10.1210/jcem.85.9.6776>

- Taruno, A., Vingtdeux, V., Ohmoto, M., Ma, Z., Dvoryanchikov, G., Li, A., Adrien, L., Zhao, H., Leung, S., Abernethy, M., Koppel, J., Davies, P., Civan, M. M., Chaudhari, N., Matsumoto, I., Hellekant, G., Tordoff, M. G., Marambaud, P., & Foskett, J. K. (2013). CALHM1 ion channel mediates purinergic neurotransmission of sweet, bitter and umami tastes. *Nature*, 495(7440), 223–226. <http://doi.org/10.1038/nature11906>
- Thiel, B. A., Chakravarti, A., Cooper, R. S., Luke, A., Lewis, S., Lynn, A., Tiwari, H., Schork, N. J., & Weder, A. B. (2003). A Genome-Wide Linkage Analysis Investigating the Determinants of Blood Pressure in Whites and African Americans. *American Journal of Hypertension*, 16(2), 151–153. [https://doi.org/10.1016/S0895-7061\(02\)03246-6](https://doi.org/10.1016/S0895-7061(02)03246-6)
- Tomonari, H., Miura, H., Nakayama, A., Matsumura, E., Ooki, M., Ninomiya, Y., & Harada, S. (2012). Gα-gustducin Is Extensively Coexpressed with Sweet and Bitter Taste Receptors in both the Soft Palate and Fungiform Papillae but Has a Different Functional Significance. *Chemical Senses*, 37(3), 241–251. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjr098>
- Tordoff, M. G., Alarcón, L. K., Valmeki, S., & Jiang, P. (2012). T1R3: A human calcium taste receptor. *Scientific Reports*, 2, 496. <http://doi.org/10.1038/srep00496>
- Tschritter, O., Preissl, H., Yokoyama, Y., Machicao, F., Häring, H. U., & Fritsche, A. (2007). Variation in the *FTO* gene locus is associated with cerebrocortical insulin resistance in humans. *Diabetologia*, 50(12), 2602–3. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0839-1>
- Van der Hoeven, F., Schimmang, T., Volkmann, A., Mattei, M. G., Kyewski, B., & Rüther, U. (1994). Programmed cell death is affected in the novel mouse mutant Fused toes (Ft). *Development*, 120(9), 2601–2607.
- Vander, A., Sherman, J., Luciano, D., & Τσακόπουλος, Μ. (2011). Φυσιολογία του ανθρώπου, Μηχανισμοί της λειτουργίας του οργανισμού (Μ. Τσακόπουλος & Ν. Γελαδάς, Eds.): Π. Χ. Πασχαλίδης.

- Wang, Q. J., & Spence, C. (2017). "A sweet smile": the modulatory role of emotion in how extrinsic factors influence taste evaluation. *Cognition and Emotion*, 10, 1-10. <https://doi.org/10.1080/02699931.2017.1386623>
- Wåhlén, K., Sjölin, E., Hoffstedt, J. (2008). The common rs9939609 gene variant of the fat mass- and obesity-associated gene *FTO* is related to fat cell lipolysis. *The Journal of Lipid Research*, 49(3), 607-611.
- Wiemerslage, L. , Nilsson, E. K., Solstrand Dahlberg, L. , Ence-Eriksson, F. , Castillo, S. , Larsen, A. L., Bylund, S. B., Hogenkamp, P. S., Olivo, G. , Bandstein, M. , Titova, O. E., Larsson, E. , Benedict, C. , Brooks, S. J., Schiöth, H. B. and Foxe, J. (2016). An obesity-associated risk allele within the *FTO* gene affects human brain activity for areas important for emotion, impulse control and reward in response to food images. *European Journal of Neuroscience*, 43(9), 1173-1180. <https://doi.org/10.1111/ejn.13177>
- Wojciechowski, P., Lipowska, A., Rys, P., Ewens, K. G., Franks, S., Tan, S., Lerchbaum, E., Vcelak, J., Attaoua, R., Strackowski, M., Azziz, R., Barber, T. M., Hinney, A., Obermayer-Pietsch, B., Lukasova, P., Bendlova, B., Grigorescu, F., Kowalska, I., Goodarzi, M. O., GIANT Consortium, Strauss III, J. F., McCarthy, M. I., & Malecki, M. T. (2012). Impact of *FTO* genotypes on BMI and weight in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*, 55(10), 2636–2645. <http://doi.org/10.1007/s00125-012-2638-6>
- Yoshida, R., Noguchi, K., Shigemura, N., Jyotaki, M., Takahashi, I., Margolskee, R. F., & Ninomiya, Y. (2015). Leptin Suppresses Mouse Taste Cell Responses to Sweet Compounds. *Diabetes*, 64(11), 3751–3762. <http://doi.org/10.2337/db14-1462>
- Μανιός, Γ. (2006). Διατροφική Αξιολόγηση: Διαιτολογικό & Ιατρικό Ιστορικό, Σωματομετρικοί, Κλινικοί & Βιοχημικοί Δείκτες: Π. Χ. Πασχαλίδης.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**

ΕΛΕΥΘ. ΒΕΝΙΖΕΛΟΥ 70, ΑΘΗΝΑ 17671
ΤΗΛ. 210-9549100 FAX. 210-9577050

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΕΝΤΑΞΗΣ ΚΑΙ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ

	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΠΛΗΡΩΣΗ ΚΡΙΤΗΡΙΟΥ
ΕΓΓΡΑΦΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗ			
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΑΤΑΓΩΓΗ			
ΗΛΙΚΙΑ (18-35)			
ΔΜΣ <30 Kgr/m ²			
ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ			
ΓΑΛΟΥΧΙΑ			
ΚΑΠΝΙΣΜΑ			
ΛΗΨΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ			
ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ			
ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΑΛΚΟΟΛ			

Πληρούνται τα κριτήρια ένταξης;

___ΝΑΙ ___ΟΧΙ

Όνομα ερευνητή_____

Υπογραφή_____

«Μελέτη γενετικών παραγόντων που σχετίζονται με την αντίληψη του γλυκού»

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ _____ ΚΩΔΙΚΟΣ ΕΘΕΛΟΝΤΗ _____

ΦΥΛΛΟ ΑΠΑΝΤΗΣΕΩΝ ΓΕΥΣΤΙΚΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

1. Δοκιμάστε τα δείγματα με την σειρά που βρίσκονται στον δίσκο, από αριστερά προς τα δεξιά και από κάτω προς τα επάνω

2. Σε κάθε δοκιμή ελέγχετε αν οι αριθμοί των δειγμάτων ταιριάζουν με τους αναγραφόμενους στο φύλλο απαντήσεων που έχετε μπροστά σας

3. Ξεπλύνετε το στόμα σας με νερό πριν συνεχίσετε στο επόμενο ποτηράκι

4. Πριν συνεχίσετε την δοκιμή της επόμενης σειράς, μαυρίστε τον αριθμό του δείγματος που είναι διαφορετικό από τα άλλα δύο. Αν δεν είστε σίγουροι θα πρέπει να μαντέψετε

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ						239	979	197	
Η	Η	Μ	Μ	Ε	Ε				
						ΣΕΙΡΑ 7	☐	☐	☐
							381	233	149
0	☐	☐	☐	☐	☐	ΣΕΙΡΑ 6	☐	☐	☐
1	☐	☐	☐	☐	☐		590	302	962
2	☐	☐	☐	☐	☐	ΣΕΙΡΑ 5	☐	☐	☐
3	☐	☐	☐	☐	☐		420	564	234
4	☐	☐	☐	☐	☐	ΣΕΙΡΑ 4	☐	☐	☐
5	☐	☐	☐	☐	☐		604	629	657
6	☐	☐	☐	☐	☐	ΣΕΙΡΑ 3	☐	☐	☐
7	☐	☐	☐	☐	☐		660	826	685
8	☐	☐	☐	☐	☐	ΣΕΙΡΑ 2	☐	☐	☐
9	☐	☐	☐	☐	☐		555	770	829
						ΣΕΙΡΑ 1	☐	☐	☐

Κατά τη δοκιμή αναληφθήκατε κάποια άλλη γεύση διαφορετική απ' αυτή του γλυκού;

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

KA 1 2 3 4 ID 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9

A ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

B ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
Μελέτη γενετικών παραγόντων που
σχετίζονται με την αντίληψη του γλυκού

ΚΛΙΜΑΚΕΣ ΓΛΥΚΙΑΣ ΓΕΥΣΗΣ

Το παρόν ερωτηματολόγιο θα χρησιμοποιηθεί για να αξιολογήσει το πόσο σας αρέσουν διάφορα γλυκά τρόφιμα. Παρακαλείστε να σημειώσετε με μια κάθετη γραμμή, το πόσο πολύ σας αρέσει το κάθε ένα από τα ακόλουθα στις αντίστοιχες κλίμακες. Εάν δεν είστε σίγουροι για κάποιο τρόφιμο, παρακαλείστε να σημειώσετε αυτό που πιστεύετε.

Παράδειγμα: Πόσο σας αρέσει να πηγαίνετε στον κινηματογράφο;



Αυτό σημαίνει πως σας αρέσει να πηγαίνετε στον κινηματογράφο.

Μπανάνα



-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Πεπόνι



-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Κέικ



-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Τσουρέκι

☐ Δεν μου αρέσει καθόλου ☐ Μου αρέσει πάρα πολύ

-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Μπουγάτσα με κρέμα

☐ Δεν μου αρέσει καθόλου ☐ Μου αρέσει πάρα πολύ

-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Παγωτό

☐ Δεν μου αρέσει καθόλου ☐ Μου αρέσει πάρα πολύ

-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Τούρτα

☐ Δεν μου αρέσει καθόλου ☐ Μου αρέσει πάρα πολύ

-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Σιροπιαστά (π.χ. Μπακλαβάς, Γαλακτομπούρεκο, Κανταΐφι)

☐ Δεν μου αρέσει καθόλου ☐ Μου αρέσει πάρα πολύ

-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Μελομακάρονα

Δεν μου αρέσει καθόλου	Μου αρέσει πάρα πολύ
------------------------	----------------------

-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Μαρμελάδα

Δεν μου αρέσει καθόλου	Μου αρέσει πάρα πολύ
------------------------	----------------------

-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Φρουτοχυμός εμπορίου

Δεν μου αρέσει καθόλου	Μου αρέσει πάρα πολύ
------------------------	----------------------

-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Αναψυκτικά κλασσικά (π.χ. Cola, Sprite, Fanta)

Δεν μου αρέσει καθόλου	Μου αρέσει πάρα πολύ
------------------------	----------------------

-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

Τωνωτικό ποτό (π.χ. RedBull, Lucozate)

Δεν μου αρέσει καθόλου	Μου αρέσει πάρα πολύ
------------------------	----------------------

-Δεν έχω δοκιμάσει ποτέ αυτό το τρόφιμο ☐

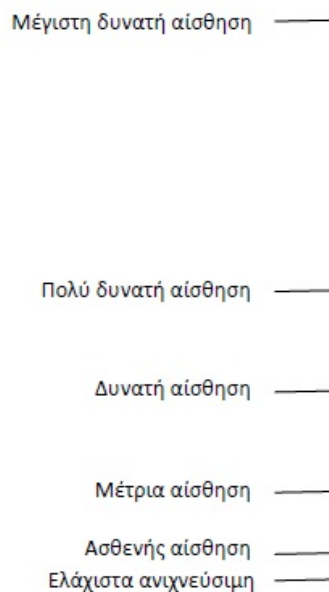
Κλίμακες Έντασης και Αρέσκειας Γλυκιάς Γεύσης

ID εθελοντή _____

Ημερομηνία _____

Θα σας δίνεται ένα γλυκό διάλυμα κάθε φορά. Παρακαλείστε να βάζετε ολόκληρο το δείγμα στο στόμα σας και να το κρατάτε ανακατεύοντάς το για περίπου 3 δευτερόλεπτα. Στη συνέχεια φτύστε το δείγμα στο πτυελοδοχείο και βαθμολογήστε την ένταση της γλυκύτητας που γευτήκατε, σημειώνοντας οπουδήποτε πάνω στη πρώτη κλίμακα. Έπειτα βαθμολογήστε το πόσο σας άρεσε αυτό που γευτήκατε οπουδήποτε πάνω στη δεύτερη κλίμακα. Μην καταπίνετε τα δείγματα. Γράψτε τον αριθμό του δείγματος δίπλα στην κάθε γραμμή που σημειώνετε. Μετά την δοκιμή κάθε δείγματος, ξεπλύνετε το στόμα σας με λίγο νερό. Θα γευτείτε συνολικά 4 δείγματα. Θα σημειώσετε τις εντάσεις των γεύσεων που γευτήκατε στην πρώτη κλίμακα, και το κατά πόσο σας άρεσε η κάθε γεύση στην δεύτερη κλίμακα.

Παρακαλούμε αξιολογήστε την ένταση της γλυκιάς γεύσης του δείγματος που γευτήκατε. Γράψτε τον αριθμό του δείγματος δίπλα στη γραμμή που σημειώσατε.



Παρακαλούμε αξιολογήστε το πόσο πολύ σας άρεσε το δείγμα που γευτήκατε. Γράψτε τον αριθμό του δείγματος δίπλα στη γραμμή που σημειώσατε.

Ισχυρότερη δυνατή αρέσκεια	_____
Μου αρέσει εξαιρετικά πολύ	_____
Μου αρέσει πάρα πολύ	_____
Μου αρέσει μέτρια	_____
Μου αρέσει ελαφρώς	_____
Ούτε μου αρέσει ούτε δεν μου αρέσει	_____
Απεχθάνομαι ελαφρώς	_____
Απεχθάνομαι μέτρια	_____
Απεχθάνομαι πάρα πολύ	_____
Απεχθάνομαι εξαιρετικά	_____
Ισχυρότερη δυνατή απέχθεια	_____