



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΑΓΩΓΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ- ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗΣ

ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Διπλωματική Εργασία:

**Μελέτη της πυκνότητας των μυκητοειδών θηλών σε νεαρές εθελόντριες
ελληνικής καταγωγής**

Παναγιωτάκης Σακελλάριος



Αθήνα, 2021

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων

**Παπανικολάου Γεώργιος, Επίκουρος Καθηγητής στην Παθοφυσιολογία –
Γενετική του Ανθρώπου, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Μέλη

**Δεδούσης Γεώργιος, Καθηγητής
Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας του Ανθρώπου, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

**Μπόσκου Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Οργάνωσης και Διαχείρισης
Μονάδων Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

Ο Παναγιωτάκης Σακελλάριος δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δεν 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.

Ευχαριστίες.

Θα ήθελα να ευχαριστώ τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Παπανικολάου Γιώργο που με εμπιστεύτηκε για δεύτερη φορά, για την καθοδήγηση του και τη βοήθειά του στη διεξαγωγή των στατιστικών αποτελεσμάτων.

Ευχαριστώ θερμά τη διδάκτορα κα. Κατσαρέλη Ευθυμία για την πολύτιμη βοήθειά της κατά τη διεξαγωγή των γενετικών αναλύσεων καθώς και για τις συστάσεις της στη συγγραφή της παρούσης εργασίας.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλες τις εθελόντριες της μελέτης για την υπομονή τους κατά τις πειραματικές διαδικασίες.

Ευχαριστώ τον κ. Τζαμπάζη Μηνά για τη συνεισφορά του ως καταμετρητής, φωτογράφος και σκιτσογράφος.

Το ταξίδι προς τον τίτλο μεταπτυχιακών σπουδών δε θα είχε ξεκινήσει χωρίς την οικογένεια μου, η οποία δεν έπαψε ποτέ να με στηρίζει και να πιστεύει στις δυνατότητές μου. Στις τρεις μητέρες μου, ένα μεγάλο και ταπεινό Ευχαριστώ.

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία αφιερώνεται στη μητέρα μου.

*Lingua sicca non gustat (a dry tongue does not taste),
Albrecht Haller 1766*

Πίνακας περιεχομένων

Πίνακας περιεχομένων	6
Περίληψη στα Ελληνικά.....	8
Abstract	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	10
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	11
Α΄ ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	12
1. Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΙΣΘΗΣΗΣ ΤΟΥ ΓΛΥΚΟΥ.....	12
1.1 Εισαγωγή	12
1.2 Ανατομία γλώσσας.....	13
1.3 Σιελογόνοι αδένες και σάλιο	14
1.3.1 Καρβονική Ανυδράση VI.....	16
1.4 ΘΗΛΕΣ –ΚΑΛΥΚΕΣ	17
1.4.1 Μυκητοειδείς θηλές.....	17
1.4.2 Φυλλοειδείς θηλές	18
1.4.3 Περιχαρακωμένες θηλές	19
1.4.4 Τριχοειδείς θηλές.....	19
1.5 Γευστικοί κάλυκες.....	20
1.5.1 Είδη κυττάρων γευστικού κάλυκα	23
1.5.1.1 Κύτταρα τύπου I	24
1.5.1.2 Κύτταρα τύπου II (υποδοχείς).....	25
1.5.1.3 Κύτταρα τύπου III (προσυναπτικά)	26
1.5.1.4 Κύτταρα τύπου IV ή Βασικά κύτταρα	27
1.5.1.5 Κύτταρα τύπου V (marginal cells)	27
1.5.2 Παράγοντες ανάπτυξης του γευστικού κάλυκα	28
1.5.3 Νεύρωση του γευστικού κάλυκα.....	28
1.5.4 Παράγοντες BDNF, NT-3, NT-4.....	30
1.5.5 Κυτταρική επικοινωνία.....	31
1.6 Γευστικοί υποδοχείς.....	31
1.7 Η αίσθηση του γλυκού	32
1.7.1 Υποδοχέας γλυκού	33
1.7.2 Μεταγωγή σήματος του γλυκού	36
1.7.3 Πολυμορφισμοί υποδοχέα του γλυκού	39
1.7.4 Τροποποίηση της γλυκιάς γεύσης.....	42
1.8 Μετάδοση γευστικής πληροφορίας μετά το γευστικό κύτταρο	43

1.8.1 Η διέγερση των γευστικών καλύκων	43
1.8.2 Νευρωνική οδός.....	45
1.8.3 Ο κώδικας της γεύσης	46
2. Ψυχομετρικές διαδικασίες στην έρευνα της γεύσης.....	48
2.1 Είδη κατωφλικών επιπέδων	48
2.2 Μέθοδος των ορίων	49
2.3 Μέθοδοι διάκρισης ή διαφοράς.....	49
2.4 Υπολογισμός κατωφλίου στην 3-AFC.....	50
3. Σχέση θηλών, σάλιου και καρβονικής ανυδράσης VI στη λειτουργία της γεύσης.....	52
3.1 Συσχέτιση θηλών με τη γεύση	52
3.2 Συσχέτιση σάλιου με τη γεύση	54
3.3 Ο ρόλος της καρβονικής ανυδράσης VI.....	54
3.4 Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης	57
Β' ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	59
2.1 Μελέτη μυκητοειδών θηλών και τεχνικές προσέγγισης.....	59
2.1.1 Brilliant Blue $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$	60
2.1.2 Θέση μελέτης της γλώσσας	60
2.1.3 Κριτήρια αποκλεισμού εθελοντών σε μελέτες καταμέτρησης των γευστικών θηλών	62
2.2 Μεθοδολογία πειραματικής μελέτης	62
2.2.1 Επιλογή δοκιμαστών	62
2.2.2 Εκπαίδευση δοκιμαστών	63
2.2.3 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά	63
2.2.4 Γευστικές δοκιμασίες σουκρόζης.....	63
2.2.5 Ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης γλυκών τροφίμων (SWEET FOOD FFQ)	64
2.2.6 Λήψη φωτογραφιών, αξιολόγηση και καταμέτρηση μυκητοειδών θηλών	64
2.2.7 Ανάλυση DNA.....	66
2.3 Στατιστική ανάλυση- Αποτελέσματα	66
2.3.1 Γονοτύπηση.....	66
2.3.2 Τιμές BET.....	66
2.3.3 Αριθμός μυκητοειδών θηλών	67
2.3.4 Έλεγχος γραμμικής συσχέτισης μεταξύ μεταβλητών κανονικής κατανομής	68
2.3.5 Έλεγχος συσχέτισης μεταξύ γονότυπου της καρβονικής ανυδράσης VI και των υπολοίπων μεταβλητών	69
2.3.6 Σχολιασμός αποτελεσμάτων- Συμπεράσματα.....	70
Βιβλιογραφία	72

Περίληψη στα Ελληνικά

Η αίσθηση της γεύσης μετέχει στην ευχάριστη αντιληπτότητα των τροφίμων υψηλού θερμιδικού περιεχομένου, την αποφυγή δυνητικά επικίνδυνων τροφίμων καθώς και συμμετέχει στην ομοιόσταση. Κατά τη μελέτη της γεύσης και του βαθμού γευστικής ευαισθησίας έχει καθιερωθεί να αξιολογείται ο αριθμός των μυκητοειδών θηλών στη γλώσσα. Τέλος, η καρβονική ανυδράση VI, η οποία παράγεται από αδένες της στοματικής κοιλότητας, θεωρείται αυξητικός και αναπτυξιακός παράγοντας των γευστικών καλύκων, οι οποίοι περιέχουν τους γευστικούς υποδοχείς.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η καταμέτρηση των μυκητοειδών θηλών σε δείγμα εθελοντριών κι η συσχέτιση των καταμετρήσεων με τη γευστική ευαισθησία στο γλυκό, καθώς και με το γονότυπο για την καρβονική ανυδράση VI.

Στο πρώτο μέρος αναλύεται η αίσθηση της γεύσης σε ανατομικό, φυσιολογικό και βιοχημικό επίπεδο, εμβαθύνοντας περισσότερο στη λειτουργία της αίσθησης του γλυκού, ενώ γίνεται αναφορά στην καρβονική ανυδράση VI, τις λειτουργίες καθώς και τους πιο συχνούς πολυμορφισμούς της. Στη συνέχεια γίνεται αναφορά στις μελέτες πάνω στην καταμέτρηση των μυκητοειδών θηλών, τις διαφορετικές πειραματικές προσεγγίσεις και τις πιθανές αιτίες αποκλίσεων στα αποτελέσματα τους.

Μεθοδολογία: Σε 40 γυναίκες Ελληνικής καταγωγής ηλικίας 18-33 ετών, με δείκτη μάζας σώματος 18,5-30 εφαρμόστηκαν τριγωνικές δοκιμές σουκρόζης καθώς και δοκιμές επίγευσης και έντονης γεύσης. Ελήφθησαν ανθρωπομετρικά και διατροφικά στοιχεία, δείγμα DNA παρειών για ανάλυση γονοτύπου καρβονικής ανυδράσης VI και φωτογραφικές απεικονίσεις της πρόσθιας γλώσσας για την καταμέτρηση των μυκητοειδών θηλών.

Αποτελέσματα: Ο μέσος όρος αριθμού μυκητοειδών θηλών στο πρόσθιο τμήμα της γλώσσας βρέθηκε $34.85/\text{cm}^2$, με εύρος τιμών 5.6 ως 52.8. Δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα μεταξύ των κατωφλικών τιμών αντίληψης του γλυκού και τον αριθμό θηλών, τη διάμετρο των θηλών ή τον γονότυπο της καρβονικής ανυδράσης.

Λέξεις κλειδιά: Γεύση, μεταγωγή, γευστικές θηλές, μυκητοειδείς θηλές, γευστικοί κάλυκες, καρβονική ανυδράση, γλυκιά γεύση, σάλιο.

Abstract

The sense of taste takes part in the pleasant perception of high-caloric foods, the avoidance of potentially dangerous foods and participates in homeostasis. In the study of gustation and the degree of taste sensitivity it has been established to evaluate the number of fungiform papillae on the tongue. Finally, carbonic anhydrase VI, which is produced by glands of the oral cavity, is considered a growth and development factor of the taste buds, which contain the taste receptors.

The purpose of this study is to count the fungiform papillae in a sample of volunteers and to correlate the results with the taste sensitivity to sweet, as well as with the genotype for carbonic anhydrase VI.

The first part analyzes the sense of gustation at an anatomical, physiological and biochemical level, delving deeper into the function of the modality of sweetness, while referring to carbonic anhydrase VI, its functions and its most common polymorphisms. Next, reference is made to studies on the counting of fungiform papillae, the different experimental approaches and the possible causes of deviations in their results.

Methodology: In 40 women of Greek origin aged 18-33 years, with a body mass index of 18.5-30, triangular sucrose tests were applied as well as aftertaste and intense taste tests. Anthropometric and nutritional data were obtained as well as a DNA sample of the cheeks for analysis of the carbonic anhydrase VI genotype and photographic images of the anterior tongue to count the number of fungiform papillae.

Results: The average number of fungiform on the anterior of the tongue was found to be 34.85 / cm², with a range of 5.6 to 52.8. No statistically significant results were found between the sweetness threshold values and the number of papillae, the diameter of the papillae or the carbonic anhydrase VI genotype.

Keywords: Taste, transduction, papillae, fungiform papillae, taste buds, carbonic anhydrase, sweet taste, saliva.

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Τοπολογία γονιδίου της καρβονικής ανυδράσης 6 επί του χρωμοσώματος 1.	17
Εικόνα 2. Τοπολογία θηλών και σχετική θέση των γευστικών καλύκων και των υποδοχέων γεύσης	20
Εικόνα 3. Μέρη του γευστικού κάλυκα.	24
Εικόνα 4. Δομή των υπομονάδων TAS1R2 και TAS1R3.	38
Εικόνα 5. Μεταγωγή σήματος του γλυκού: α. κατά την πρόσδεση σακχάρων, β. κατά την πρόσδεση γλυκαντικών.	39
Εικόνα 6. Απεικόνιση του ετεροδιμερούς TAS1R2-TAS1R3. Οι μαυρισμένες περιοχές δείχνουν τις αμινοξικές θέσεις των πιο συχνών πολυμορφισμών της υπομονάδας TAS1R2.....	40
Εικόνα 7. Η πορεία της γευστικής πληροφορίας, μέσω του στελέχους, ως τα κέντρα γεύσης στον εγκέφαλο.....	46
Εικόνα 8. Γραφικός προσδιορισμός τυχαίως σωστών ανιχνεύσεων. Μέσω της μεθόδου 3-AFC, δύναται η προβολή εντός του γραφήματος της σχέσης αναλογίας των σωστών ανιχνεύσεων με τα επίπεδα συγκέντρωσης, για να βρεθεί το επίπεδο του κατωφλίου που έχει επιλεχθεί τυχαία σωστά (66,6% για ανίχνευση 50%) (Lawless, 2013)	51
Εικόνα 9. Στήσιμο πάγκου για τις γευστικές δοκιμασίες.....	63
Εικόνα 10. Λήψη φωτογραφιών γλώσσας.....	64
Εικόνα 11. Φωτογραφική απεικόνιση γλώσσας με χρώση E133. Οι περιοχές που δε βάφτηκαν έντονα από την E133 είναι μυκητοειδείς θηλές.	65
Πίνακας 1. Μέσες τιμές και υπολογισμός κανονικότητας για τις μέσες τιμές BET και τις μέσες τιμές των γεωμετρικών μέσων BET.....	67
Πίνακας 2. Έλεγχος κανονικής κατανομής μυκητοειδών θηλών και διαμέτρων αυτών.....	68
Πίνακας 3. Έλεγχος Kruskal-Wallis (μεταβλητή ομαδοποίησης: γονότυπος, $\alpha=0,05$).....	69

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

PROP	Προπυλθειουρακίλη
ΔΜΣ	Δείκτης Μάζας Σώματος
GPCR	G-Protein Coupled Receptor
5-HT	Σεροτονίνη
NE	Νορεπινεφρίνη

Α' ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΓΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΙΣΘΗΣΗΣ ΤΟΥ ΓΛΥΚΟΥ

1.1 Εισαγωγή

Στην κοινή γλώσσα, η λέξη "γεύση" χρησιμοποιείται συχνά για να περιγράψει τις αισθήσεις που προκύπτουν από τη στοματική κοιλότητα. Ωστόσο, ο βιολογικός ορισμός της γεύσης είναι στενότερος και περιλαμβάνει μόνο τις αισθήσεις που προκαλούνται από ένα ανατομικά εξειδικευμένο και φυσιολογικά καθορισμένο χημειοαισθητικό γευστικό σύστημα. Ο ρόλος της γεύσης είναι η αντίληψη των ποιοτικών χαρακτηριστικών της τροφής, προκαλώντας συγκεκριμένες γευστικές αισθήσεις, ευχάριστες ή δυσάρεστες, οι οποίες συνδυαζόμενες έχουν ως τελικό αποτέλεσμα είτε την επιθυμία προς περαιτέρω κατανάλωση του συγκεκριμένου τροφίμου είτε την αποφυγή του. Οι βασικές της λειτουργίες είναι η ευχάριστη αντιληπτικότητα τροφίμων υψηλού θερμιδικού ύψους κι η συμμετοχή της στην ομοιόσταση. Αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού ενάντια σε τροφές που περιέχουν τοξίνες ή είναι εξαιρετικά όξινες και που θα μπορούσαν να επιφέρουν συστηματικές βλάβες ή ακόμα και το θάνατο. Αλλοιωμένα τρόφιμα, φυτικά προϊόντα που περιέχουν τοξίνες αποτελούν παραδείγματα ενεργοποίησης συγκεκριμένων γευστικών ποιοτήτων που προκαλούν αποστροφή προς τη συγκεκριμένη τροφή, ακόμα και έμμεση, ώστε να αποφευχθεί η πέψη αυτής και η πιθανή επακόλουθη βλαπτική της επίδραση στον οργανισμό. Η κυριότερη γεύση που παίρνει μέρος σε αυτή τη διαδικασία είναι η γεύση του πικρού, αλλά και του όξινου και του αλμυρού. Η αίσθηση της γεύσης δε δέχεται μόνο εξωτερικά ερεθίσματα αλλά και παίρνει μέρος σε ομοιοστατικούς μηχανισμούς, τροποποιώντας την προτίμηση σε τροφές, τα συστατικά των οποίων μπορούν να επηρεάσουν συγκεκριμένες λειτουργίες ή συγκεντρώσεις ουσιών στον οργανισμό, κάνοντας για παράδειγμα την επιθυμία για κατανάλωση γλυκού πιο έντονη όταν τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα είναι χαμηλά. Τα τρόφιμα προκαλούν τόσο αμιγώς γευστικά όσο και σωματοαισθητικά ερεθίσματα, όπως η αίσθηση του στιφού, του πικάντικου ενώ συμβάλλουν και στην οπισθορινική αντίληψη οσμηγόνων ουσιών αυτών. Αν και δεν είναι πάντοτε εύκολο να διαχωριστούν όλες αυτές οι αισθήσεις, τα μη γευστικά συστατικά γίνονται αντιληπτά από διαφορετικά συστήματα, την όσφρηση και τη σωματοαισθησία.

1.2 Ανατομία γλώσσας

Η γλώσσα αποτελείται από σκελετικούς μυς, συνδετικό ιστό, λιπώδη ιστό, αδένες. Ο βλεννογόνος της παίζει ρόλο προστατευτικό ενάντια σε μικροοργανισμούς καθώς και ρόλο εφύγρυνσης του στόματος και της τροφής. Αποτελεί ίσως το πιο πολυχρηστικό όργανο, αφού συμβάλλει στη δημιουργία του βλωμού, στην κατάποση, στην άρθρωση κατά την ομιλία, βοηθά κατά τη διάρκεια της μάσησης, του θηλασμού, αποτελεί αισθητήριο όργανο της γεύσης και αφής ενώ στα ζώα (όπως τα αιλουροειδή) αποτελεί μέσο καθαρισμού του δέρματος και του τριχώματος. Η γλώσσα μπορεί να εντοπίζει γευστικά και σωματοαισθητικά ερεθίσματα με μεγάλη ακρίβεια, με απόκλιση μικρότερη από 1 εκατοστό στο πρόσθιο τμήμα της. Επί γευστικής και σωματοαισθητικής διέγερσης οι πληροφορίες συσχετίζονται τόσο χρονικά όσο και χωρικά, με αποτέλεσμα η αφή να επιτρέπει οξύτερο εντοπισμό της γευστικής αίσθησης επί της γλώσσας. (Lim & Green, 2008).

Οι μύες που την αποτελούν, μαζί με διασπαρμένες περιοχές λίπους, νευρώνονται από το υπογλώσσιο νεύρο και διακρίνονται σε εξωτερικούς (ετερόχθονες) και εσωτερικούς (αυτόχθονες). Οι ετερόχθονες μύες της γλώσσας είναι ο γενειογλωσσικός, ο υογλωσσικός κι ο βελονογλωσσικός. Ο γενειογλωσσικός μυς είναι ο ισχυρότερος από τους μυς της γλώσσας και ενεργώντας συγκρατεί τη γλώσσα μακριά από το λάρυγγα. Οι αυτόχθονες (επιμήκης γλωσσικός, κάτω επιμήκης γλωσσικός, εγκάρσιος γλωσσικός και κάθετος γλωσσικός μυς) είναι εξαιρετικά σημαντικοί στην κατάποση και την ομιλία, μεταβάλλοντας το σχήμα της γλώσσας (Netter, 2014).

Ανατομικά η γλώσσα χωρίζεται εγκάρσια από την τελική αύλακα σε πρόσθιο και οπίσθιο μέρος. Η τελική αύλακα, σχήματος Λ, σχηματίζει στο σημείο συμβολής των δυο σκελών της το τυφλό τρήμα. Ο βλεννογόνος της γλώσσας αποτελείται από πολύστοιβο πλακώδες μη-κερατινοποιημένο επιθήλιο, τόσο στην άνω όσο και στην κάτω επιφάνειά της. Οι προσεκβολές του βλεννογόνου στη ραχιαία επιφάνεια αποτελούν τις θηλές της γλώσσας. Οι θηλές της γλώσσας διακρίνονται σε 4 κατηγορίες: τις περιχαρακωμένες, τις μυκητοειδείς, τις φυλλοειδείς και τις τριχοειδείς θηλές. Το πλούσιο αγγειακό δίκτυο της γλώσσας που ξεκινά από κλάδους της έξω καρωτίδας και καταλήγει στην έσω σφαγίτιδα εξασφαλίζει την ταχύτατη ικανότητα επούλωσης σε ελαφρούς τραυματισμούς. Οι γευστικοί κάλυκες περιβάλλονται από πλούσιο τριχοειδικό δίκτυο. Η λεμφαγγειακή αποχέτευση της γλώσσας πραγματοποιείται στην κορυφή της γλώσσας, μπροστά και πίσω από το γευστικό λάμδα από διαφορετικά, ανά περιοχή, λεμφογάγγλια (Δερματοχειρουργική, 2008).

Η επιφάνεια της γλώσσας μπορεί να χωριστεί επίσης σε δυο νοητές περιοχές: την περιοχή που καλύπτει την επιφάνεια της γλώσσας από την κορυφή αυτής ως και 2εκ. κατά τον προσθιοπίσθιο άξονα (πρόσθια επιφάνεια) και την οπίσθια, η οποία εκτείνεται πέρα από αυτό το όριο και περιέχει κυρίως τριχοειδείς κι ελάχιστες μυκητοειδείς θηλές (Temple, Hutchinson, Laing, & Jinks, 2002). Η διάκριση αυτή, αν και διαφέρει από εκείνη που ορίζεται από τα διακριτά ανατομικά όρια, είναι σημαντική όταν μελετάται η ένταση των γευστικών ποιοτήτων.

Το πρόσθιο τμήμα της γλώσσας αναπτύσσεται μέχρι την ηλικία των 8-10 ετών, ενώ το οπίσθιο συνεχίζει μέχρι τα 15-16 έτη (Temple et al., 2002). Κατά τη γέννηση έχει σχετικά μεγάλο μέγεθος. Με την αύξηση του μεγέθους των οστών του προσώπου η γλώσσα καταλαμβάνει λιγότερο χώρο στη στοματική κοιλότητα. Το μήκος του πρόσθιου τμήματος της γλώσσας (από την κορυφή αυτής ως το τέλος της περιοχής υψηλής πυκνότητας μυκητοειδών θηλών) φτάνει στο μήκος ενός ενήλικα στην ηλικία των 8-9 ετών, ενώ το μήκος της οπισθοπλευρικά καθώς και περιοχής από το τέλος της ζώνης υψηλής πυκνότητας σε μυκητοειδείς και πίσω (επί της μέσης γραμμής) αυξάνουν ως την ηλικία των 15-16 ετών (Temple et al., 2002). Το γεγονός ότι το πρόσθιο τμήμα σταματά να αυξάνει σε μήκος στην ηλικία αυτή δε σημαίνει ότι η συγκεκριμένη περιοχή έχει αποκτήσει ήδη το λειτουργικό προφίλ ενός ενήλικα. Τέλος, η αίσθηση της γεύσης μειώνεται με την ηλικία (Cheng & Robinson, 1991).

1.3 Σιελογόνοι αδένες και σάλιο

Αποτελούν εξωκρινείς αδένες που ελέγχονται από κέντρα του προμήκη μυελού. Οι μικροί σιελογόνοι αδένες βρίσκονται στο βλεννογόνο των χειλιών, των παρειών, της γλώσσας και της υπερώας. Οι μεγάλοι σιελογόνοι συγκροτούνται από τρία ζεύγη, το παρωτιδικό (που είναι κι οι μεγαλύτεροι), το υπογνάθιο και το υπογλώσσιο. Ο πόρος του παρωτιδικού αδένος διαπερνά τον βυκανητή μυ και καταλήγει στη στοματική κοιλότητα, στο ύψος του δεύτερου γομφίου. Οι εκφορητικοί πόροι του υπογνάθιου κι υπογλώσσιου αδένος συναντώνται στο υπογλώσσιο φύμα αριστερά και δεξιά του χαλινού της γλώσσας, κι εκβάλλουν στη στοματική κοιλότητα. Ο υπογλώσσιος σιαλικός αδένος τροφοδοτεί τις υπογλώσσιες περιοχές των θηλών με πλούσιο δίκτυο μικρότερων εκφορητικών πόρων. Συνολικά οι σιελογόνοι εκκρίνουν κατά μέσο όρο 1-1.5L σάλιου την ημέρα (Netter, 2014). Επιπλέον, οι αδένες Von Ebner, που βρίσκονται σε στρώματα βαθύτερα σε σχέση με τις γλωσσικές θηλές, εκκρίνουν κι αυτοί σάλιο.

Η έκκριση του σάλιου ρυθμίζεται από αυτόνομες συμπαθητικές και παρασυμπαθητικές νευρικές ίνες. Τόσο η ποσότητα όσο κι η σύσταση του υπόκεινται σε αλλαγές κατά τη διάρκεια του κερκάδιου ρυθμού καθώς κι από ποικίλα ερεθίσματα που σχετίζονται με την τροφή (ύπαρξη τροφής στο στόμα, γεύση, οσμή, αναπόληση τροφής κλπ) (Netter, 2014).

Μεταξύ των λειτουργιών που εξυπηρετεί η παρουσία σάλιου είναι ο σχηματισμός του βλωμού κι η κατάποσή του, η έναρξη της πέψης, η σωστή λειτουργία των βασικών κι ορισμένων επικουρικών γεύσεων, η κατακρήμνιση των προσλαμβανόμενων ταννινών, η προστασία των δοντιών και της στοματικής υγιεινής κι η ρύθμιση του στοματικού pH (Li & Snyder, 1995).

Μεταξύ των συστατικών του σάλιου συγκαταλέγονται βλεννίνες, πεπτικά ένζυμα όπως γλωσσική αμυλάση (από τους παρωτιδικούς και von Ebner αδένες) και λιπάση (από τους αδένες von Ebner), η καρβονική ανυδράση VI, πρωτεΐνες πλούσιες σε προλίνη, ιστατίνη, σταθερίνη, λευκοκύτταρα, πρωτεΐνες συγκόλλησης, IgA καθώς και ιόντα (Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^-). Οι γευστικοί κάλυκες ενδεχομένως να εκκρίνουν κι αυτοί αμυλάση στον γευστικό πόρο, επιδρώντας στη γευστική ανίχνευση απλών (αλλά ίσως και σύνθετων) υδατανθράκων. Η ρυθμιστική ικανότητα του σάλιου εξαρτάται τόσο από το σύστημα φωσφορικών και δικαρβονικών όσο κι από ρυθμιστικές πρωτεΐνες. Οι δυο κατηγορίες ρυθμιστικών συστημάτων λειτουργούν βέλτιστα σε διαφορετικά εύρη pH (Kivelä, Parkkila, Parkkila, Leinonen, & Rajaniemi, 1999). Κατά τη διάρκεια του γεύματος το κύριο ρυθμιστικό σύστημα είναι εκείνο των δικαρβονικών, με βάση την ισορροπία $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$. Παρουσία οξέος στη στοματική κοιλότητα η αντίδραση μετατοπίζεται σταθερά προς τα αριστερά χωρίς όμως κορεσμό, αφού το διαλυμένο CO_2 περνάει σε αέρια φάση και συνεχώς απομακρύνεται. Το σύστημα των φωσφορικών παίζει μικρότερο ρυθμιστικό ρόλο κι ακολουθεί το σχήμα $\text{H}_2\text{PO}_4^- \rightleftharpoons \text{HPO}_4^{2-} + \text{H}^+$ (Kivelä et al., 1999).

Αυξημένη αποτελεσματικότητα της ρυθμιστικής ικανότητας του σάλιου σχετίζεται με αυξημένες συγκεντρώσεις της συνολικής πρωτεΐνης καθώς και ασβεστίου, νατρίου και χλωρίου. Τα συστατικά αυτά συνήθως παρουσιάζονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις κατά τη διάρκεια αυξημένης σιαλικής ροής (Humphrey & Williamson, 2001).

1.3.1 Καρβονική Ανυδράση VI

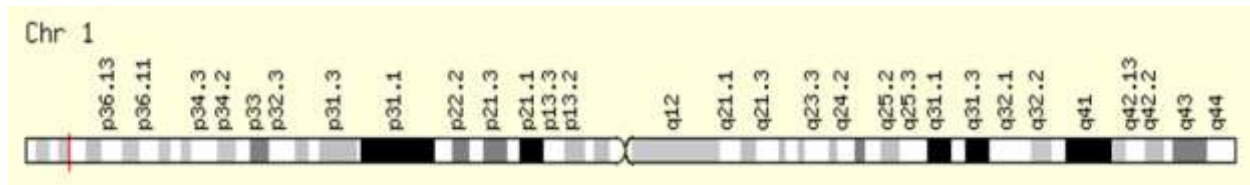
Η καρβονική ανυδράση VI (C6 ή γευστίνη) είναι μεταλλοπρωτεΐνη 42kDa 291 αμινοξέων. Εκκρίνεται από τους παρωτιδικούς κι υπογνάθιους αδένες καθώς κι από τους αδένες von Ebner. (Henkin, 1975), (Parkilla et al., 1990), (Leinonen, Parkkila, Kaunisto, Koivunen, & Rajaniemi, 2001). Καταλύει την απομάκρυνση νερού παρουσία CO₂. Πρόκειται για μια από τις πιο γρήγορες ενζυμικές αντιδράσεις. Η αντίθετη πορεία της αντίδρασης είναι σχετικά πιο αργή απουσία καταλύτη. Στην επιφάνεια της γλώσσας η καρβονική ανυδράση εξασφαλίζει την τάχιστη μετατροπή των ανθρακικών ιόντων σε CO₂, όπως π.χ. όταν η γλώσσα έρχεται σε επαφή με ανθρακούχο αναψυκτικό. Η ενεργός περιοχή του ενζύμου δημιουργεί μια κωνική κοιλότητα, χαμηλά εντός της οποίας βρίσκεται ένα ιόν ψευδαργύρου. Η σταθερότητα της θέσης του ιόντος συντονίζεται από τα άτομα αζώτου των δακτυλίων ημιδαζόλης τριών μορίων ιστιδίνης (His94, His96, His119), χωρίς να δημιουργούνται δεσμοί με το ιόν. Μια τέταρτη θέση είναι υπεύθυνη για την πόλωση ενός μορίου νερού. Η πόλωση καθιστά το άτομο οξυγόνου ηλεκτροθετικότερο κι ο δεσμός υδρογόνου του μορίου νερού εξασθενεί. Μια τέταρτη ιστιδίνη δέχεται πρωτόνιο από το μόριο νερού, ενώ το υδροξύλιο παραμένει προσκολλημένο στο ιόν Zn. Το ενεργό κέντρο του ενζύμου φέρει ειδική θέση για το CO₂ στην εγγύτητα του -OH, με αποτέλεσμα το σχηματισμού δικαρβονικού (Lindskog Sven, 1997).

Η καρβονική ανυδράση VI συμμετέχει επίσης στη στοματική υγιεινή. Δρα προστατεύοντας το οδοντικό σμάλτο από τη δημιουργία τερηδόνας εξουδετερώνοντας οξέα όπως γαλακτικό, οξικό, μυρμηκικό που δημιουργούνται από βακτήρια (Kivelä et al., 1999). Τέλος, η καρβονική ανυδράση VI εκφράζεται και στους δακρυϊκούς αδένες καθώς και στο μητρικό γάλα, και μάλιστα σε υψηλές συγκεντρώσεις. Ο πολυμορφισμός rs17032907 έχει φανεί να σχετίζεται με την εμφάνιση τερηδόνας, σε άτομα που είναι TT ομόζυγα (Li, Hu, Zhou, Xie, & Zhang, 2015).

Η συγκέντρωση της καρβονικής ανυδράσης είναι αυξημένη σε άτομα που πάσχουν από υπερπλαστική διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια (Gao et al 2007, cited in: (Abhary, Burdon, Gupta, Petrovsky, & Craig, 2009)), χωρίς όμως να συσχετίζεται με κάποιο συγκεκριμένο αλληλόμορφο (Abhary et al., 2009).

Τέλος, ο πολυμορφισμός rs2274327 σχετίζεται με την ρυθμιστική ικανότητα του σάλιου. Συγκεκριμένα, το αλληλόμορφο T εμφανίζεται σε υγιή άτομα με μειωμένη ρυθμιστική

ικανότητα σάλιου, λόγω αντικατάστασης του αμινοξέος θρεονίνη από μεθειονίνη, που προκαλεί αλλοίωση σε μια εξαιρετικά συντηρητική θέση μεταξύ των θέσεων 50 και 52 (Peres et al., 2010).



Εικόνα 1. Τοπολογία γονιδίου της καρβονικής ανυδράσης 6 επί του χρωμοσώματος 1. Πηγή: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CA6>

1.4 ΘΗΛΕΣ –ΚΑΛΥΚΕΣ

Οι γλωσσικές θηλές περιγράφηκαν για πρώτη φορά το 1664 ενώ οι γευστικοί κάλυκες ανακαλύφθηκαν το 1867. Αποτελούν προσεκβολές του γλωσσικού βλεννογόνου, καλύπτουν τη ραχιαία επιφάνεια της γλώσσας και περιορίζονται σε αυτή (με εξαίρεση τις φυλλοειδείς), σε αντίθεση με τους κάλυκες, οι οποίοι συναντώνται και στη μαλακή υπερώα, τον λάρυγγα, τον φάρυγγα και το άνω μέρος του οισοφάγου (Kubale, 2010, Chaudhari & Roper, 2010).

1.4.1 Μυκητοειδείς θηλές

Οι μυκητοειδείς θηλές καλύπτουν τα πρόσθια 2/3 της γλώσσας, έχουν σχήμα μανιταριού, κυλινδρικό ή κυβοειδές και μικρό αριθμό (1-3) γευστικών καλύκων στις κορυφαίες επιφάνειες. Αποτελούνται από μη κερατινοποιημένο επιθήλιο. Νευρώνονται από το προσωπικό νεύρο (VII) (Kubale, 2010). Στην πρόσθια περιοχή της γλώσσας, 5mm από την κορυφή της, έχουν μικρότερο ύψος και διάμετρο. Αυτό αποτελεί πρόβλημα κατά την καταμέτρησή τους διότι τότε μοιάζουν ανατομικά στις τριχοειδείς θηλές (Doty, 2015). Στο οπίσθιο τμήμα της γλώσσας μια μυκητοειδής θηλή μπορεί να είναι και κωνική, ενώ παρατηρούνται και διπλές θηλές.

Δεν υπάρχουν κάλυκες σε όλες τις μυκητοειδείς θηλές. Περίπου το 13% των θηλών αυτών στους ενήλικες και το 8% στα παιδιά στερούνται γευστικών καλύκων (Miller & Reedy, 1990) (Miller & Reedy, 1990), ενώ άλλες μελέτες αναφέρουν ότι το 99% των ανθρώπινων μυκητοειδών θηλών έχουν τουλάχιστον έναν γευστικό κάλυκα (Segovia et al., 2002).

Οι μυκητοειδείς θηλές των παιδιών είναι κατά ~33% περισσότερες από των ενηλίκων, ενώ το μέγεθος τους είναι 70-75% μικρότερο, γεγονός που συνηγορεί υπέρ της άποψης ότι το περιφερικό σύστημα γεύσης βρίσκεται ακόμα υπό ανάπτυξη σε αυτή την ηλικία. Κατά τη μέση παιδική ηλικία σταθεροποιείται ο αριθμός πόρων ανά θηλή (Segovia et al., 2002), (Arvidson, 1979). Η παραγωγή πόρων φαίνεται να ολοκληρώνεται κατά την πρώτη δεκαετία της ζωής. Άτομα με υψηλότερη πυκνότητα πόρων είχαν και την υψηλότερη πυκνότητα μυκητοειδών θηλών και τον υψηλότερο αριθμό πόρων ανά θηλή (Segovia et al., 2002). Σε σχέση με το φύλο, ο αριθμός των μυκητοειδών θηλών καθώς και των γευστικών πόρων είναι μεγαλύτερος στις γυναίκες σε σύγκριση με τους άντρες (Bartoshuk, Duffy, & Miller, 1994), (Prutkin et al., 2000). Τέλος, Οι supertasters ως προς την PROP έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση μυκητοειδών θηλών (Miller & Reedy, 1990), (Bartoshuk et al., 1994), (Essick, Chopra, Guest, & McGlone, 2003), (Shahbake, Hutchinson, Laing, & Jinks, 2005) .

Μεταξύ δυο περιοχών της γλώσσας με τον ίδιο αριθμό μυκητοειδών θηλών αλλά διαφορετικού εμβαδού, η περιοχή με τη μικρότερη διάμετρο εμφανίζει χαμηλότερα κατωφλικά όρια. Ενδεχομένως μικρότερες περιοχές αποτελούν πεδία θηλών που καταλήγουν στην ίδια νευρική ίνα της χορδής του τυμπάνου (Doty, Bagla, Morgenson, & Mirza, 2001).

1.4.2 Φυλλοειδείς θηλές

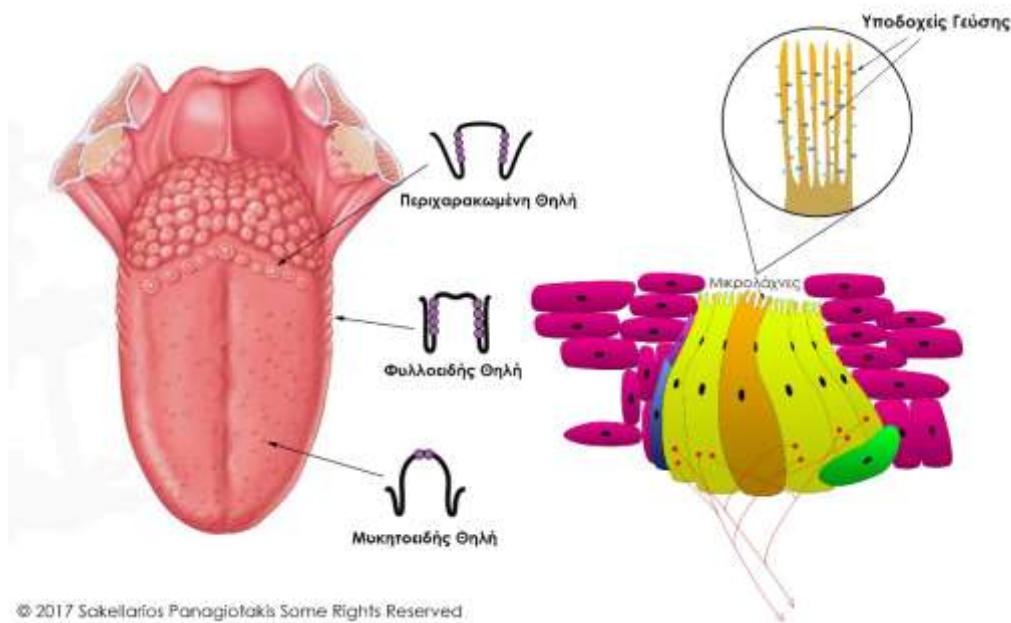
Οι φυλλοειδείς θηλές, περίπου 5 σε κάθε οπισθοπλευρική επιφάνεια της γλώσσας, βρίσκονται παραπλεύρως των κάτω γομφίων. Μεταξύ των φυλλοειδών υπάρχουν πόροι από τους οποίους εκβάλλουν ορώδεις γλωσσικοί αδένες που βρίσκονται στη ρίζα της γλώσσας. Καλύπτονται από επιθήλιο και στερούνται κερατίνης. Δέχονται νευρικές ίνες από την IX και VII εγκεφαλική συζυγία. Στο φάρυγγα νευρώνονται από το πνευμονογαστρικό νεύρο (X) (Kubale, 2010). Κάθε θηλή περιέχει περίπου 120 γευστικούς κάλυκες. Οι φυλλοειδείς θηλές διατηρούν σχετικά σταθερούς αριθμούς καλύκων (Temple et al., 2002).

1.4.3 Περιχαρακωμένες θηλές

Οι περιχαρακωμένες θηλές εντοπίζονται στις πλευρικές και κεντρικές περιοχές του οπίσθιου τρίτου της γλώσσας. Καλύπτονται από πολύστοιβο πλακώδες επιθήλιο. Ο μέσος αριθμός τους είναι 9, αν και έχουν παρατηρηθεί ως και 18. Περιβάλλονται από αύλακες στις οποίες εκκρίνουν οι αδένες von Ebner, αφαιρώντας έτσι γευστικούς προσδέτες που έχουν ήδη επιδράσει στις θηλές (και κατ' επέκταση στους γευστικούς κάλυκες), ώστε να μπορέσουν να αποκριθούν σε νέα ερεθίσματα (Kubale, 2010). Έχουν μεγάλο μέγεθος (2 ως 8mm σε διάμετρο), είναι μη προεξέχουσες από τη γλώσσα κι οι πόροι των καλύκων τους έχουν άνοιγμα πλευρικά προς την περιβάλλουσα αύλακα (Doty, 2015), ενώ έχουν παρατηρηθεί και διπλές θηλές. Οι γευστικοί κάλυκες των περιχαρακωμένων, περίπου 250 σε κάθε θηλή, νευρώνονται από το γλωσσοφαρυγγικό (IX) και το προσωπικό νεύρο (Kubale, 2010), (Chandrashekar, Hoon, Ryba, & Zuker, 2006). Επί εκτομής του γλωσσοφαρυγγικού παρατηρούνται μορφολογικές αλλαγές στις θηλές αυτές (Arvidson, 1979), (Robert M. Bradley, Stedman, & Mistretta, 1985).

1.4.4 Τριχοειδείς θηλές

Οι τριχοειδείς θηλές κατανέμονται σε ολόκληρη τη ραχιαία επιφάνεια της γλώσσας. Αποτελούνται από πυκνό συνδετικό ιστό και επιθήλιο, το οποίο δημιουργεί κερατινοποιημένες προσεκβολές (Faller, Schuenke, & Schuenke, 2004), με το ποσοστό κερατίνης να διαφέρει από οργανισμό σε οργανισμό.



Εικόνα 2. Τοπολογία θηλών και σχετική θέση των γευστικών καλύκων και των υποδοχέων γεύσης

1.5 Γευστικοί κάλυκες

Η βασικότερη δομική και λειτουργική μονάδα στις γευστικές θηλές είναι οι γευστικοί κάλυκες. Αποτελούν εξειδικευμένες επιθηλιακές δομές που περιέχουν τους γευστικούς υποδοχείς. Κάθε γευστικός κάλυκας αποτελεί άθροισμα 30-100 μικρών διπολικών νευροεπιθηλιακών κυττάρων (κύτταρα-υποδοχείς), μαζί με βασικά και υποστηρικτικά κύτταρα, με διαστάσεις 50-60x30-70μm. Πρόδρομα κύτταρα του κάλυκα είναι κοινά τόσο για τα γευστικά κύτταρα όσο και για το πολύστοιβο μη αισθητηριακό επιθήλιο που τον περιβάλλει (Chaudhari & Roper, 2010). Στην επιφάνεια της γλώσσας συναντώνται περίπου 5000 κάλυκες, περίπου 30% στις μυκητοειδείς, 30% στις φυλλοειδείς και 40% στις περιχαρακωμένες θηλές. Γευστικοί κάλυκες συναντώνται επίσης στη μαλακή υπερώα, τον λάρυγγα, τον φάρυγγα και το άνω μέρος του οισοφάγου. Ανάμεσα στα κυτταρικά σώματα των γευστικών κυττάρων βρίσκονται οι τερματικές διακλαδώσεις των γευστικών νευρικών ινών. Κάθε γευστικός κάλυκας έχει έναν κορυφαίο πόρο περίπου 20μm διαμέσου του οποίου οι μικρολάχνες των γευστικών κυττάρων προσφέρουν την επιφάνεια για την εκκίνηση της μεταγωγής σήματος από ουσίες-διεγέρτες με τις οποίες έρχεται σε επαφή, μετατρέποντας γευστικά –χημικά ερεθίσματα σε ηλεκτρικά σήματα (Segovia et al., 2002). Η παρουσία γευστικών πόρων επί των θηλών υποδεικνύει την ύπαρξη λειτουργικών

γευστικών κυττάρων κι έτσι ο συνολικός αριθμός των καλύκων μιας περιοχής σχετίζεται με την ευαισθησία αυτής σε γευστικά ερεθίσματα (Miller & Reedy, 1990a), (Miller & Reedy, 1990b), (Segovia et al., 2002). Ο πόρος είναι συνήθως γεμάτος με βλεννώδες υγρό διαφορετικής σύστασης από εκείνο του παρακείμενου επιθηλίου, η οποία σύσταση διαφέρει ακόμα και μεταξύ των πόρων των περιχαρακωμένων και των μυκητοειδών θηλών, όπως π.χ. η αμυλάση, η οποία εκκρίνεται στους γευστικούς κάλυκες των περιχαρακωμένων (Witt & Miller, 1992). Ο γευστικός κάλυκας περιβάλλεται από φράγμα το οποίο δεν είναι διαπερατό από χρωστικές διαφορετικών MB και διαφορετικής λιποδιαλυτότητας. Το φράγμα αυτό, που μάλλον αποτελείται από κύτταρα του ίδιου του κάλυκα, μεταξύ άλλων περιορίζει εντός του κάλυκα τους εκκρινόμενους νευροδιαβιβαστές καθώς και τα ένζυμα που τους αποικοδομούν (πχ τη διφωσφοϋδρολάση 2 τριφωσφορικού νουκλεοσιδίου, που καταβολίζει το παραγόμενο ATP καθώς και του μεταβολίτη του, ADP, που παράγεται μετά από γευστικό ερέθισμα). Τέλος, πρωτεΐνες που συνιστούν τους στενοσύνδεσμούς μεταξύ των κυττάρων του κάλυκα είναι οι κλαουδίνες κι οι οκκλουδίνες (Dando et al., 2015).

Οι πρώτες δομές που μοιάζουν με κάλυκες εμφανίζονται κατά την 7^η με 9^η εβδομάδα της εμβρυϊκής ηλικίας. Κατά τη 13^η-15^η εβδομάδα η δομή τους ομοιάζει της αντίστοιχης ενός ενήλικα. Σ' αυτό το αναπτυξιακό στάδιο θα μπορούσε να υποτεθεί ότι η λειτουργία της γεύσης ενεργοποιείται, αφού ο κάλυκας επικοινωνεί με τη στοματική κοιλότητα κι εμφανίζονται μικρολάχνες κορυφαία του κάλυκα. Κατά την 20^η εβδομάδα της κύησης το γλωσσικό επιθήλιο έχει ύψος 10-15 κυττάρων και μοιάζει με το πολύστοιβο πλακώδες επιθήλιο των ενηλίκων (Bradley & Stern, 1967). Οι κάλυκες στη μαλακή υπερώα φαίνεται να απουσιάζουν στην εμβρυϊκή ζωή και κατά τη γέννηση (Temple et al., 2002). Ο παράγοντας sonic hedgehog παίζει σημαντικό ρόλο κατά την εμβρυϊκή ηλικία στην ανάπτυξη της γλώσσας. Συγκεκριμένα, επηρεάζει το σχήμα της γλώσσας στα αρχικά στάδια του σχηματισμού της, καθορίζει το μοτίβο των θηλών επί της γλώσσας, ρυθμίζει τον αριθμό των θηλών και την τοπολογία τους στο στάδιο δημιουργίας των θηλών, ενώ επί προχωρημένου σταδίου ανάπτυξης των θηλών δεν επηρεάζει τον αριθμό των μυκητοειδών θηλών ή το χωρικό μοτίβο τους (Liu, MacCallum, Edwards, Gaffield, & Mistretta, 2004). Οι κάλυκες που βρίσκονται στην οπίσθια μαλακή υπερώα αναπτύσσονται πρώτοι, κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης, ενώ οι περιχαρακωμένες κι οι φυλλοειδείς αναπτύσσονται μεταγεννητικά. Οι γευστικοί κάλυκες των μυκητοειδών θηλών ωριμάζουν πιο αργά σε σχέση με εκείνους στη μαλακή υπερώα (Segovia et al., 2002). Η προτεραιότητα αυτή στη σειρά ωρίμανσης είναι εξαιρετικά σημαντική, αν σκεφτεί κανείς ότι η

πρώτη τροφή του βρέφους είναι το μητρικό γάλα κι η θέση της θηλής του μαστού κατά το θηλασμό, άρα και το σημείο εξόδου του γάλακτος, είναι τα όρια μαλακής- σκληρής υπερώας.

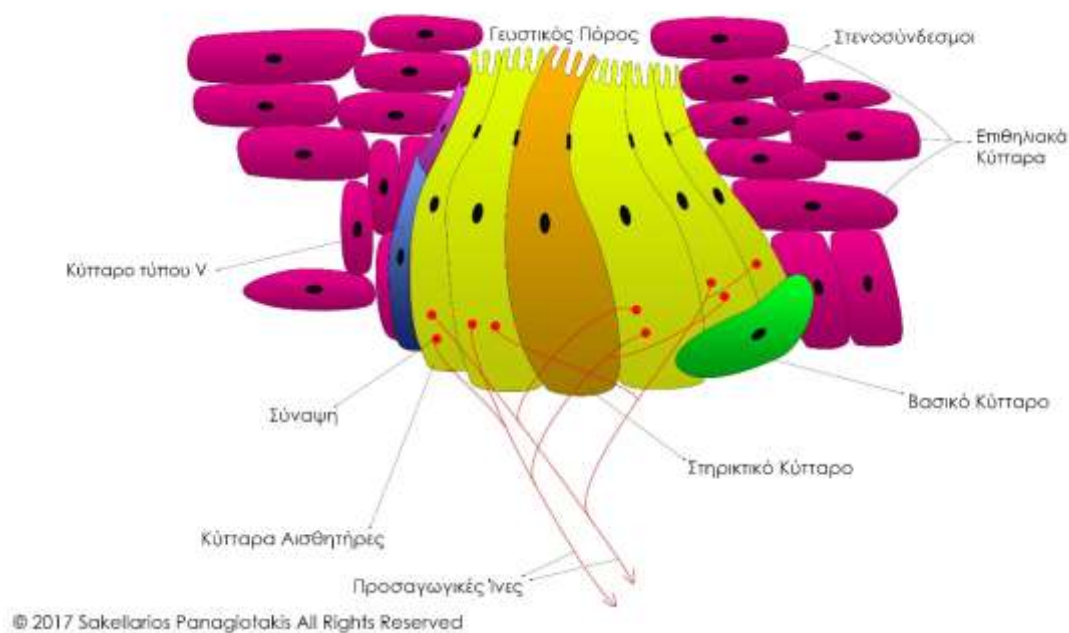
Ο άνθρωπος μπορεί να αντιληφθεί το γλυκό, το πικρό και το όξινο κατά τη γέννηση (Steiner 1973, cited in: (Segovia, Hutchinson, Laing, & Jinks, 2002). Η μείωση του αριθμού των γευστικών καλύκων μετά τη γέννηση ίσως σχετίζεται με απώλεια ή με υπαναχώρηση της νεύρωσης τους κατά τη μεταγεννητική περίοδο (Mistretta, Gurkan, & Bradley, 1988). Η αυξημένη πυκνότητα των γευστικών θηλών και καλύκων καθώς κι η αυξημένη ευαισθησία σε συγκεκριμένες περιοχές της πρόσθιας γλώσσας που παρατηρείται ως την ηλικία των 8-9 ετών ενδεχομένως σχετίζεται με αυξημένη νεύρωση από ίνες της χορδής του τυμπάνου, που προκαλεί την ανάπτυξη και/ή τη διαίρεση υπάρχοντων καλύκων και η οποία νεύρωση μειώνεται μέχρι την οριστική ανάπτυξη της περιοχής, με σύνοδη μείωση τόσο των θηλών όσο και των καλύκων (Temple et al., 2002). Ο αριθμός των θηλών μειώνεται από την ηλικία των 10 ετών ως τα 50-60 [Moses et al 1967]. Τα αγόρια 8-9 ετών έχουν υψηλότερα κατωφλικά όρια στην αντίληψη του γλυκού, του αλμυρού, του όξινου σε σχέση με ενήλικες άντρες (υψηλότερο κατωφλικό επίπεδο στο πικρό στις ενήλικες γυναίκες), καθώς και υψηλότερα κατωφλικά επίπεδα σε γευστικές δοκιμασίες αλμυρού και γλυκού από κορίτσια 8-9 ετών. Τα κορίτσια αυτής της ηλικίας παρουσιάζουν ίδια κατωφλικά όρια με τους ενήλικες (James, Laing, & Oram, 1997). Σε αντίστοιχα συμπεράσματα κατέληξαν και προγενέστερες έρευνες. Το συμπέρασμα που απορρέει είναι ότι σε αυτό το αναπτυξιακό στάδιο του ανθρώπου ο αριθμός θηλών/καλύκων, αν και μεγαλύτερος, από μόνος του δεν αρκεί προκειμένου η γευστική ευαισθησία να είναι εφάμιλλη ενός ενήλικα. Το γεγονός δε ότι τα κατωφλικά επίπεδα κοριτσιών 8-9 ετών και των ενηλίκων είναι ίδια ενδεχομένως σημαίνει ότι η συγκεκριμένη ηλικία αποτελεί το μεταβατικό στάδιο προς την πλήρη λειτουργικότητα της γεύσης.

Ο χρόνος ζωής των γευστικών κυττάρων κυμαίνεται στις 10 μέρες και ανανεώνονται συνεχώς από τα βασικά κύτταρα, τα οποία διαφοροποιούνται σε γευστικά. Ο αριθμός των γευστικών κυττάρων μειώνεται με την ηλικία, λόγω αδυναμίας της κάθε νευρικής απόληξης να βρει νέο κατάλληλο αναπτυσσόμενο γευστικό κύτταρο για την ίδια γευστική εξειδίκευση για να δημιουργηθεί νέα σύναψη (η θεωρία των σημασμένων γραμμών θα αναπτυχθεί παρακάτω) (Kubale, 2010). Μετά το πέρας των 45 ετών πολλοί γευστικοί κάλυκες εκφυλίζονται, με αποτέλεσμα να μειώνεται σταδιακά η αίσθηση της γεύσης (Hall & Guyton, 2011).

Μελέτες σε ζώα έδειξαν μορφολογικές αλλαγές στις μυκητοειδείς θηλές μετά από εκτομή της χορδής του τυμπάνου. Εκφυλισμός ή απώλεια γεύσης μετά από χορήγηση συγκεκριμένων φαρμάκων ή νευρωνική ζημιά έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της πυκνότητας των μυκητοειδών θηλών (Zuniga, Chen, & Phillips, 1997), (Sollars & Bernstein, 2000).

1.5.1 Είδη κυττάρων γευστικού κάλυκα

Υπάρχουν 5 είδη κυττάρων σε κάθε κάλυκα: τύπου I, τύπου II, τύπου III, τύπου IV ή βασικά κύτταρα (εντοπίζονται σε απόσταση από το γευστικό πόρο), τύπου V, καθώς επίσης και στηρικτικά κύτταρα που κυρίως περιβάλλουν τους γευστικούς κάλυκες. Τα κύτταρα τύπου II ανιχνεύουν γευστικά ερεθίσματα ενώ τα τύπου III μεταδίδουν γευστικά σήματα σε προσαγωγές νευρικές ίνες. Τα κύτταρα II είναι μεγαλύτερα από τα κύτταρα τύπου I, επί εγκάρσιας διατομής είναι οβάλ ή σφαιρικά με κορυφαίες προσεκβολές που εκτείνονται προς τον γευστικό πόρο. Τα κύτταρα τύπου I έχουν ακανόνιστο περίγραμμα. Στα γευστικά κύτταρα συναντάμε τόσο χημικές όσο και ηλεκτρικές συναπτικές αλληλεπιδράσεις, με τα τύπου II να αποτελούν τα κυρίως αισθητήρια κύτταρα. Τα τύπου II δε σχηματίζουν τυπικές συνάψεις με τις απαγωγές νευρικές ίνες παρόλο που βρίσκονται πολύ κοντά μεταξύ τους. Μόνο τα τύπου III σχηματίζουν συνάψεις μ' αυτές (Murray, 1986). Η πολωμένη δομή των γευστικών κυττάρων επιτρέπει μόνο σε λίγες, σχετικά, πρωτεΐνες να κατανέμονται στην κορυφαία μεμβράνη, όπως υδατοπορίνες και διαύλους καλίου ROMK. Ορισμένες από τις πρωτεΐνες που έχουν εντοπιστεί είναι η καρβονική ανυδράση VI στα τύπου II κύτταρα και η SNAP25 στα κύτταρα τύπου III. Τα κύτταρα τύπου III είναι τα μόνα που διαθέτουν σαφώς διαφοροποιημένες συνάψεις και διαύλους Ca^{2+} . Τα κύτταρα τύπου II αποκρίνονται στα γλυκά, πικρά και umami ερεθίσματα ενώ στερούνται διαύλων Ca^{2+} (Chaudhari & Roper, 2010).



Εικόνα 3. Μέρη του γευστικού κάλυκα.

1.5.1.1 Κύτταρα τύπου I

Είναι τα πιο άφθονα στους γευστικούς κάλυκες, με εκτενείς κυτταροπλασματικές προεκτάσεις που εγκολπώνουν γειτονικά κύτταρα. Τα κύτταρα τύπου I ελέγχουν εξωκυτταρικές συγκεντρώσεις ιόντων, μοιάζουν με νευρογλοιακά και πιστεύεται ότι έχουν υποστηρικτικό ρόλο. Η κορυφαία τους άκρη παρουσιάζει πυκνές περιοχές με κοκκία και προβάλλει εντός του γευστικού πόρου μέσω μικρολανχών (Suzuki, 2007). Η βασική τους άκρη εγκολπώνει τις τελικές νευρικές απολήξεις. Έχει προταθεί ότι, μεταξύ άλλων, ίσως έχουν φαγοκυτταρικό ρόλο (Murray, 1986), ενώ είναι υπεύθυνα για την παραγωγή του άμορφου υλικού εντός του γευστικού πόρου. Στα τύπου I κύτταρα εκφράζεται η NTPDάση 2, μια νουκλεοτιδάση προσδεμένη στην κυτταρική μεμβράνη που υδrolύει το εξωκυτταρικό ATP (Bartel, Sullivan, Lavoie, Sévigny, & Finger, 2006), το οποίο δρα ως νευροδιαβιβαστής στα γευστικά κύτταρα. Με τον τρόπο αυτό τα κύτταρα αυτά εμπλέκονται στη συναπτική εκκαθάριση από νευροδιαβιβαστές και στη ρύθμιση ιοντικών επιπέδων στο εξωκυτταρικό χώρο (Chaudhari & Roper, 2010).

Περιέχουν επίσης τον μεταφορέα γλουταμινικού GLAST (Maxwell Lawton, Furness, Lindemann, & Hackney, 2000), (Bartel et al., 2006), αποδίδοντας στο γλουταμινικό τον πιθανό ρόλο νευροδιαβιβαστή. Γι' αυτό και ο ρόλος των κυττάρων τύπου I φαίνεται να είναι η τερματική συναπτική μετάδοση και ο περιορισμός της εξάπλωσης των νευροδιαβιβαστών. Τέλος, φαίνεται να παρουσιάζουν ιοντική αγωγιμότητα που εμπλέκεται στη δημιουργία της αίσθησης του αλμυρού (Chaudhari & Roper, 2010), αν και ορισμένοι ερευνητές δεν πιστεύουν να σχετίζονται με τη μεταγωγή σήματος γεύσης (Suzuki, 2007).

Ορισμένα κύτταρα τύπου I διαθέτουν ATP-εξαρτώμενους διαύλους καλίου (ROMK) στην κορυφαία τους επιφάνεια, λειτουργώντας ως εκκαθαριστές περίσσειας εξωκυτταρικών ιόντων καλίου (Dvoryanchilov, Sinclair, Perea-Martinez, Wang, & Chaudhari, 2009). Κατά τη διάρκεια διαδοχικών δυναμικών ενεργείας που προκαλούνται από έντονη γευστική διέγερση, τα τύπου I κύτταρα απομακρύνουν ιόντα K^+ που θα μπορούσαν να συγκεντρωθούν στον περιορισμένο διάμεσο κυτταρικό χώρο και να μειώσουν τη διέγερση των κυττάρων τύπου II και III. Στα κύτταρα τύπου I το δυναμικό ηρεμίας φαίνεται να είναι πλησίον του δυναμικού μεμβρανικής ισορροπίας για τα ιόντα καλίου. Σε συνθήκες ηρεμίας η ηλεκτρική αγωγιμότητα σε κάλιο ίσως εξυπηρετεί στη γρήγορη εκκαθάριση του εξωκυτταρικού περιβάλλοντος από τα ιόντα καλίου που παράγονται κατά την επίδραση δυναμικών ενεργείας στα υπό διέγερση χημειοευαίσθητα κύτταρα.

Τα κύτταρα τύπου I παρουσιάζουν αγωγιμότητα και για ιόντα χλωρίου. Σε συνθήκες ηρεμίας, η μεμβράνη τους είναι 60 φορές πιο διαπερατή σε κάλιο σε σχέση με χλώριο. Τέλος, η δραστηριότητα της γουανυλικής κυκλάσης έχει σχετιστεί με τα κύτταρα I [Asanuma, Nomura 1995 Abstract].

1.5.1.2 Κύτταρα τύπου II (υποδοχείς)

Περιέχουν τους υποδοχείς αντίληψης του πικρού, του γλυκού και του umami. Οι γευστικοί αυτοί υποδοχείς είναι συζευγμένοι με πρωτεΐνες G (G protein-coupled receptors, GPCR). Τα κύτταρα τύπου II (γευστικά κύτταρα) εμφανίζουν τασεοευαίσθητους διαύλους Na^+ και K^+ για την παραγωγή δυναμικών ενεργείας καθώς και υπομονάδες ημιδιαύλων που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην έκκριση ATP που προκαλείται από γευστικό ερέθισμα. Κάθε κύτταρο τύπου II φέρει GPCR εξειδικευμένο κυρίως για μια μόνο γευστική αίσθηση. Τα κύτταρα τύπου II δε φαίνεται να διεγείρονται άμεσα από όξινες ή αλμυρές ουσίες. Αν και δε σχηματίζουν συνάψεις,

προσαγωγές νευρικές ίνες παρατίθενται πολύ κοντά σε αυτά τα κύτταρα. Τα γευστικά σήματα μεταδίδονται με μη συμβατικό μηχανισμό από τα κύτταρα-υποδοχείς στις προσαγωγές νευρικές ίνες ή σε άλλα κύτταρα εντός του γευστικού κάλυκα, π.χ. χωρίς τη μεσολάβηση συναπτικών κυστιδίων (Chaudhari & Roper, 2010). Τα κύτταρα II μετά από διέγερση από γευστικό ερέθισμα μπορούν με τη σειρά τους διεγείρουν τα προσυναπτικά, δίνοντας σε αυτά την ευκαιρία να αντιδρούν έμμεσα σε αυτές τις τρεις γευστικές ποιότητες. Η επικοινωνία μεταξύ των δυο τύπων κυττάρου πραγματοποιείται με την έκκριση ATP μέσω Ca-εξαρτώμενων ημιδιαύλων παννεξίνης των κυττάρων τύπου II (Huang et al., 2007).

Το 82% των κυττάρων II αποκρίνονται μόνο σε 1 γευστικό ερέθισμα. Πιθανοί λόγοι που ένα κύτταρο II εκφράζει περισσότερες γευστικές ποιότητες: α. επικοινωνία μεταξύ κυττάρων τύπου II, β. ενίοτε τα κύτταρα II φέρουν περισσότερους του ενός υποδοχείς, γ. ενδεχόμενο πειραματικό σφάλμα κατά τις παρατηρήσεις (Tomchik, Berg, Kim, Chaudhari, & Roper, 2007).

1.5.1.3 Κύτταρα τύπου III (προσυναπτικά)

Η περιεκτικότητα των γευστικών καλύκων σε κύτταρα τύπου III φτάνει μόλις ~6% (Y. A. Huang, Maruyama, Stimac, & Roper, 2008). Τα κύτταρα αυτά, αν και δε διαθέτουν υποδοχείς που προσδέονται σε πρωτεΐνες G, εκφράζουν πρωτεΐνες που σχετίζονται με συνάψεις, όπως η SNAP25 (synaptosome-associated protein of 25kDa) (Tomchik et al., 2007). Είναι ο μόνος τύπος κυττάρων που σχηματίζει συνάψεις με τις νευρικές απολήξεις του κάλυκα. Κοντά στον πυρήνα τους βρίσκονται πολυάριθμα κυστιδία που εμπλέκονται στη σύνθεση νευροδιαβιβαστών, όπως σεροτονίνης, νορεπινεφρίνης, GABA (Huang et al., 2005). Εκφράζουν ποικιλία γονιδίων, όπως για ένζυμα για τη σύνθεση τασεο-ελεγχόμενων διαύλων Ca^{2+} που σχετίζονται με την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών. Τα κύτταρα τύπου III έχουν επισημανθεί ως προσυναπτικά, αφού παρουσιάζουν παροδικές αλλαγές Ca^{2+} που εξαρτώνται από αποπολώσεις. Είναι διεγέρσιμα κι εκφράζουν τασεο-ελεγχόμενους διαύλους Na^+ και K^+ για να πραγματοποιούν δυναμικά ενεργείας. Δεν είναι γνωστή η προέλευση των νευρικών ινών που συνάπτονται με τα κύτταρα τύπου III. Τα κύτταρα αυτά αποκρίνονται άμεσα σε όξινα γευστικά ερεθίσματα καθώς και σε ανθρακούχα διαλύματα και είναι υπεύθυνα για τη σηματοδότηση αυτών των αισθήσεων (στην κορυφαία άκρη τους διαθέτουν μόνο μια μικρολάχνη μεγάλου μήκους, η οποία περιέχει διαύλους για την αντίληψη του όξινου (Huang et al., 2008)). Δέχονται και ενσωματώνουν εισερχόμενα σήματα από

τα κύτταρα τύπου II, γι' αυτό και στον ακέραιο γευστικό κάλυκα δε ρυθμίζουν συγκεκριμένες γεύσεις αλλά αποκρίνονται γενικά σε γλυκές, αλμυρές, πικρές και umami ουσίες. Αν και διαθέτουν αρκετές ιδιότητες νευρώνων, δεν ανήκουν σε αυτή την ομάδα (Chaudhari & Roper, 2010).

Το 86% των προσυναπτικών κυττάρων αποκρίνονται σε 2 ή περισσότερες γευστικές αισθήσεις, και κάποια προσυναπτικά αποκρίνονται και στις 5 γεύσεις. 11 στα 13 κύτταρα που αποκρίνονται σε αντίθετες γευστικές ποιότητες, (πχ γλυκό και πικρό) είναι προσυναπτικά. Τα προσυναπτικά κύτταρα αποκρίνονται στο κιτρικό σε ποσοστό 81% και στο χλωριούχο νάτριο κατά 26% (δηλαδή κάποια κύτταρα αποκρίνονται και στις 2 ουσίες), ενώ μόνο το 2% κυττάρων II αποκρίνονται στο αλμυρό. Τα προσυναπτικά που αποκρίνονται στο αλμυρό αποτελούν υπότυπο των οξεο-ευαίσθητων κυττάρων (acid-sensitive cells) (Tomchik et al., 2007).

1.5.1.4 Κύτταρα τύπου IV ή Βασικά κύτταρα

Τα τύπου IV δε φαίνεται να έχουν γευστικές ιδιότητες. Έχουν μικρό μέγεθος, σφαιρικό, ωοειδές ή αδιαφοροποίητο σχήμα και κείνται στη βάση του κάλυκα. Δε διαθέτουν κυτταροπλασματικές προσεκβολές που θα τους επέτρεπε πρόσβαση στον γευστικό πόρο. Θεωρούνται μη διαφοροποιημένα βλαστοκύτταρα των προγονικών κυττάρων του κάλυκα (Chaudhari & Roper, 2010). Στις περιχαρακωμένες θηλές του ενήλικα εκφράζουν τους μεταγραφικούς παράγοντες Hes-6 και Mash-1. Ο Mash-1 πιθανώς εμπλέκεται στη διαφοροποίηση των πρόδρομων κυττάρων προς κύτταρα τύπου III (Seta, Oda, Kataoka, Toyono, & Toyoshima, 2011) (Seta, Seta, & Barlow, 2003). Στα κύτταρα αυτά έχει βρεθεί ο παράγοντας sonic hedgehog (Miura, Scott, Harada, & Barlow, 2014), γεγονός που ενισχύει την πεποίθηση ότι αποτελούν πρόδρομα κύτταρα και για τους τρεις προαναφερθέντες τύπους.

1.5.1.5 Κύτταρα τύπου V (marginal cells)

Πιθανώς βλαστοκύτταρα του γευστικού κάλυκα (R. Doty, 2015). Εκφράζουν πρωτεΐνες (π.χ. ισομορφές CD44) κατά την οντογένεση του γευστικού κάλυκα (Martin Witt & Kasper, 1998).

1.5.2 Παράγοντες ανάπτυξης του γευστικού κάλυκα

Για τη διατήρηση της δομής του γευστικού κάλυκα είναι απαραίτητο να μπορούν τα πρόδρομα κύτταρα να διαφοροποιηθούν και να συνδεθούν με νευρικές απολήξεις. Ο παράγοντας BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor), που παράγεται από τους κάλυκες, ως τώρα είναι ο μόνος γνωστός παράγοντας που ρυθμίζει την αρχική νευρική σύνδεση και τη διατήρηση αυτής. Επίσης, στους κάλυκες εκφράζονται υποδοχείς αυξητικών παραγόντων που παράγονται από το γονάτιο γάγγλιο. Ο υποδοχέας με την υψηλότερη συγκέντρωση είναι ο υποδοχέας IGF1R. Οι προσδέτες του, IGF1 και IGF2, εκφράζονται και οι δυο στο γονάτιο γάγγλιο και εμφανίζονται στις νευρικές ίνες. Ωστόσο, ο IGF1R δε φαίνεται να είναι απαραίτητος για τη συντήρηση του γευστικού κάλυκα στην ενήλικη ζωή, σύμφωνα με παρατηρήσεις σε ποντίκια. Ο παράγοντας FGF (fibroblast growth factor) επηρεάζει την ανάπτυξη των περιχαρακωμένων θηλών. Ο EGF (epidermal growth factor) φαίνεται να παίζει ρόλο στην αύξηση κυττάρων της μη γευστικής περιοχής μειώνοντας τον αριθμό μυκητοειδών που περιέχουν κάλυκες (Petersen et al., 2011), (Biggs, Tang, & Krimm, 2016). Ο IGF1R ρυθμίζει την αύξηση των κυττάρων από τα οποία προκύπτουν τα γευστικά κύτταρα.

1.5.3 Νεύρωση του γευστικού κάλυκα

Τα κυτταρικά σώματα των αισθητικών νευρώνων των γευστικών καλύκων βρίσκονται στο λιθοειδές, το γονάτιο και το οζώδες γάγγλιο. Άξονες από το γονάτιο γάγγλιο συνιστούν τη χορδή του τυμπάνου, η οποία μαζί με τον γλωσσικό κλάδο του τριδύμου (CN III) καταλήγουν στο γλωσσικό νεύρο. Το γλωσσικό νεύρο, που διατρέχει τα πρόσθια 2/3 της γλώσσας, νευρώνει τις μυκητοειδείς θηλές και το πρόσθιο τμήμα της περιοχής των φυλλοειδών, μεταφέροντας τόσο γευστικές όσο και σωματοαισθητικές ίνες. Το μείζον επιπολής λιθοειδές νεύρο είναι υπεύθυνο κυρίως για ερεθίσματα του γλυκού [Nejad MS, 1986, Abstract]. Μονές νευρικές ίνες στον πυρήνα της μονήρους δεσμίδας προοδευτικά αποκρίνονται όλο και περισσότερο σε όξινα και αλμυρά ερεθίσματα από τη μεταγεννητική περίοδο ως την ενηλικίωση [Mistretta 1991 cited in (Segovia et al., 2002)].

Ίνες του τριδύμου είναι υπεύθυνες για τη γενική ευαισθησία της γλώσσας ενώ οι ίνες της χορδής του τυμπάνου είναι υπεύθυνες για τη συλλογή πληροφοριών της γεύσης. Στη βασική πλευρά των μυκητοειδών θηλών υπάρχουν μεγάλα αιμοφόρα αγγεία καθώς κι εμμύελες και μη νευρικές ίνες. Οι εμμύελες ίνες που φτάνουν στο γλωσσικό βλεννογόνο είναι μηχανοϋποδοχείς που διαμεσολαβούν στην απτική αισθητηριακή λειτουργία (Trulsson et al., 1997). Μερικές εμμύελες κατευθύνονται ανοδικά προς το επιθήλιο. Στην κορυφή των μυκητοειδών θηλών κι εξωτερικά του κάλυκα νευρικές απολήξεις καταλήγουν πλευρικά στον γευστικό πόρο, καθώς εισέρχονται στο μη γευστικό επιθήλιο, σχηματίζοντας συστάδες απολήξεων ανάμεσα στα κύτταρα του πλακώδους επιθηλίου σε όλο το πλάτος του. Οι ίνες που κυρίως καταλήγουν στην κορυφή των μυκητοειδών θηλών ανήκουν στο γλωσσικό νεύρο. Στις τριχοειδείς θηλές δεν παρουσιάζονται νευρικές απολήξεις στο επιθήλιο τους, τουλάχιστον σύμφωνα με ιστολογικές παρατηρήσεις σε χάμστερ. Η πλειοψηφία των ινών, εμμύελων και μη, στη βάση του κάλυκα φαίνεται να ανήκει σε ίνες του γλωσσικού νεύρου (Whitehead, Beeman, & Kinsella, 1985). Περιχαρακωμένες θηλές που έχουν απονευρωθεί έχει παρατηρηθεί να εξαφανίζονται εντελώς.

Κάθε γευστικός κάλυκας νευρώνεται από 3-14 αισθητικούς γαγγλιακούς νευρώνες, οι ίνες των οποίων διαπερνούν τη βασική τους μεμβράνη. Κάποιες ίνες τερματίζουν στις συναπτικές δομές των κυττάρων τύπου III ενώ άλλες πορεύονται πολύ κοντά στα γευστικά κύτταρα χωρίς όμως να σχηματίζουν εξειδικευμένες συνάψεις. Οι γευστικές νευρικές ίνες διαπλέκονται με άλλες κάτω από το γευστικό επιθήλιο, καθιστώντας δύσκολο το διαχωρισμό των ινών που μεταφέρουν γευστικές πληροφορίες, κάτι που δε συμβαίνει με σήματα που αφορούν θερμικά, μηχανικά και ερεθίσματα πόνου (Chaudhari & Roper, 2010).

Περιφερικά ένας άξονας της χορδής του τυμπάνου νευρώνει περισσότερους από έναν κάλυκες σε κάθε θηλή, καθώς και κάλυκες διαφορετικών θηλών. Με την ηλικία η πλήρης ανάπτυξη των συνδεσμολογιών θα δώσει το τελικό προφίλ που έχουν οι ενήλικες (Segovia et al., 2002). Η γευστική νεύρωση ρυθμίζει και τη διαφοροποίηση των περιβαλλόντων επιθηλιακών κυττάρων μέσω του μονοπατιού Sox2 (Pagella, Jiménez-Rojó, & Mitsiadis, 2014). Η απώλεια έκφρασης του Sox2 δεν επιτρέπει στα επιθηλιακά κύτταρα του κάλυκα να διαφοροποιηθούν προς γευστικά κύτταρα.

Οι γευστικοί κάλυκες της μαλακής υπερώας δέχονται νεύρωση από το μείζον (επιπολής) λιθοειδές νεύρο, τα κυτταρικά σώματα του οποίου βρίσκονται στο γονάτιο γάγγλιο. Άξονες του γλωσσοφαρυγγικού νευρώνουν περιχαρακωμένες και φυλλοειδείς θηλές, καθώς και κάλυκες του

φάρυγγα. Το άνω λαρυγγικό νεύρο (κλάδος του πνευμονογαστρικού) νευρώνει κάλυκες στην επιφάνεια της επιγλωττίδας, του λάρυγγα, του άνω μέρους του οισοφάγου (Doty, 2015). Τα κυτταρικά σώματα του πνευμονογαστρικού νεύρου βρίσκονται στο οζώδες γάγγλιο (Møller, 2003).

Τραυματισμός ή εκτομή της χορδής του τυμπάνου οδηγεί σε μείωση της πυκνότητας των μυκητοειδών θηλών (Just, Pau, Witt, & Hummel, 2006), του αριθμού και του όγκου των γευστικών καλύκων στη σύστοιχη πλευρά της γλώσσας. Στην αντίθετη πλευρά της γλώσσας που δεν αντιστοιχεί στο τραυματισμένο νεύρο παρατηρείται παραδόξως μια μικρή αύξηση στον όγκο των γευστικών καλύκων. Επί αναγέννησης του τραυματισμένου τμήματος ο αριθμός καλύκων αποκαθίσταται (Li, Yang, Huang, Ren, & Chi, 2015), όχι όμως και το μέγεθός τους (Guagliardo & Hill, 2007). Κάποιοι ασθενείς με δυσγευσία επιδεικνύουν απώλεια ανασταλτικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ κεντρικών περιοχών προβολής στη χορδή του τυμπάνου ή των ινών του γλωσσοφαρυγγικού νεύρου μετά από τραυματισμό των νεύρων αυτών (Scala, Checchi, Marini, & Montevecchi, 2003), (Klasser, Fischer, & Epstein, 2008).

1.5.4 Παράγοντες BDNF, NT-3, NT-4

Η νεύρωση, εκτός από τη μετάδοση πληροφοριών, είναι σημαντική τόσο για την ομοιόσταση όσο και για την αναγέννηση των γευστικών καλύκων (Hosley & Morton, 1987). Οι ίνες που τροφοδοτούν τους γευστικούς κάλυκες απαιτούν διαφορετικούς συνδυασμούς τροφικών παραγόντων για να αναπτυχθούν και να επιβιώσουν. Οι παράγοντες BDNF, NT-3 (Neurotrophin 3) και NT-4 παράγονται από μια ποικιλία κυτταρικών υποπληθυσμών στους γευστικούς κάλυκες, αλλά και από το περιβάλλον μη γευστικό επιθήλιο (Lopez & Krimm, 2006). Το NT-4 εκφράζεται κυρίως από το μη γευστικό επιθήλιο της γλώσσας και απωθεί τις αναπτυσσόμενες ίνες του νεύρου από το επιθήλιο της γλώσσας (Lopez & Krimm, 2006). Διαγραφή του NT-3 οδηγεί σε μαζική μείωση των σωματοαισθητικών νευρώνων, χωρίς να επηρεάζεται η ανάπτυξη των γευστικών καλύκων και η αντίληψη της γεύσης (Nosrat, Agerman, Marinescu, Ernfors, & Nosrat, 2004).

Το Sox2 εκφράζεται στους κάλυκες και στα περιβάλλοντα επιθηλιακά κύτταρα. Μόρια των μονοπατιών σηματοδότησης BMP (Bone Morphogenetic Proteins) και WNT ρυθμίζουν την

έκφραση Sox2 σε αυτούς τους ιστούς. Επί διαγραφής του γονιδίου Sox2 τα επιθηλιακά κύτταρα των καλύκων διαφοροποιούνται σε κερατινοκύτταρα αντί των αισθητήριων κυττάρων. Η έκφραση Sox2 χάνεται μετά την απονεύρωση των καλύκων (Pagella et al., 2014).

1.5.5 Κυτταρική επικοινωνία

Τα γευστικά κύτταρα φαίνεται να επικοινωνούν μεταξύ τους με περισσότερους τρόπους, πέρα από την έκκριση ATP από τα κύτταρα II. Η παρουσία μορίων κυτταρικής προσκόλλησης, πρωτεϊνών που προσδένουν ηπαρίνη και μεμβρανοϋποδοχέων που επηρεάζουν τις ενδοκυτταρικές μεταγωγές σήματος (όπως ο CD44) συνηγορούν υπέρ αυτής της διαπίστωσης. Ο CD44 συγκεκριμένα σχετίζεται με μια σειρά μικροϊνιδίων που με τη σειρά τους σχετίζονται με την ακτίνη (εζρίνη και ανκυρίνη), οι οποίες εντοπίζονται στις μικρολάχνες των κυττάρων I, επηρεάζοντας ενδεχομένως τη λειτουργία μεμβρανικών πρωτεϊνών που σχετίζονται με τη μεταφορά ιόντων (Smith, Akesson, & Shipley, 1993), (Wakisaka et al., 1998), (Höfer & Drenckhahn, 1999).

1.6 Γευστικοί υποδοχείς

Για να αποδειχθεί ότι ένα μόριο λειτουργεί ως υποδοχέας γεύσης, πρέπει να πληρούνται αρκετά κριτήρια: (α) να προσδιοριστεί η μοριακή ταυτότητα του υποψήφιου υποδοχέα, (β) να επιβεβαιωθεί η έκφρασή του σε κύτταρο-υποδοχέα γεύσης, (γ) να έχουν προσδιοριστεί κατάλληλοι προσδέτες για τον συγκεκριμένο υποδοχέα, (δ) οι μεταβολές στη λειτουργία γεύσης που προκύπτουν από αλλαγές στον υποδοχέα γεύσης πρέπει να καταδειχθούν (Bachmanov AA Beauchamp GK 2007). Κάποιοι διεγέρτες γεύσης μπορούν να διεισδύσουν στις κυτταρικές μεμβράνες, όπως το νάτριο, τα πρωτόνια και κάποιες πικρές και γλυκές ενώσεις. Αυτές οι ενώσεις μπορεί να αλληλοεπιδράσουν με ενδοκυτταρικούς στόχους για να ενεργοποιήσουν το γευστικό κύτταρο (Bachmanov & Beauchamp, 2007).

1.7 Η αίσθηση του γλυκού

Η αίσθηση του γλυκού προκαλείται από πλήθος χημικά διαφορετικών μορίων όπως σάκχαρα, γλυκόλες, αλκοόλες, αμίδια, ορισμένα αμινοξέα, αλδεΐδες, κετόνες, εστέρες, ορισμένες πρωτεΐνες μικρού MB, σουλφονικά οξέα, ανόργανα άλατα μολύβδου και βιρυλλίου, συνθετικά γλυκαντικά και αλογονωμένα οξέα. Μικρές αλλαγές στη χημική δομή μπορούν να αλλάξουν την αίσθηση του γλυκού σε πικρό (Hall & Guyton, 2011). Η μεταγωγή της γλυκιάς γεύσης εξαρτάται από το ετεροδιμερές T1R2-T1R3, ενός υποδοχέα συζευγμένου με πρωτεΐνες G (Chaudhari & Roper, 2010). Η ζάχαρη είναι ένα από τα λίγα αισθητηριακά ερεθίσματα, αν όχι το μόνο, που προκαλεί ξεκάθαρα ευχάριστη αίσθηση χωρίς να απαιτείται πρότερη εμπειρία (Møller, 2003). Η γλυκιά γεύση σηματοδοτεί την παρουσία ευκόλως χρησιμοποιήσιμων τροφών.

Υπάρχουν ουσίες που προκαλούν την αίσθηση του γλυκού δεσμευόμενες στο αμινοτελικό του άκρο του T1R2 ενώ άλλες εντός της διαμεμβρανικής περιοχής του T1R3 (Kubale, 2010).

Οι τεχνητές γλυκαντικές ουσίες ενεργοποιούν διαφορετικούς συζευγμένους με πρωτεΐνες G υποδοχείς που, εν τέλει, οδηγούν στην αναστολή διαύλων K^+ . Ο υποδοχέας του γλυκού χρειάζεται πολλές πρωτεΐνες G. Ιδιαίτερης σημασίας αποτελεί η G-γευστίνη, η οποία είναι απαραίτητη και για την αντίληψη του πικρού. Η μεταγωγή σήματος της γλυκιάς γεύσης στα γευστικά κύτταρα είναι πολύπλοκη κι αμφισβητήσιμη (Kubale, 2010).

Ορισμένες τεχνητές γλυκαντικές ουσίες δρουν ως ανταγωνιστές του πικρού, αναστέλλοντας την ενεργοποίηση της γευστίνης (α - υπομονάδα της πρωτεΐνης G) από τους υποδοχείς του πικρού (Gilbertson, Damak, & Margolskee, 2000).

Η σημασία της γλυκιάς γεύσης είναι ύψιστης σημασίας για την επιβίωση πολλών οργανισμών, σηματοδοτώντας την παρουσία ενεργειακά πλούσιων τροφών. Τα νεογένητα αποκρίνονται στην αίσθηση του γλυκού, γεγονός σημαντικό από τη στιγμή που έχει μεγάλες ενεργειακές απαιτήσεις σε αυτό το στάδιο ανάπτυξης κι οποιαδήποτε γλυκιά τροφή μαρτυρά παρουσία υδατανθράκων κι η ευχάριστη γευστική αποδοχή της σημαίνει εξασφάλιση ενέργειας. Η ευαισθησία ωστόσο στο γλυκό δεν έχει την ίδια ένταση σε όλους κι εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες. Τα αγόρια 8-9 ετών δείχνουν μεγαλύτερη ευαισθησία σε δοκιμασίες σουκρόζης, σε σχέση με ενήλικες άντρες, επί διεγέρσεως μικρών, συγκεκριμένων περιοχών της

πρόσθιας γλώσσας (Stein, Laing, & Hutchinson, 1994). Ισχύει όμως το αντίθετο, σε ό,τι αφορά την ευαισθησία στο γλυκό, όταν εξετάζεται σε whole-mouth test (Segovia et al 2002). Αυτό ίσως υποδηλώνει αποτυχία του συστήματος της γεύσης να ενοποιήσει τις πληροφορίες σε επίπεδο υποδοχέα πιθανώς λόγω μη ολοκληρωμένων συνδέσεων με ή μεταξύ κεντρικών νευρώνων (Segovia et al., 2002). Η μεγάλη αρέσκεια πάντως στο γλυκό παραμένει σε υψηλά επίπεδα κατά την περίοδο ανάπτυξης και μειώνονται στα επίπεδα ενός ενήλικα στη μέση της εφηβείας (J. Mennella, Finkbeiner, & Monell, 2008).

1.7.1 Υποδοχέας γλυκού

Η οικογένεια TAS1R ανήκει στην C τάξη μεμβρανικών υποδοχέων συζευγμένων με πρωτεΐνες G. Τα τρία μέλη της: TAS1R1, TAS1R2, TAS1R3. Η υπομονάδα TAS1R1 εκφράζεται στους κάλυκες των μυκητοειδών και σπάνια στον περιχαρακωμένων θηλών. Ο TAS1R2 εκφράζεται σπάνια στους μυκητοειδείς και εκφράζεται σε όλους τους κάλυκες των περιχαρακωμένων ενώ ο TAS1R3 εκφράζεται ισχυρά και στα δυο είδη θηλών. Το ετεροδιμερές TAS1R1-TAS1R3 αποτελεί τον υποδοχέα umami (κυρίως στις μυκητοειδείς) ενώ το ετεροδιμερές TAS1R2-TAS1R3 είναι υπεύθυνο για τη μεταγωγή σήματος της αίσθησης του γλυκού (κυρίως στις περιχαρακωμένες) (Jiang, Cui, Zhao, Snyder, et al., 2005).

Οι TAS1Rs έχουν μακρινή συγγένεια με τους μεταβοτροπικούς υποδοχείς γλουταμινικού, τους υποδοχείς φερομονών και τους υποδοχείς GABA-B (Hoon et al., 1999). Οι TAS1R1 και TAS1R2 σπανίως συν-εκφράζονται στο ίδιο γευστικό κύτταρο (Hoon et al., 1999) (Nelson et al., 2001). Οι TAS1R2 και TAS1R3 μπορεί να λειτουργούν από μόνοι τους ως υποδοχείς σακχάρου χαμηλής συγγένειας, πιθανώς ως ομοδιμερή.

Οι TAS1R διαθέτουν μεγάλου μήκους εξωκυτταρικό αμινοτελικό άκρο (Venus Fly Trap domain, VFT), το οποίο αποτελείται από δυο λοβούς κι ενώνεται μέσω μιας περιοχής (πλούσιας σε κυστεΐνες) με την μεμβράνη, την οποία διαπερνάει συνολικά 7 φορές, για να καταλήξει με το καρβοξυτελικό της άκρο εντός του κυττάρου (Temussi, 2009), (Jiang et al., 2004).

Οι VFT περιοχές των TAS1R1 και T1R3 έχουν 39% ομοιότητα (Temussi, 2002). Κάποιες γλυκιές ουσίες δεσμεύονται στο αμινοτελικό του άκρο του TAS1R2 ενώ άλλες εντός της διαμεμβρανικής περιοχής του TAS1R3 (Kubale, 2010). Η περιοχή VFT του TAS1R3 είναι κυρίως

αρνητικά φορτισμένη, οι περιοχές των γλυκών πρωτεϊνών που αλληλοεπιδρούν με αυτόν είναι κυρίως θετικά φορτισμένες κι η περιοχή αυτή σχηματίζει μεγαλύτερη γωνία από την αντίστοιχη της υπομονάδας TAS1R2. Η περιοχή VFT του TAS1R3 φαίνεται, σε σχέση με τον TAS1R2, περισσότερο συντηρημένη κι οι μεταλλάξεις στην ενεργή περιοχή δεν αλλάζουν τις ιδιότητες του υποδοχέα. Σε γενικές γραμμές οι περιοχές δέσμευσης εντός των VFT των TAS1R2-TAS1R3 είναι εξαιρετικά συντηρημένες (Temussi, 2009), (Morini, Bassoli, & Temussi, 2005).

Η σύνδεση του υποδοχέα του γλυκού με τις πρωτεΐνες G πραγματοποιείται στο C-τελικό άκρο του TAS1R2. Ο TAS1R2 μόνο είναι κρίσιμος για την πρόσδεση της $G_{\alpha 15}$ κι είναι αναγκαίος τόσο για την πρόσδεση του διεγέρτη όσο και για την πρόσδεση με την πρωτεΐνη G (Xu et al., 2004).

Το ιδανικό pH του υποδοχέα του γλυκού είναι 9. Σε παρατεταμένες όξινες τιμές του pH του σάλιου τα H^+ ενδεχομένως επιδρούν στον υποδοχέα του γλυκού μειώνοντας τη απόκριση του (Matsuo, 1992). Διαλύματα γλυκόζης ή φρουκτόζης σε χαμηλές θερμοκρασίες (20°) έχουν μικρότερη ένταση από αυτή σε υψηλότερες (36°). Η χαμηλότερη θερμοκρασία της γλώσσας έχει φανεί να παίζει σημαντικότερο ρόλο στο φαινόμενο αυτό παρά η χαμηλότερη θερμοκρασία του διαλύματος (Green & Nachtigal, 2012). Η αύξηση της θερμοκρασίας ίσως μειώνει την εξοικείωση στη γλυκύτητα της σουκρόζης σε κάποιο στάδιο της μεταγωγής σήματος κι αυτό το γεγονός ενδεχομένως να ισχύει και για άλλα σάκχαρα.

Ο T1R3 λειτουργεί ως υποδοχέας της σουκρόζης κι άλλων υδατανθράκων. Ωστόσο, μόνο ως ετεροδιμερές μπορεί να λειτουργήσει ως υποδοχέας γλυκαντικών. Το ετεροδιμερές ενεργοποιείται από απλά υδρόφοβα αμινοξέα και συνθετικά διπεπτίδια όπως η ασπαρτάμη (Temussi, 2009). In vivo ο T1R3 μπορεί να αναγνωρίσει τον δισακχαρίτη τρεχαλόζη (Ariyasu et al., 2003). Τέλος, η υπομονάδα T1R3 έχει προταθεί να εμπλέκεται και στην ανίχνευση ασβεστίου και μαγνησίου. Μελέτη σε ποντίκια έδειξε ότι τα πειραματόζωα KO για την υπομονάδα T1R3 δείχνουν προτίμηση σε διαλύματα που περιέχουν άλατα μαγνησίου ή ασβεστίου. Ενδεχομένως η παρουσία της υπομονάδας αποτρέπει τη γευστική προτίμηση στα δυο αυτά δισθενή ιόντα (Tordoff et al., 2008).

Αναφέρθηκε ήδη ότι ο υποδοχέας του γλυκού αποκρίνεται, εκτός από σάκχαρα, και σε αμινοξέα καθώς και σε ορισμένες πρωτεΐνες. Σε γενικές γραμμές τα αμινοξέα D μορφής είναι γλυκά. Τα αμινοξέα που φαίνεται να προκαλούν την πιο έντονη γλυκιά γεύση είναι η D-Try και η D-His. Τα αμινοξέα D-Phe και D-Ile προκαλούν τόσο γλυκιά όσο και πικρή γεύση. Τα L μορφής

είναι σε γενικές γραμμές πικρής γεύσης, με εξαίρεση την L-Ala και την L-Thr. Η γλυκίνη δεν έχει ισομερή και προκαλεί γλυκιά γεύση (Bassoli, Borgonono, Caremoli, & Mancuso, 2014). Η εξωκυτταρική N-τερματική περιοχή του T1R2 εμπλέκεται στην αναγνώριση D-τρυπτοφάνης και σακχαρόζης (Xu et al., 2004). Η πλούσια σε κυστεΐνη περιοχή του T1R3 εμπλέκεται στην αναγνώριση της βραζεΐνης και της μονελλίνης, αν και οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες φαίνεται να αλληλοεπιδρούν και με τις δυο υπομονάδες του υποδοχέα (Jiang et al., 2004). Τέλος, ορισμένες ενώσεις γλυκιάς γεύσης μπορούν να διεισδύσουν στην μεμβράνη του γευστικού κυττάρου και να δράσουν σε ενδοκυτταρικούς στόχους (Naim, Nir, Spielman, Noble, & Peri, 2002).

Ποντίκια TAS1R2 ή TAS1R3 KO διατηρούν μικρές αλλά ανιχνεύσιμες αποκρίσεις σε υψηλές συγκεντρώσεις φυσικών σακχάρων, γεγονός που σημαίνει ότι κάθε υπομονάδα μπορεί να αποκριθεί, σε μικρότερο βαθμό, απουσία της άλλης. Το γεγονός ότι ο TAS1R3 εντοπίζεται ως μονομερές σε κύτταρα της γλώσσας και της υπερώας ενδεχομένως να σημαίνει ότι είναι υπεύθυνο για την ανίχνευση φυσικών σακχάρων σε υψηλές συγκεντρώσεις. Αυτό θα μπορούσε να σημαίνει ότι είτε υπάρχουν επιπρόσθετα μονοπάτια ανίχνευσης φυσικών σακχάρων που δεν εξαρτώνται από την ομάδα TAS1R, είτε ότι οι υπομονάδες TAS1R2 και TAS1R3 έχουν μικρού βαθμού χημική συγγένεια με τέτοιου είδους σάκχαρα σε υψηλές συγκεντρώσεις, απουσία της έτερης υπομονάδας. Απουσία όμως και των 2 υπομονάδων χάνεται κάθε αίσθηση του γλυκού, άρα μόνο αυτές οι υπομονάδες είναι υπεύθυνες γι' αυτή (Zhao et al., 2003). Σε ό,τι αφορά την πρώτη θεωρία, έχει βρεθεί ότι στα κύτταρα της γεύσης εκφράζονται και υποδοχείς GLUT, SUR1, SGLT1S, ο InsR και K_{ATP} . Περισσότερο από το 80% των κυττάρων που περιέχουν TAS1R3 εκφράζουν GLUT4, SGLT1 και SUR1, με τον πρώτο υποδοχέα να είναι απών στα κύτταρα τύπου I και III κι ο δεύτερος να εμφανίζεται κυρίως σε τύπου II αλλά και σε ορισμένα τύπου III. Τόσο οι GLUT όσο κι οι SGT, K_{ATP} παίζουν ρόλο στην ομοιοστάση της γλυκόζης σε πληθώρα οργάνων. Ο ρόλος τους στα κύτταρα της γεύσης δεν είναι πλήρως γνωστός αλλά έχει προταθεί ότι ίσως οι GLUT οδηγούν σε είσοδο της γλυκόζης στο γευστικό κύτταρο, καταβολισμό της, παραγωγή ATP το οποίο αναστέλλει τους διαύλους K_{ATP} , προκαλώντας αποπόλωση του κυττάρου. Εναλλακτικά, όπως οι διάυλοι K^+ προωθούν την απελευθέρωση ινσουλίνης επί αναστολής τους στα β-κύτταρα του παγκρέατος, ίσως στα γευστικά κύτταρα ρυθμίζουν με παρόμοιο τρόπο την απελευθέρωση ορμονών ή νευροδιαβιβαστών (Yee, Sukumaran, Kotha, Gilbertson, & Margolskee, 2011). Σε αντιγνωμία προς τα πειραματικά αποτελέσματα της ομάδας Zhao et al (2003) (η οποία κατέληξε ότι οι μόνοι υπεύθυνοι υποδοχείς για την αντίληψη του γλυκού είναι οι TAS1R2-TAS1R3) οι Yee et al (2011) ισχυρίστηκαν ότι η ομάδα του Zhao για τεχνικούς λόγους δεν κατάφερε να

παρατηρήσει χαμηλές αποκρίσεις στη γλυκόζη σε διπλά ΚΟ ποντίκια. Επίσης παρατήρησαν ότι, επειδή σε χαμηλές συγκεντρώσεις νατρίου προκαλείται γλυκιά γεύση, ίσως ο SGLT1 των TAS1R3 κυττάρων, προσλαμβάνοντας γλυκόζη εντός του γευστικού κυττάρου να προκαλεί την έναρξη για τη μεταγωγή σήματος που οδηγεί σε αναγνώριση γλυκιάς γεύσης. Επίσης υπέθεσαν ότι επειδή τα φυσικά σάκχαρα προκαλούν μεγαλύτερες αποκρίσεις γλυκύτητας ενδεχομένως να οφείλεται σε μεταφορείς που δεν γίνονται κορεσμένοι σε συνδυασμό με τον υποδοχέα TAS1R2-TAS1R3, ενώ τα τεχνητά γλυκαντικά επιδρούν μόνο στο ετεροδιμερές.

1.7.2 Μεταγωγή σήματος του γλυκού

Επί δέσμευσης σακχάρου ή γλυκαντικού μικρού μοριακού βάρους η στερεοδομή του TAS1R2 αλλάζει από Roo (resting open-open configuration) σε ενεργή Aoc (active open-closed configuration). Αν δεσμευτεί πρωτεϊνικό μακρομόριο στην περιοχή VFT του TAS1R3 (εφόσον υπάρχει συμπληρωματικότητα φορτίου κι η πρωτεΐνη διαθέτει περιοχή σφηνοειδούς σχήματος ώστε να εφαρμόζει εντός του υποδοχέα), η ισορροπία μεταξύ των 2 καταστάσεων Roo-Aoc μετατοπίζεται και σταθεροποιείται προς όφελος της ενεργούς μορφής (Morini et al., 2005), (Temussi, 2009).

Ο υποδοχέας του γλυκού χρειάζεται αρκετές πρωτεΐνες G. Έχουν προταθεί δυο μοντέλα μεταγωγής σήματος για την αίσθηση του γλυκού: η οδός GPCR-G_s-cAMP καθώς κι η οδός GPCR-Gα/Gβγ-IP₃ (Margolskee, 2002).

Κατά το πρώτο μοντέλο, σάκχαρα ενεργοποιούν τον υποδοχέα, με αποτέλεσμα την απόσπαση της υπομονάδας Gα από το τριμερές σύμπλοκο πρωτεϊνών G. Η υπομονάδα Gα (κι ενδεχομένως κι η Gβ) ενεργοποιούν την αδενυλική κυκλάση, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων cAMP. Το cAMP ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση A η οποία προκαλεί αναστολή των διαύλων K⁺ μέσω φωσφορυλίωσης αυτών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την είσοδο ιόντων ασβεστίου εντός του κυττάρου, επακόλουθη αποπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης κι απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών (Kubale, 2010), (Margolskee, 2002).

Κατά το δεύτερο μοντέλο, τεχνητά γλυκαντικά ενεργοποιούν τον υποδοχέα, με αποτέλεσμα την απόσπαση της υπομονάδας Gα από το τριμερές σύμπλοκο πρωτεϊνών G. Η υπομονάδα Gα ενεργοποιεί τη φωσφολιπάση C η οποία καταλύει τη μετατροπή της 4,5

διφωσφορικής φωσφατιδυλ-ινοσιτόλης σε διακυλογλυκερόλη και (1,4,5)τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP_3). Η IP_3 επιδρά σε υποδοχείς IP_3R των κυτταρικών αποθηκών ασβεστίου και προκαλεί απελευθέρωση Ca^{+2} , με αποτέλεσμα την αποπόλωση του κυττάρου και απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών (Margolskee, 2002), (Kubale, 2010). Και στις δυο περιπτώσεις η αύξηση ενδοκυτταρικού ασβεστίου δεν επαρκεί για να προκαλέσει αποπόλωση. Αυτή πραγματώνεται μέσω των μεμβρανικών υποδοχέων TRPM5 (Transient receptor potential cation channel subfamily M member 5), οι οποίοι ενεργοποιούνται από Ca^{+2} (Zhang et al., 2003).

Το φαινόμενο της οπτικής ισομέρειας είναι καθοριστικό στην ανάγνωση ή μη ενός προσδέτη επί συγκεκριμένης θέσης του υποδοχέα και στις 3 βασικές γεύσεις. Αυτός είναι ο λόγος π.χ. που μόνο η γλυκίνη και κι η L-Ala προσδίδουν γλυκιά γεύση, ενώ πολικά L-αμινοξέα (με την εξαίρεση του γλουταμινικού και του ασπαρτικού) είναι άγευστα και τα μη πολικά είναι πικρά. Μια ανακατανομή γύρω από τον α άνθρακα των μη πολικών αμινοξέων μετατρέπει τη πικρή γεύση τους σε γλυκιά (Morini et al., 2005).

Οι γλυκές πρωτεΐνες αλληλοεπιδρούν με την ενεργή μορφή της εξωκυτταρικής περιοχής του υποδοχέα, με βάση το σφηνοειδές μοντέλο (wedged model). Η περιοχή των κυστεϊνών του TAS1R3 σχηματίζει μια επιπρόσθετη υποδοχή για γλυκές πρωτεΐνες, χωρίς να είναι ακόμα γνωστό αν η συγκεκριμένη περιοχή αποτελεί ενεργή περιοχή (Chandrashekar et al., 2000), (Hu, Hauache, & Spiegel, 2000).

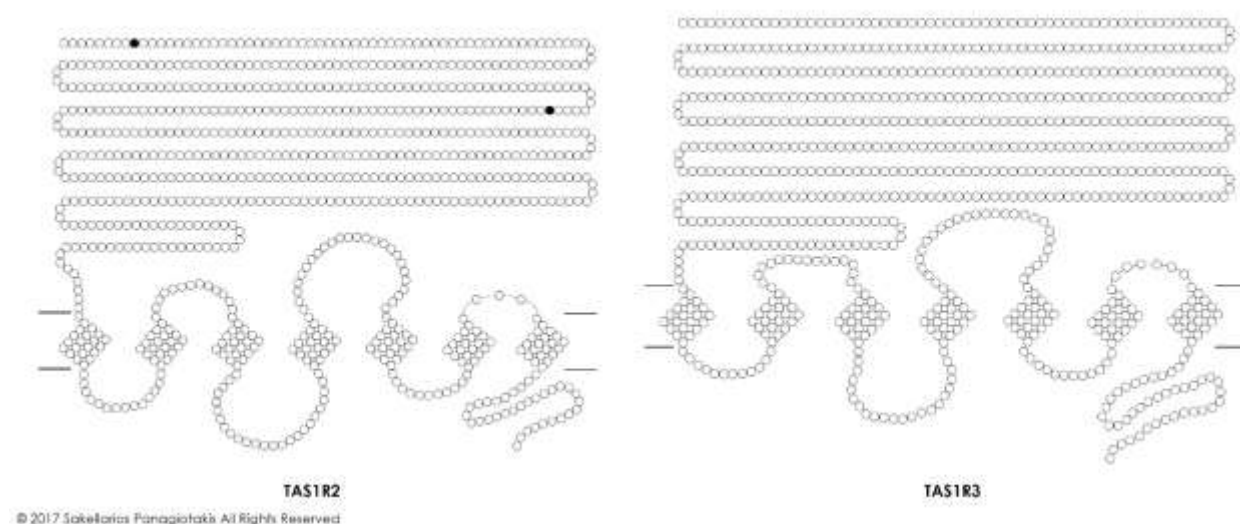
	T1R2	T1R3
Θέση	1p36.13	1p36.33
Signal peptide	1-19	1-20
Μήκος αλύσου	20-839	21-852
Θέσεις γλυκοζυλιώσεων	84, 248, 292, 312, 368, 428, 487, 527	85, 130, 264, 285, 380, 411, 432, 475
Εξωκυτταρικό τμήμα-VFT	20-566	21-570
Διαμεμβρανικό τμήμα 1	567-587	571-591
Ενδοκυτταρικό τμήμα	588-602	592-603
Διαμεμβρανικό τμήμα 2	603-623	604-624
Εξωκυτταρικό τμήμα	624-635	625-639
Διαμεμβρανικό τμήμα 3	636-656	640-660
Ενδοκυτταρικό τμήμα	657-681	661-682
Διαμεμβρανικό τμήμα 4	682-702	683-703
Εξωκυτταρικό τμήμα	703-727	704-729
Διαμεμβρανικό τμήμα 5	728-748	730-750
Ενδοκυτταρικό τμήμα	749-760	751-762
Διαμεμβρανικό τμήμα 6	761-781	763-783
Εξωκυτταρικό τμήμα	782-784	784-789
Διαμεμβρανικό τμήμα 7	785-805	790-810
Ενδοκυτταρικό τμήμα	806-839	811-852

Εικόνα 4. Δομή των υπομονάδων TAS1R2 και TAS1R3.

Πηγή: www.uniprot.org/uniprot/Q8TE23, www.uniprot.org/uniprot/Q7RTX0, www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/80834,
www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/83756

Παρ' όλα αυτά ίσως παίζει σημαντικότερο ρόλο στη διακύμανση της ευαισθησίας και των δυο γευστικών ποιοτήτων, λόγω των συγκεκριμένων πιθανών αμινοξικών αντικαταστάσεων που μπορεί να παρατηρηθούν (Unkyung Kim, Wooding, Ricci, Jorde, & Drayna, 2005).

Έχουν βρεθεί τουλάχιστον 17 SNPs για τον TAS1R1 στα εξόνια 2, 3, 4, και 6, οι 13 εκ των οποίων οδηγούν σε αλλαγή ενός αμινοξέος της πεπτιδικής αλυσίδας κι ένας σε πρώιμο κωδικόνιο λήξης, 18 SNPs στον TAS1R2 στα εξόνια 1, 3, 4, 6 (10 εκ των οποίων είναι μη συνώνυμοι κι οδηγούν σε αλλαγή αμινοξέος) και 12 SNPs στον TAS1R3 στα εξόνια 1, 2, 3, 4, 6, από τους οποίους οι μισοί είναι μη συνώνυμοι. Οι 3 στις 4 περιπτώσεις αφορούν σε αμινοξικές θέσεις στην πρώτη εξωκυτταρική θηλιά του κάθε υποδοχέα. Από 47 πολυμορφισμούς, μόνο 3 παρατηρούνται σε όλους τους πληθυσμούς. Η μεγαλύτερη ποικιλομορφία παρατηρείται σε αφρικανικούς πληθυσμούς (Kim, 2006).



Εικόνα 6. Απεικόνιση του ετεροδιμερούς TAS1R2-TAS1R3. Οι μαυρισμένες περιοχές δείχνουν τις αμινοξικές θέσεις των πιο συχνών πολυμορφισμών της υπομονάδας TAS1R2. Το σχήμα βασίστηκε σε πληροφορίες από τις πηγές www.uniprot.org/uniprot/Q8TE23, www.uniprot.org/uniprot/Q7RTX0, www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/80834, www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/83756.

Ο TAS1R2 εμφανίζει 2 πιο συχνούς πολυμορφισμούς, τους Ser9Cys και Ile191Val. Ο δεύτερος (rs35874116) βρίσκεται σε περιοχή πρόσδεσης μορίων-διεγερτών (Liao & Schultz, 2003), (Kim, 2006), εμφανίζεται σε μεγαλύτερη συχνότητα (72%) και βρίσκεται στη σχετικά συντηρημένη εξωκυτταρική περιοχή της υπομονάδας (Ramos-Lopez, Panduro, Martinez-Lopez, & Roman, 2016). Ο πολυμορφισμός Ile191Val έχει φανεί να σχετίζεται, σε άτομα υπέρβαρα, με μειωμένη κατανάλωση φυτικών ινών, φρούτων και υδατανθράκων (Eny, Wolever, Corey, & El-Sohemy, 2010). Μόνο τα άτομα με ΔΜΣ<25, πολυμορφισμό Thr110Ile του GLUT2 και ομόζυγοι

Ile/Ile για τη θέση 191 του TAS1R2 καταναλώνουν μεγαλύτερες ποσότητες γλυκόζης και φρουκτόζης σε σχέση με τα άτομα με γονότυπο Thr110Ile + Ile191Val. Σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη, ο πολυμορφισμός Ile191Val επέφερε χαμηλότερα επίπεδα ινσουλίνης νηστείας σε σχέση με τον γονότυπο Ile/Ile (Eny et al., 2010). Η ερευνητική ομάδα Ramos-Lopez et al (2016) από την άλλη βρήκε υψηλότερη ημερήσια κατανάλωση σε υδατάνθρακες, φυτικές ίνες καθώς και σε μερίδες δημητριακών και λαχανικών στα άτομα με γονότυπο Val/Val, χωρίς όμως να μελετήσει την σχέση του πολυμορφισμού- κατανάλωσης με τον ΔΜΣ. Ο γονότυπος Val/Val σχετίζεται με μικρότερη κατανάλωση από ενεργειακά πυκνά τρόφιμα (σε ό,τι αφορά την περιεκτικότητα σε σάκχαρα) και χαμηλότερο δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) σε παιδιά. Για την ηλικία των ~8 ετών παρατηρήθηκε μια τάση υψηλότερου z-score του ΔΜΣ στα παιδιά Val/Val (Melo et al., 2009). Άτομα με γονότυπο Val/Val έχουν υψηλότερα επίπεδα τριακυλογλυκερολών πλάσματος, σε σχέση με τους γονότυπους Ile/Ile και Val/Ile. Η ομοζυγωτία αυτή παρατηρείται συχνότερα σε άτομα αφρικανικής καταγωγής (Ramos-Lopez et al., 2016).

Το αλληλόμορφο G του πολυμορφισμού rs12033832 (G>A) TAS1R2 σε άντρες και γυναίκες 20-29 ετών με ΔΜΣ $\geq$ 25 σχετίστηκε με υψηλότερες κατωφλικές τιμές σε δοκιμασίες σουκρόζης και μεγαλύτερη κατανάλωση σουκρόζης. Παραδόξως, άτομα με το ίδιο αλληλόμορφο με ΔΜΣ<25 είχαν χαμηλότερες κατωφλικές τιμές και δήλωσαν μικρότερη προτίμηση στη σουκρόζη. Ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός δηλαδή δείχνει να εξαρτά τη φαινοτυπική του έκφραση από το ΔΜΣ (Dias et al 2015 Abstract).

Ο πολυμορφισμός rs11587438 TAS1R1 στους άντρες σχετίζεται με αυξημένη κατανάλωση γλυκών και μειωμένη συχνότητα καπνίσματος, ο πολυμορφισμός rs9701796 TAS1R2 στους άντρες με μειωμένη κατανάλωση σε σταυρανθή λαχανικά (ο ίδιος πολυμορφισμός σε ετεροζυγωτία στις γυναίκες σχετίστηκε με αυξημένη κατανάλωση λιπαρών τροφών και μειωμένη εσπεριδοειδών), ενώ ο rs34160967 TAS1R1 στους άντρες σχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης γαστρικού καρκίνου (Choi et al., 2016).

Πολυμορφισμοί στον εκκινητή του TAS1R3 στις θέσεις -1572 C/T (rs307355) και -1266 C/T (rs35744813) εξηγούν το 16% της ευαισθησίας στη σουκρόζη στον πληθυσμό, με το αλληλόμορφο T να σχετίζεται με μειωμένη ευαισθησία σε αυτές τις θέσεις. Το αλληλόμορφο T και στα δυο SNPs σχετίζεται με μειωμένη δραστηριότητα του εκκινητή. Οι ομόζυγοι TT παρουσιάζουν 50% μειωμένη ευαισθησία στη σουκρόζη, ενώ οι ετερόζυγοι 25%. Ο εκκινητής βρίσκεται ανοδικά του πρώτου εξονίου και περιέχει 2 πιθανές περιοχές έναρξης μεταγραφής,

στις θέσεις 67 και 176bp ανοδικά της περιοχής έναρξης της μετάφρασης, με τη δεύτερη να παρουσιάζει αδύναμη δραστηριότητα. Η περιοχή του εκκινητή -1700 ως -1000 έχει ισχυρή δράση silencing στη δραστηριότητα του εκκινητή. Τα δυο SNPs επιδρούν στη μεταγραφή του γονιδίου επηρεάζοντας τη λειτουργία αυτού του ρυθμιστικού στοιχείου. Το αλληλόμορφο C συναντάται πιο συχνά σε πληθυσμούς εκτός Αφρικής ενώ το T αλληλόμορφο πιο συχνά σε περιοχές κάτω από τη Σαχάρα (Fushan, Simons, Slack, Manichaikul, & Drayna, 2009).

1.7.4 Τροποποίηση της γλυκιάς γεύσης

Η αίσθηση της γλυκιάς γεύσης τροποποιείται από κυκλοφορούσες ορμόνες, όπως η λεπτίνη. Η λεπτίνη ασκεί ανασταλτική δράση στα γευστικά κύτταρα, επί των οποίων φέρονται υποδοχείς της. Αμβλύνει τα νευρικά σήματα του γλυκού, κάνοντας ενδεχομένως ένα τρόφιμο λιγότερο επιθυμητό. Κατά την ασιτία, η παραγωγή λεπτίνης ελαττώνεται κι η κατασταλτική της δράσης αίρεται και προκαλεί το αίσθημα της πείνας ενώ συγχρόνως αυξάνεται η ευαισθησία στη γεύση του γλυκού και η τροφή γίνεται αντιληπτή ως πιο ευχάριστη (Kubale, 2010). Τα κατωφλικά όρια αντίληψης του γλυκού αυξάνουν κατά τη διάρκεια της ημέρας καθώς αυξάνουν τα επίπεδα λεπτίνης (Nakamura et al., 2008). Η λεπτίνη επιδρά στη μεταγωγή σήματος του γλυκού παρεμποδίζοντας την αποπόλωση με το να ενεργοποιεί ρεύματα K^+ προς τα έξω (Kawai, Sugimoto, Nakashima, Miura, & Ninomiya, 2000), μέχρι το σημείο κορεσμού της δράσης της στα 15-20ng/mL (Nakamura et al., 2008), (Kawai et al., 2000). Ωστόσο, άτομα υπέρβαρα ή παχύσαρκα με πιθανή αντίσταση στη λεπτίνη πιθανώς να μην επηρεάζονται σε ό,τι αφορά τα κατωφλικά επίπεδα αντίληψης του γλυκού.

1.8 Μετάδοση γευστικής πληροφορίας μετά το γευστικό κύτταρο

1.8.1 Η διέγερση των γευστικών καλύκων

Συνοπτικά, ο μηχανισμός διέγερσης ενός γευστικού κάλυκα ξεκινά με την πρόσδεση μιας ουσίας σε έναν πρωτεϊνικό υποδοχέα που βρίσκεται κοντά στην εξωτερική επιφάνεια του γευστικού κυττάρου-υποδοχέα, κοντά σε ή προσεκβαλλόμενος από μεμβράνη λάχνης η οποία, με τη σειρά της, ανοίγει διαύλους που επιτρέπουν σε ιόντα Na^+ ή H^+ να εισέλθουν και να αποπολώσουν το φυσιολογικό αρνητικό δυναμικό του κυττάρου. Στη συνέχεια, η ουσία-σήμα προοδευτικά απομακρύνεται με τη βοήθεια του σάλιου, που αφαιρεί το ερέθισμα. Το ποσοστό της εκπόλωσης των νευρικών ινών των γευστικών κάλυκων μετά από ερέθισμα ανεβαίνει σε ένα μέγιστο ταχύτατα και στη συνέχεια αναπροσαρμόζεται σε ένα χαμηλότερο, σταθερό επίπεδο, μεταδίδοντας συγχρόνως ένα ισχυρό άμεσο σήμα και ένα ασθενέστερο συνεχές σήμα που διαρκεί όσο ο γευστικός κάλυκας εκτίθεται στο ερέθισμα (Hall & Guyton, 2011).

Τα κύτταρα τύπου II και III έχουν στενοσύνδεσμούς, μέσω των οποίων μεταβιβάζονται οι πληροφορίες από τα τύπου II στα τύπου III. Τα τύπου III μεταβιβάζουν γευστικές πληροφορίες αν επιπρόσθετα διαθέτουν υποδοχείς νευροδιαβιβαστών, επομένως η διαδικασία της γευστικής πληροφορίας απαιτεί την ύπαρξη τόσο στενοσύνδεσμων όσο παρακρινικού συστήματος των κυττάρων τύπου III (υποδοχείς νευροδιαβιβαστών) (Suzuki, 2007).

Οι πιο σημαντικοί νευροδιαβιβαστές που συναντώνται στα γευστικά κύτταρα είναι το ATP, η σεροτονίνη κι η καλμυρίνη.

Όταν τα κύτταρα τύπου II διεγείρονται, απελευθερώνουν ATP μέσω των διαύλων παννεξίνης προς την προσαγωγή νευρική ίνα. Συγχρόνως, το ATP διεγείρει παρακείμενα προσυναπτικά κύτταρα μέσω των υποδοχέων P2YR αυτών, με επακόλουθη παραγωγή IP_3^+ , οδηγώντας στην απελευθέρωση σεροτονίνης (5-HT) και/ή νορεπινεφρίνης (NE). Το παραγόμενο ATP προκαλεί και θετική ανατροφοδότηση στα κύτταρα τύπου II, αυξάνοντας την έκκριση τους και αντισταθμίζοντας, πιθανώς, τη μείωση του ATP από τις εκτο-ATPάσες (Chaudhari & Roper, 2010). Το ATP από τα κύτταρα τύπου II μπορεί να διεγείρει τόσο τις προσαγωγές νευρικές ίνες και τα τύπου III αλλά και τα παρακείμενα τύπου II κύτταρα, διεγείροντας τα ώστε να εκκρίνουν διαβιβαστές όπως σεροτονίνη, GABA, νορεπινεφρίνη καθώς και ATP (Suzuki, 2007).

Τα προσυναπτικά κύτταρα εκκρίνουν 5-HT και NE, ιδίως σε απόκριση όξινου ερεθίσματος (Heath, Melichar, Nutt, & Donaldson, 2006). Η έκκριση τους φαίνεται να εξαρτάται από την αύξηση της συγκέντρωσης του ασβεστίου που εξέρχεται από το ενδοπλασματικό δίκτυο (Heath et al., 2006). Οι δυο αντίθετες επιδράσεις (θετική κι αρνητική ανατροφοδότηση) επί των κυττάρων αυτών κατά την γευστική τους διέγερση συνδυάζονται για να διαμορφώσουν τα σήματα που θα καταλήξουν στον εγκέφαλο. Πιθανώς η 5-HT καταστέλλει την παραγωγή σημάτων παρακείμενων υποδοχέων (π.χ. για το πικρό) όταν ένας συγκεκριμένος υποδοχέας (π.χ. του γλυκού) διεγείρεται (Chaudhari & Roper, 2010). Υποδοχείς σεροτονίνης 5-HT_{1A} και 5-HT₃ συναντώνται και στα τερματικά των απαγωγών νευρικών ινών (DeFazio & Hablitz, 2000). Η ενεργοποίηση των βασικών κυττάρων τύπου IV, απελευθερώνοντας σεροτονίνη, ενισχύει τη χημειοευαισθησία των κυττάρων-υποδοχέων γεύσης (Suzuki, 2007). Τα τύπου IV κύτταρα απελευθερώνουν σεροτονίνη στα παρακείμενα κύτταρα κι αυτό πιθανώς ενισχύει την διάδοση των δυναμικών των υποδοχέων στα τύπου III (Suzuki, 2007).

Η CIB1 (ή αλλιώς καλμυρίνη) είναι μια DNA-εξαρτώμενη κινάση. Προσδένεται στην ενδοκυτταρική καρβοξυτελική άκρη του TAS1R2. Εμπλέκεται στην αναστολή της IP₃-εξαρτώμενης απελευθέρωσης ασβεστίου από το ενδοπλασματικό δίκτυο (Hennigs et al., 2008). Οι διάλυοι ασβεστίου, τόσο στη μεμβράνη όσο και στους ενδοκυτταρικούς υποδοχείς IP₃, ρυθμίζονται από το ίδιο το ασβέστιο επί πρόσδεσής του είτε επί αυτών ή μέσω εξιδεικευμένων πρωτεϊνών που προσδένουν στο ασβέστιο (calcium binding proteins, CaBPs) (Berridge, Bootman, & Roderick, 2003), (Burgoyne & Weiss, 2001). Η διέγερση ενός υποδοχέα κι η απενεργοποίηση των γευστικών κυττάρων συχνά ρυθμίζεται από CaBPs με μηχανισμό ανατροφοδότησης (Sallese et al., 2000).

Άλλοι νευροδιαβιβαστές που εμφανίζονται στα γευστικά κύτταρα, χωρίς να έχει τεκμηριωθεί πλήρως ο ρόλος τους όλων, είναι το γλουταμινικό, η ακετυλοχολίνη (αυξάνει το IP₃ και τη συνακόλουθη απελευθέρωση ασβεστίου από τις ενδοκυτταρικές αποθήκες του), η χολοκυστοκίνη, η ουσία P (substance P), Το γ-αμινοβουτυρικό όξυ (το οποίο, μαζί με την 5-HT έχει βρεθεί σε ποντίκια να ασκεί ανασταλτική δράση επί των κυττάρων τύπου II, μειώνοντας την έκκριση ATP (Y. A. Huang, Pereira, & Roper, 2011)), η νορεπινεφρίνη (ενδεχομένως να ασκεί παρακρινική δράση) (Suzuki, 2007) ενώ σε αρουραίους διεγείρει τα κύτταρα-υποδοχείς της γεύσης (Herness et al., 2002)), η λεπτίνη κι ο παράγοντας skn-1a (όπου επί διαγραφής του γονιδίου του τα κύτταρα τύπου II δε μπορούν να ανιχνεύσουν καμία από τις 3 γευστικές αισθήσεις) (Matsumoto, Ohmoto, Narukawa, Yoshihara, & Abe, 2011) (Suzuki, 2007).

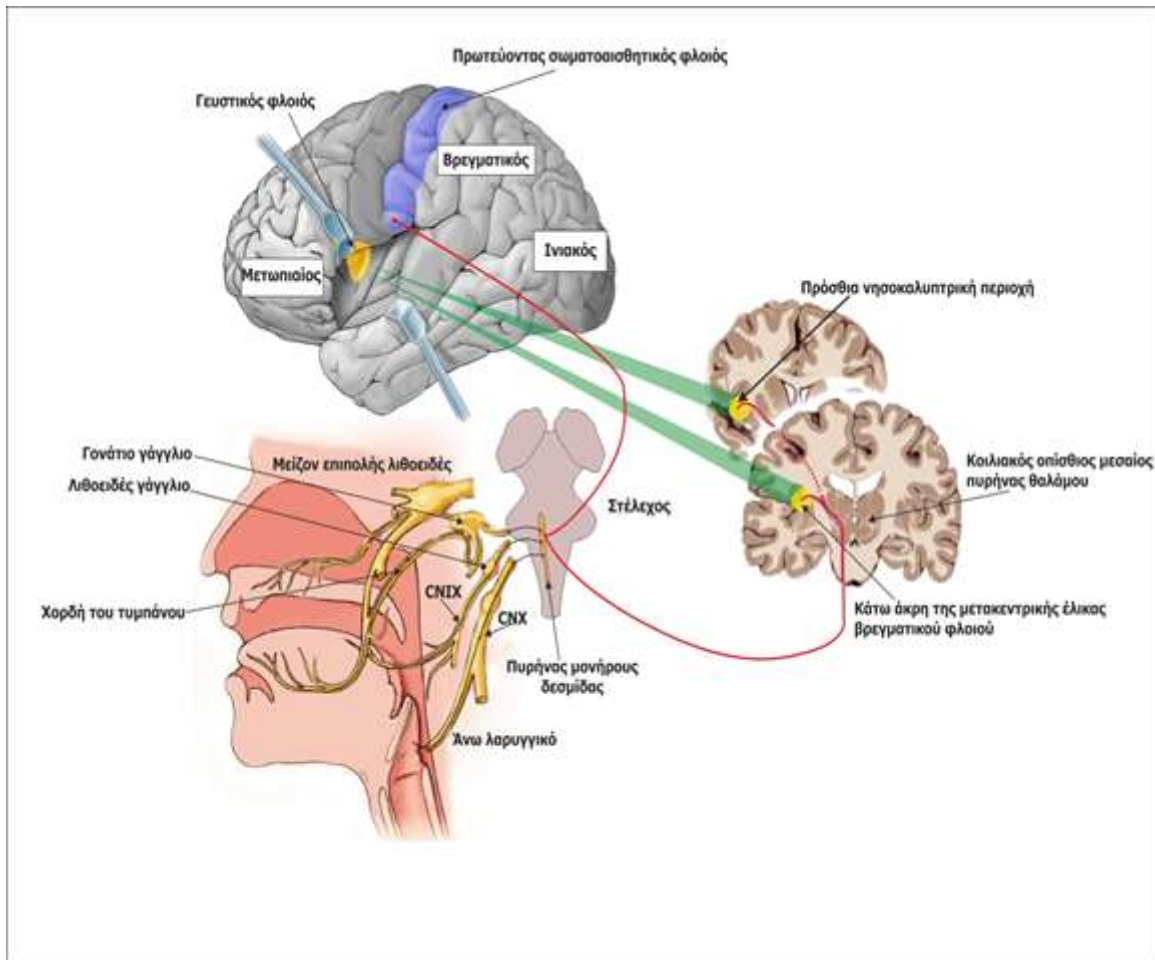
1.8.2 Νευρωνική οδός

Από το γονάτιο γάγγλιο, η χορδή τυμπάνου συνεχίζει σαν το διάμεσο νεύρο του Wrisberg και προχωρά στον έσω ακουστικό πόρο με τις εγκεφαλικές συζυγίες VII και VIII σαν σύνολο ξεχωριστών δεσμίδων. Οι πληροφορίες της γεύσης από τα VII, IX, X συνάπτονται στο οπίσθιο μέρος του στελέχους του εγκεφάλου στους πυρήνες της μονήρους δεσμίδας, με το γλωσσοφαρυγγικό και άνω λαρυγγικό να προβάλλουν ελαφρώς πιο οπίσθια (Hall & Guyton, 2011). Στο σημείο αυτό οι γευστικές οδοί διακλαδίζονται. Ο ένας κλάδος συνεχίζει προς τον πρωτεύοντα σωματοαισθητικό φλοιό (Møller, 2003). Ο άλλος στέλνει νευρώνες δεύτερης τάξης στον κοιλιακό οπίσθιο μεσαίο πυρήνα του θαλάμου. Από τον θάλαμο, οι τρίτης τάξης νευρώνες διαβιβάζονται στην κάτω άκρη της μετακεντρικής έλικας στο βρεγματικό φλοιό του εγκεφάλου, βαθιά στην σχισμή Sylvian, και στην παρακείμενη πρόσθια νησοκαλυπτρική περιοχή (που ρυθμίζει τη συνειδητή αξιολόγηση της έντασης μιας γευστικής ποιότητας και την ταυτότητα αυτής κι αποτελεί τον πρωτεύοντα γευστικό φλοιό) (Hall & Guyton, 2011) (Rolls, 2012).

Οι ανώτερες προβολές από τον πυρήνα της μονήρους δεσμίδας περιλαμβάνουν επίσης την ουραιοπλευρική περιοχή του κογχομετωπιαίου φλοιού (δευτεροταγούς γευστικού φλοιού), την αμυγδαλή, τον υποθάλαμο και τα βασικά γάγγλια (Doty, 2015). Στον κογχομετωπιαίο φλοιό βρίσκεται ο δευτερογενής γευστικός φλοιός καθώς κι ο δευτερογενής οσφρητικός φλοιός. Στη θέση αυτή (όπως και στην αμυγδαλή) εισέρχονται πληροφορίες για τη συνολική αντίληψη ενός τροφίμου: γευστικές (για τις 5 βασικές γεύσεις), οπτικές, οσφρητικές, απτικές. Οι ευχάριστες οσμές ενεργοποιούν τον μέσο κογχομετωπιαίο φλοιό, ενώ οι δυσάρεστες ασκούν επίδραση στην πλευρική επιφάνεια του φλοιού. Σήματα κορεσμού από περιφερικούς νευρώνες ασκούν ανασταλτική δράση στον κογχομετωπιαίο φλοιό. Στην περιοχή αυτή καθώς και στον πρόσθιο φλοιό του προσαγωγίου πραγματοποιείται η ηδονική αξιολόγηση καθώς και η «επιβράβευση» από πιθανή κατανάλωση του συγκεκριμένου τροφίμου (Rolls, 2012). Αυτή η ευρεία αναπαράσταση των πληροφοριών γεύσης στον εγκέφαλο πιθανότατα εξυπηρετεί την ενσωμάτωση εσωτερικών (πείνα, κορεσμό, εξειδικευμένες ορέξεις) και εξωτερικών (σήματα οράσεως, όσφρησης, σωματοαισθητικά ερεθίσματα) πληροφοριών και τη δημιουργία συμπεριφορικών αποκρίσεων σε διεγέρτες γεύσης.

Ο πυρήνας της μονήρους δεσμίδας προβάλλει σε διάφορους κινητικούς νευρώνες της γλώσσας, των σιελογόνων αδένων και του παγκρέατος για την έκκριση ινσουλίνης. Η γεύση

μπορεί να προκαλέσει αντανάκλαστικά που συνδέονται με αυτούς τους κινητικούς νευρώνες, όπως βήχας, σιελόρροια, ακόμα και εφίδρωση. Αντανάκλαστικά με προστατευτικό ρόλο, όπως αυτά που προκαλούνται από την αίσθηση του πικρού, ενεργοποιούν αρκετές μυϊκές ομάδες ώστε να προληφθεί η κατάποση δυνητικώς επικίνδυνων τροφών, όπως το αντανάκλαστικό της έμεσης (Møller, 2003).



Εικόνα 7. Η πορεία της γευστικής πληροφορίας, μέσω του στελέχους, ως τα κέντρα γεύσης στον εγκέφαλο.

1.8.3 Ο κώδικας της γεύσης

Παραμένει ασαφές το πώς μεταφράζεται σε νευρωνικό κώδικα η ενεργοποίηση των κυττάρων γεύσης και των προσυναπτικών κυττάρων. Η γεύση ίσως να κωδικοποιείται στο πεδίο

του χρόνου, π.χ. από τη συχνότητα και τα μοτίβα των δυναμικών ενεργείας στα ανώτερα γευστικά εγκεφαλικά κέντρα (Chaudhari & Roper, 2010).

Οι επικρατέστερες θεωρίες σχετικά με τον κώδικα γεύσης είναι το μοντέλο across-fiber pattern και το μοντέλο σημασμένων γραμμών. Μια από τις ερμηνείες του πρώτου μοντέλου θεωρεί ότι ένα γευστικό κύτταρο διεγείρεται από περισσότερες της μιας γευστικές ιδιότητες, με αποτέλεσμα τη μεταφορά αρκετών γευστικών ιδιοτήτων στην προσαγωγή νευρική ίνα που του αντιστοιχεί. Εναλλακτικά, κάθε γευστικό κύτταρο περιέχει μόνο ένα είδος υποδοχέα αλλά οι πληροφορίες από διαφορετικά κύτταρα του γευστικού κάλυκα αφενός επιδρούν στα γειτονικά γευστικά κύτταρα (cell-cell communication), αφετέρου συγκλίνουν προς μια κοινή νευρική ίνα, η οποία μεταφέρει πληροφορίες περισσότερων της μιας γευστικών ιδιοτήτων (Temussi, 2009), (Chandrashekar et al., 2006).

Κατά το μοντέλο σημασμένων γραμμών, οι πέντε γεύσεις προκαλούνται επί διεγέρσεως σε 5 ξεχωριστούς τύπους κυττάρων, όπου κάθε τύπος εκφράζει ένα είδος υποδοχέα κι εν συνεχεία οι γευστικές πληροφορίες μεταφέρονται σε «σημασμένες» νευρικές ίνες.

Εντός του κάλυκα υπάρχει επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων και συγχώνευση των σημάτων, με αποτέλεσμα ένα μεμονωμένο κύτταρο τύπου II, αν και φέρει μόνο ένα είδος υποδοχέα, αποκρίνεται σε περισσότερες γευστικές ιδιότητες. Η επικοινωνία των κυττάρων τύπου II με τα προσυναπτικά πιθανώς ενσωματώνει τα ποικίλα γευστικά ερεθίσματα μες στον κάλυκα, με αποτέλεσμα τα κύτταρα της γεύσης να αποκρίνονται σε ποικίλα ερεθίσματα. Το 83% των προσυναπτικών κυττάρων, δεχόμενα πληροφορίες από τα τύπου II, μπορούν να αποκρίνονται σε 2 ή περισσότερα γευστικά ερεθίσματα. Οι προσαγωγές νευρικές ίνες, αν και φέρουν –πιθανώς– πληροφορίες ποικίλων γευστικών αισθήσεων, είναι υπεύθυνες για τη μεταφορά πληροφοριών κυρίως μιας γεύσης. Για παράδειγμα, στο γλωσσοφαρυγγικό νεύρο συναντώνται διαφορετικές κατηγορίες ινών: Ίνες N (salt best), S (sweet best), Q (quinine-bitter best), H/A (ευρείας διεγέρσεως από οξέα και ηλεκτρολύτες), M (umami best) (Tomchik et al., 2007).

Οι γευστικές αισθήσεις έχουν διαφορετικό χρόνο εμφάνισης και ταυτοποίησης. Η αίσθηση του όξινου εμφανίζεται πιο γρήγορα από το αλμυρό, το οποίο με τη σειρά του εμφανίζεται πιο γρήγορα από το γλυκό. Το πικρό χρειάζεται περισσότερο χρόνο για να γίνει αντιληπτό, σε σχέση με τις υπόλοιπες γεύσεις (Marshall, Laing, Jinks, Effendy, & Hutchinson, 2005). Μίγματα 2 ουσιών διαφορετικών γεύσεων και διαφορετικών χρόνων αντίληψης έχουν ως αποτέλεσμα η ουσία-

γεύση με τον πιο γρήγορο χρονισμό πλέον να καθυστερήσει. Οι περισσότεροι άνθρωποι μπορούν να ξεχωρίσουν μέχρι 3 διαφορετικές γευστικές ποιότητες σε μίγμα.

2. Ψυχομετρικές διαδικασίες στην έρευνα της γεύσης

2.1 Είδη κατώφλικών επιπέδων

Ο όρος «κατώφλιο ανίχνευσης» ή «απόλυτο κατώφλιο» αναφέρεται στην τιμή της συγκέντρωσης πάνω από την οποία μπορεί να γίνει αντιληπτό ένα ερέθισμα κι ακολουθεί την αρχή του «όλου ή μηδενός». Πρακτικά είναι αδύνατο να εφαρμοστεί λόγω της μεταβλητότητας της ευαισθησίας του δοκιμαστή με το χρόνο. Το πρόβλημα αυτό αντιμετωπίστηκε με την εισαγωγή της πρώτης ψυχομετρικής λειτουργίας, που περιγράφει την πιθανότητα απόκρισης ως μία λειτουργία του ερεθίσματος και παριστάνεται από μια σιγμοειδή καμπύλη. Πρακτικά, αυτό προσδίδει σε ένα κατώφλιο πιθανολογικό χαρακτήρα, αφού γίνεται αντιληπτό ως στατιστική οντότητα και όχι ως ένα σταθερό σημείο (Lawless (2013) Quantitative Sensory Analysis Psychophysics, Models and Intelligent Design). Έτσι, το κατώφλιο ανίχνευσης ορίζεται ως η μικρότερη συγκέντρωση ερεθίσματος που ανιχνεύεται στο 50% των δοκιμών από ένα δοκιμαστή ή από το 50% του συνόλου των δοκιμαστών (Lawless, Heymann, 2010). Η γραφική απεικόνιση του αποδίδεται με σιγμοειδή καμπύλη.

Ως *κατώφλιο αναγνώρισης* ορίζεται η ποσότητα ενέργειας που απαιτείται προκειμένου ένα ερέθισμα να αναγνωριστεί σωστά. Στην περίπτωση της αίσθησης της γεύσης, το κατώφλιο αναγνώρισης συχνά είναι υψηλότερο από το κατώφλιο ανίχνευσης. Το *κατώφλιο διάκρισης* αντιπροσωπεύει την απαιτούμενη ενέργεια για την αντίληψη της μεταβολής της έντασης ενός ερεθίσματος. Τέλος, το *τερματικό κατώφλιο* δίνεται από την τιμή της ενέργειας στην ένταση του ερεθίσματος, πάνω από την οποία καμία περαιτέρω αύξηση αυτής δεν προκαλεί αύξηση στην αντιλαμβανόμενη αίσθηση.

2.2 Μέθοδος των ορίων

Η κλασική μέθοδος των ορίων ήταν η πιο συνηθισμένη προσέγγιση για τη μέτρηση των αισθητηριακών κατωφλικών τιμών. Τα δείγματα παρουσιάζονταν με σειρά αυξανόμενης κι εν συνεχεία φθίνουσας φυσικής συγκέντρωσης, με σκοπό τον εντοπισμό των σημείων στα οποία θα παρουσιαστεί αλλαγή στην απόκριση του δοκιμαστή (Lawless, Heymann, 2010). Η μέθοδος παρουσιάζει δυο βασικά προβλήματα. Η παρουσίαση δειγμάτων κατά φθίνουσα σειρά συγκέντρωσης μπορεί να προκαλέσει κούραση και εξοικείωση του αισθητηριακού υποδοχέα. Επιπλέον, κάθε δοκιμαστής θέτει διαφορετικά κριτήρια για την ποσότητα της αλλαγής που χρειάζεται πριν αλλάξει την απάντησή του, με αποτέλεσμα η επιλογή του να επηρεάζεται από την ατομική του κρίση (Lawless, Heymann, 2010).

2.3 Μέθοδοι διάκρισης ή διαφοράς

Αποσκοπούν στην ανίχνευση αντιληπτής διαφοράς μεταξύ δυο προϊόντων, μιγμάτων, δειγμάτων κλπ. Φέρουν το χαρακτηριστικό της εναλλακτικής υποχρεωτικής επιλογής του ερεθίσματος στόχου ώστε να αντιμετωπιστούν τα προβλήματα της μεθόδου των ορίων. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων βασίζεται στις στατιστικές συχνοτήτων και αναλογιών, καταμετρώντας απλώς το πλήθος των ορθών και εσφαλμένων απαντήσεων. Έχουν ευρεία εφαρμογή, η ανάλυση των δεδομένων είναι απλή κι οι στατιστικοί πίνακες προκύπτουν είτε από πίνακες σχεδιασμένους για αναλογίες (όπως του X^2) είτε από διωνυμικές κατανομές. Η δοκιμασία duo-trio, η σύγκριση κατά ζεύγη καθώς κι η τριγωνική δοκιμασία αποτελούν ορισμένα είδη δοκιμασιών διαχωρισμού. Και οι τρεις κατηγορίες αποτελούν μεθόδους υποχρεωτικής επιλογής. Επιπλέον, όταν τα προς ανίχνευση δείγματα χρειάζεται να αξιολογηθούν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, παρουσιάζονται στον δοκιμαστή μόνο κατά αύξουσα συγκέντρωση. Στην περίπτωση όπου ο δοκιμαστής αδυνατεί να εντοπίσει το δείγμα που διαφέρει, καλείται να μαντέψει.

Κατά την τριγωνική δοκιμασία, παρουσιάζονται στον δοκιμαστή 3 δείγματα (τα δυο εκ των οποίων είναι από την ίδια παρτίδα) και καλείται να εντοπίσει εκείνο όπου διαφέρει (δείγμα-στόχος). Η μέθοδος 3-AFC (Ascending Forced-Choice) έχει τη λογική της τριγωνικής δοκιμασίας, αφού παρουσιάζονται 3 δείγματα, δυο εκ των οποίων θεωρούνται «μηδενικά» ενώ το τρίτο διαφέρει σε ένα χαρακτηριστικό. Η διαφορά με τις τριγωνικές δοκιμασίες έγκειται στο γεγονός

ότι εδώ ο δοκιμαστής γνωρίζει εκ των προτέρων το χαρακτηριστικό το οποίο καλείται να προσδιορίσει στα προς δοκιμή δείγματα. Αυτός είναι κι ο λόγος για τον οποίο η μέθοδος αυτή αποδίδει καλύτερα σε σχέση με την τριγωνική.

2.4 Υπολογισμός κατώφλιου στην 3-AFC

Το ατομικό κατώφλιο της μεθόδου 3-AFC, υπολογίζεται βάσει της πρώτης σωστής ανίχνευσης ερεθίσματος κατά την παρουσίαση των δειγμάτων κατ' αύξουσα (κατά γεωμετρική πρόοδο) συγκέντρωση, δεδομένου ότι όλες οι ακόλουθες απαντήσεις θα είναι επίσης σωστές. Έτσι, τα ατομικά καλύτερα εντοπισμένα κατώφλια (ΚΕΚ) ορίζονται ως ο γεωμετρικός μέσος δύο συγκεκριμένων επιπέδων συγκέντρωσης: το πρώτο βάσει της πρώτης επιτυχούς ανίχνευσης, και το δεύτερο ορίζεται από το τελευταίο ανεπιτυχές επίπεδο συγκέντρωσης πριν την ακολουθία των επιτυχών. Ο γεωμετρικός μέσος ορίζεται ως η N-οστή ρίζα μίας ακολουθίας N στοιχείων:

$$\text{Mean}_{\text{geometric}} = \sqrt[n]{x_1 \cdot x_2 \cdot x_3 \cdot \dots \cdot x_n}$$

όπου x_1, x_2 , κ.ο.κ. είναι τα ατομικά καλύτερα εντοπισμένα κατώφλια (ΚΕΚ) από μία ομάδα n ατόμων. Τα δεδομένα μπορούν επίσης να λογαριθμιστούν και να προσδιοριστεί ο μέσος των λογαριθμισμένων δεδομένων και, τελικά, ο μέσος να αντιλογαριθμιστεί:

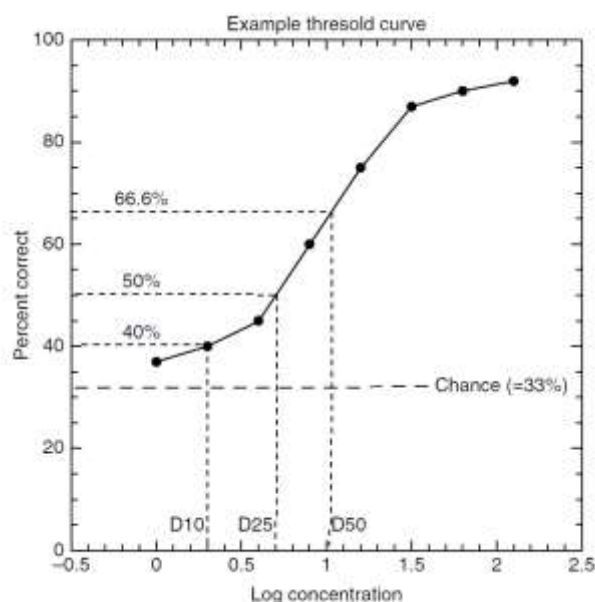
$$\text{ML} = \frac{\sum_{i=1}^n \log x_i}{n} \quad \text{Mean}_{\text{geometric}} = 10^{\text{ML}}$$

Ως μέτρο κεντρικής τάσης, ο γεωμετρικός μέσος έχει την ιδιότητα να επηρεάζεται λιγότερο από ακραίες τιμές στα δεδομένα, ενώ τα δεδομένα απέχουν ισόποσα μεταξύ τους μόλις λογαριθμιστούν (Lawless, 2013).

Κατά τη μέθοδο αύξουσας αναγκαστικής επιλογής των ορίων υπάρχει περίπτωση ο δοκιμαστής να μαντέψει σωστά σε ποσοστό 33,3%. Για τον λόγο αυτό εφαρμόζεται ο μαθηματικός τύπος του Abbott, ο οποίος προσφέρει μία λύση του προβλήματος της τυχαίας (αλλά σωστής) εικασίας: $P_{\text{obs}} = PD + P_{\text{chance}} (1 - PD)$

όπου PD : το ποσοστό πραγματικής ανίχνευσης, P_{obs} : το ποσοστό της παρατηρηθείσας σωστής επιλογής του δείγματος-στόχου, P_{chance} : η 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 AFC, 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, λαμβάνονται υπόψη τα 2/3 των σωστών απαντήσεων στη διαδικασία 3-AFC (Lawless, 2013).



Εικόνα 8. Γραφικός προσδιορισμός τυχαίως σωστών ανιχνεύσεων. Μέσω της μεθόδου 3-AFC, δύναται η προβολή εντός του γραφήματος της σχέσης αναλογίας των σωστών ανιχνεύσεων με τα επίπεδα συγκέντρωσης, για να βρεθεί το επίπεδο του κατωφλίου που έχει επιλεχθεί τυχαία σωστά (66,6% για ανίχνευση 50%) (Lawless, 2013) .

3. Σχέση θηλών, σάλιου και καρβονικής ανυδράσης VI στη λειτουργία της γεύσης

3.1 Συσχέτιση θηλών με τη γεύση

Διακρίνονται 2 κατηγορίες θηλών. Οι μυκητοειδείς, οι περιχαρακωμένες κι οι φυλλοειδείς σχετίζονται άμεσα με την αίσθηση της γεύσης, ενώ οι τριχοειδείς δεν περιέχουν κύτταρα της γεύσης.

Οι μυκητοειδείς είναι υπεύθυνες για την αναγνώριση του γλυκού, του πικρού και του umami. Οι φυλλοειδείς θηλές αποκρίνονται κυρίως στην όξινη γεύση. Οι γευστικές αισθήσεις που εντοπίζουν τα γευστικά κύτταρα των περιχαρακωμένων είναι κυρίως το πικρό και το όξινο, ως τελευταία ευκαιρία αποφυγής κατάποσης δυνητικά επιβλαβών τοξικών ή όξινων τροφών (Kubale, 2010).

Η σπουδαιότητα των τριχοειδών θηλών έγκειται κυρίως στην αντίληψη της αφής, της πίεσης, της θερμοκρασίας και του πόνου κι όχι σε αμιγώς γευστικά ερεθίσματα (Faller, Schuenke, & Schuenke, 2004). Σε ζώα όπως αιλουροειδή είναι εξαιρετικά αναπτυγμένες και περιέχουν μεγαλύτερη ποσότητα κερατίνης, ώστε να εξυπηρετούν στον καθαρισμό του τριχώματος, ακόμα και στην αφαίρεση σάρκας από οστό κατά τη διάρκεια γεύματος. Σε κάθε περίπτωση συμβάλλουν στην τραχύτητα της γλώσσας και την αύξηση της συνολικής της επιφάνειας.

Κατά τη μελέτη της γεύσης και το βαθμό της γευστικής ευαισθησίας έχει καθιερωθεί να αξιολογείται ο αριθμός των μυκητοειδών θηλών. Οι περιχαρακωμένες θηλές, αν και περιέχουν περίπου 2250 γευστικούς κάλυκες, περιορίζονται στην περιοχή του γευστικού λάμδα οπίσθια της γλώσσας, μέρος σχετικά δυσπρόσιτο για χειρισμούς, οι οποίοι θα προκαλούσαν δυσφορία σε κάποιον εθελοντή. Επιπλέον, ο αριθμός των περιχαρακωμένων θηλών είναι σχεδόν σταθερός μεταξύ των ανθρώπων. Παρομοίως, οι σχετικά σταθερές σε αριθμό φυλλοειδείς θηλές περιορίζονται στις οπισθοπλευρικές περιοχές της γλώσσας, γεγονός που τις καθιστά σχετικά δυσπρόσιτες για μελέτη. Επιπλέον, οι φυλλοειδείς βρίσκονται σε σημεία όπου η γλώσσα μπορεί εύκολα να τραυματιστεί από δάγκωμα και έτσι να επηρεαστεί προσωρινά η οξύτητα της γεύσης. Οι μυκητοειδείς θηλές, σε αντίθεση, καλύπτουν μεγαλύτερη επιφάνεια στη γλώσσα (στην άκρη, στο πρόσθιο τμήμα αυτής καθώς και πλευρικά) και κατά τις δοκιμασίες χρώσης δε βάφονται κι

έτσι ξεχωρίζουν από τις περιβάλλουσες τριχοειδείς θηλές και το επιθήλιο. Τόσο η πυκνότητα των θηλών όσο κι η ευαισθησία είναι αυξημένες στην κορυφή της γλώσσας.

Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι υπάρχει αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ πυκνότητας των μυκητοειδών θηλών και των κατωφλικών τιμών (με χρήση ηλεκτρογευσιμετρίας) αντίληψης της γεύσης και μάλιστα, για την ίδια θέση στη γλώσσα, όσο μεγαλύτερο ηλεκτρόδιο χρησιμοποιείται τόσο μειώνεται το κατωφλικό όριο. Η άκρη της γλώσσας, με τη χρήση της ίδιας μεθόδου, βρέθηκε ως η πιο ευαίσθητη περιοχή. Προχωρώντας προς τα πίσω μικραίνει η ευαισθησία της γλώσσας. Τα γευστικά κατώφλια, τόσο για ηλεκτρικά όσο και για χημικά ερεθίσματα, έχουν αντίστροφη σχέση με το μέγεθος της διεγερθείσας περιοχής, για περιοχές τουλάχιστον που νερώνονται από το προσωπικό νεύρο (S. L. Miller, Mirza, & Doty, 2002).

Τα κατωφλικά όρια σε δοκιμασίες ηλεκτρογευσιμετρίας αυξάνουν με την ηλικία. Συγκεκριμένα, μετά τα 60 στις περιοχές που νευρώνονται από τη χορδή του τυμπάνου και το γλωσσοφαρυγγικό νεύρο, και μετά τα 70 στις περιοχές που νευρώνονται από το μείζον λιθοειδές (Nin et al., 2006).

Στους καπνιστές τα κατωφλικά όρια σε δοκιμασίες ηλεκτρογευσιμετρίας είναι αυξημένα και στα δυο φύλα ενώ η μορφολογία, η πυκνότητα κι η αγγείωση των μυκητοειδών θηλών είναι σε χειρότερη κατάσταση σε σχέση με τους μη καπνιστές. Η εικόνα αυτή επιδεινώνεται με τη διάρκεια του καπνίσματος. Οι γυναίκες καπνίστριες εξακολουθούν να έχουν χαμηλότερα κατωφλικά όρια από τους άντρες καπνιστές. Τα κατώτερα κατωφλικά όρια παρατηρούνται στη δεξιά πλευρά της γλώσσας τόσο σε καπνιστές όσο και σε μη καπνιστές (P. Pavlidis, Gouveris, Kekes, & Maurer, 2014).

Η πυκνότητα των μυκητοειδών σχετίζεται με χαμηλότερες κατωφλικές τιμές σε απτικά ερεθίσματα ιδίως στους PROP supertasters, στους οποίους οι χαμηλές κατωφλικές τιμές σχετίζονται με θηλές μικρής διαμέτρου (Essick et al., 2003). Τέλος, ο αριθμός των πόρων στην κορυφή της γλώσσας έχει συσχετιστεί με την ένταση στην ευαισθησία σε υπερκατωφλικά επίπεδα τοπικών γευστικών ερεθισμάτων από γλυκό και αλμυρό, όχι όμως και από όξινο ή πικρό (Miller & Reedy, 1990).

3.2 Συσχέτιση σάλιου με τη γεύση

Η λειτουργία της γευστικής αντίληψης διαμεσολαβείται από την έκκριση του σάλιου. Κάθε ουσία που μπορεί να γίνει γευστικά αντιληπτή πρέπει αν είναι διαλυμένη σε αυτό. Το μικρό ιώδες του σάλιου επιτρέπει στις ουσίες-διεγέρτες να διαπεράσουν με ευκολία το λεπτό σιαλικό στρώμα της γλώσσας. Οι εκκρίσεις από τους αδένες von Ebner έχουν αντίθετη λειτουργία: την έκπλυση των γευστικών προσδετών από τα κύτταρα γεύσης, μέσω των δεσμευτικών πρωτεϊνών που περιέχουν (Li & Snyder, 1995). Γευστικά μόρια διαλυμένα σε λίπος ή έλαια μπορούν επίσης να γίνουν αντιληπτά, λόγω της γαλακτοματοποιητικής δράσης του σάλιου, με τη διαμεσολάβηση της γλωσσικής λιπάσης.

Άτομα που χαρακτηρίζονται ως supertasters ως προς την ευαισθησία τους στην PROP (6-n-προπυλ-θειουρακίλη) έχουν σχετιστεί με υψηλότερα επίπεδα σιαλικών πεπτιδίων ps-1 και il-2 (που ανήκουν στην πεπτιδική οικογένεια των πρωτεϊνών πλουσίων σε προλίνη, bPRP). Χορήγηση ps-1 per os βελτιώνει την ευαισθησία στην PROP (Cabras et al., 2012). Τα δεδομένα αυτά συμφωνούν με το ρόλο των πεπτιδίων bPRP ως τροποποιητές της γεύσης και της στυφότητας (Bennick, 2002), (Soares et al., 2011).

3.3 Ο ρόλος της καρβονικής ανυδράσης VI

Η καρβονική ανυδράση VI θεωρείται παράγοντας που προωθεί την αύξηση κι ανάπτυξη των γευστικών καλύκων. Η συγκέντρωση της, το ποσοστό σιαλικών οξέων των αλυσίδων της κι ενδεχομένως οι ισομορφές αυτής έχει συσχετιστεί με μείωση της αίσθησης της γεύσης (Henkin, Martin, & Agarwal, 1999).

Επί χορηγήσεως ψευδαργύρου σε ασθενείς με παθολογικές αλλαγές στους κάλυκες και σύνοδη χαμηλή συγκέντρωση καρβονικής ανυδράσης VI και ψευδαργύρου παρατηρήθηκε βελτίωση της λειτουργίας της γεύσης, αύξηση της συγκέντρωσης καρβονικής ανυδράσης VI του σάλιου κι επαναφορά της φυσιολογικής μορφολογίας των μυκητοειδών θηλών, με την προϋπόθεση ότι οι ασθενείς αυτοί φέρουν γονότυπο καρβονικής ανυδράσης VI AA ή AG (Henkin et al., 1999). Είναι σημαντικό, ωστόσο, να σημειωθεί ότι δεν παρατηρήθηκε βελτίωση σε όλους τους ασθενείς, καθώς επίσης ότι δεν πραγματοποιήθηκε γονοτύπηση ως προς το γονίδιο της καρβονικής ανυδράσης. Όπως εξηγείται παρακάτω, ενδεχομένως η απουσία απόκρισης

ορισμένων ασθενών στη θεραπεία με ψευδάργυρο να οφείλεται στο αλληλόμορφο Ser90Gly, που πιθανώς να οδηγεί σε πρωτεΐνη με διαταραγμένη θέση δέσμευσης του ιόντος.

Η ερευνητική ομάδα της Padiglia (Padiglia A et al 2010) μελέτησε δείγμα 75 ατόμων, προσδιορίζοντας την ικανότητα ανίχνευσης PROP, μετρώντας τη συγκέντρωση ψευδαργύρου στο σάλιο (το οποίο συλλέχθηκε χωρίς διέγερση) και πραγματοποιώντας γονοτύπηση για τον προσδιορισμό των αλληλόμορφων του γονιδίου της καρβονικής ανυδράσης VI για το SNP rs2274333. Επιπλέον, μελέτησε την επίδραση του πολυμορφισμού στη δευτεροταγή δομή της. Τα αποτελέσματα έδειξαν μειωμένη συγκέντρωση ψευδαργύρου στο σάλιο των supertasters, στους οποίους το αλληλόμορφο A (Ser στη θέση 90) απαντούσε σε συχνότητα 67,9%. Σε αντίθεση, οι nontasters είχαν αυξημένη συγκέντρωση ψευδαργύρου, συγκριτικά με τους supertasters. Έχει προταθεί ότι η θέση δέσμευσης του ιόντος πραγματοποιείται από 3 ιστιδίνες, οι δυο από τις οποίες κωδικοποιούνται από το εξόνιο 3. Ο πολυμορφισμός στη θέση 90 που αφορά στο τρίτο εξόνιο, κατά την αντικατάσταση μιας σερίνης από γλυκίνη, δημιουργεί μια β-πτυχωτή διαμόρφωση αμέσως μετά τη θέση 90, διαταράσσοντας την αμινοξική περιοχή 83-97. Αυτή η αλλαγή στη δευτεροταγή δομή, σύμφωνα με την ερευνητική ομάδα, ίσως μειώνει το βαθμό δέσμευσης του ψευδαργύρου από την καρβονική ανυδράση VI, δικαιολογώντας την υψηλότερη συγκέντρωση του ιόντος στο σάλιο. Αν και δεν απάντα στο ερώτημα των υψηλότερων κατωφλικών επιπέδων ανίχνευσης PROP από τους nontasters που είναι ομόζυγοι για το A αλληλόμορφο της καρβ. ανυδράσης VI, εντούτοις οι παρατηρήσεις της ομάδας ίσως ερμηνεύουν την αδυναμία βελτίωσης της γεύσης ορισμένων ασθενών της ομάδας του Henkin (1999), οι οποίοι δεν αποκρίθηκαν στη θεραπευτική χορήγηση ψευδαργύρου. Επίσης, η ομάδα της Padiglia δεν προέβη σε καταμέτρηση μυκητοειδών θηλών, ώστε να βγει πιθανώς κάποια συσχέτιση με τη συχνότητα των αλληλόμορφων του γονιδίου της καρβ. ανυδράσης.

Η ομάδα Melis et al (2013a), ακολουθώντας τη διαδρομή αυτή, προχώρησε επιπλέον σε καταμέτρηση των μυκητοειδών θηλών στο πρόσθιο μέρος της γλώσσας καθώς και σε καλλιέργειες κυτταρικών σειρών από γλωσσικό επιθήλιο αίγας (ZZ-R 127 κυττ. σειρά). Πραγματοποιήθηκαν δυο ξεχωριστές πειραματικές διαδικασίες. Κατά την πρώτη, προστέθηκε σάλιο είτε από άτομο με γονότυπο AA για την καρβονική ανυδράση είτε από άτομο ομόζυγο για το αλληλόμορφο G (Ser90Gly) στις καλλιέργειες, ενώ σε μια τρίτη (καλλιέργεια ελέγχου) δεν προστέθηκε σάλιο. Κατά τη δεύτερη, αφού απομονώθηκε η καρβονική ανυδράση από ομόζυγο AA και ομόζυγο GG, προστέθηκαν σε 2 ξεχωριστές καλλιέργειες, μαζί με ψευδάργυρο, σε μια τρίτη (καλλιέργεια ελέγχου) προστέθηκε μόνο μέσο (Dulbecco's Modified Eagle Medium + Fetal

Calf Serum), ενώ σε μια τέταρτη προστέθηκε μέσο και ψευδάργυρος. Βρέθηκε ότι σε άτομα ομόζυγα ως προς το αλληλόμορφο G το κατώφλι ανίχνευσης PROP είναι υψηλότερο ως και 10 φορές. Στα άτομα αυτά η πυκνότητα των μυκητοειδών θηλών ήταν μικρότερη. Η διάμετρος των θηλών δε βρέθηκε να σχετίζεται με τον γονότυπο για τον υποδοχέα TAS2R38. Το γονίδιο G βρέθηκε να σχετίζεται με μεγαλύτερη διακύμανση στο σχήμα των θηλών, μικρότερη διάμετρο και υψηλότερο ποσοστό αλλοιωμένου σχήματος. Ωστόσο, η ερευνητική ομάδα ισχυρίζεται ότι η καρβονική ανυδράση μπορεί να προβλέψει μόνο μικρό ποσοστό της διακύμανσης στο μέγεθος και το σχήμα των μυκητοειδών θηλών. Σε ό,τι αφορά στην ιδιότητα της καρβονικής ανυδράσης ως τροφικός παράγοντας, οι καλλιέργειες με την υψηλότερη μεταβολική δραστηριότητα φάνηκαν να είναι εκείνες στις οποίες είχε προστεθεί είτε σάλιο από ομόζυγο προς το αλληλόμορφο A άτομο είτε καθαρή καρβ. ανυδράση από AA ομόζυγο. Σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες, κατέληξαν κι εδώ ότι το αλληλόμορφο A συναντάται πιο συχνά σε άτομα που φέρουν το αλληλόμορφο PAV για τον υποδοχέα TAS2R38. Στο συμπέρασμα αυτό κατέληξε κι η ομάδα Caló et al (2011), παρατηρώντας, σε δείγμα αντίστοιχου μεγέθους, ότι οι supertasters έφεραν συχνότερα το αλληλόμορφο PAV κι ήταν ομόζυγοι ως προς το αλληλόμορφο A της καρβονικής ανυδράσης. Αν και υπέθεσαν ότι η αυξημένη γευστική αντίληψη (ως προς την PROP) ίσως να οφείλεται σε αυξημένη συγκέντρωση γευστικών καλύκων, εντούτοις δεν προέβησαν σε καταμέτρηση μυκητοειδών θηλών ή σε αξιολόγηση διαμέτρου και σχήματος αυτών, ώστε να προκύψει κάποια ισχυρότερη ένδειξη αλληλεπίδρασης καρβ. ανυδράσης- θηλών.

Στον αντίποδα, οι Feeney & Hayes (2014), μελετώντας μεγαλύτερο δείγμα (243 ατόμων) και πραγματοποιώντας καταμέτρηση μυκητοειδών θηλών στο πρόσθιο μέρος της γλώσσας και γονοτύπηση για 12 διαφορετικά SNPs της καρβ. ανυδράσης VI (καθώς και για το SNP της θέσης 49 του TAS2R38), δε βρήκαν κάποια συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού της θέσης 90 της ανυδράσης με τον γονότυπο PROP. Παράλληλα, δε βρήκαν κάποια συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των θηλών με οποιοδήποτε από τα 12 διαφορετικά SNPs που μελετήθηκαν. Σε συμφωνία με τη συγκεκριμένη ερευνητική ομάδα βρίσκεται και η μελέτη Bae et al (2012), κατά την οποία δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της ευαισθησίας προς το PTC με το γονότυπο της καρβονικής ανυδράσης. Τέλος, μεταξύ knock-out ποντικών και άγριου τύπου για το γονίδιο της καρβονικής ανυδράσης η ερευνητική ομάδα Patrikainen et al δε βρήκε μορφολογικές διαφορές μεταξύ περιχαρακωμένων, μυκητοειδών και φυλλοειδών θηλών, ενώ στατιστικά σημαντική διαφορά βρέθηκε μόνο για την πικρή γεύση, με την ομάδα των knock-out ποντικών να δείχνουν μεγαλύτερη προτίμηση σε πικρό διάλυμα κινίνης (Patrikainen et al 2014).

Επειδή κατά την πειραματική μελέτη που θα περιγραφηθεί παρακάτω πραγματοποιήθηκε απομόνωση και προσδιορισμός του γονιδίου της καρβονικής ανυδράσης VI, κρίνεται σκόπιμη μια σύντομη αναφορά στη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης.

3.4 Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) αποτελεί μέθοδο κλωνοποίησης που αποσκοπεί στον ενζυμικό πολλαπλασιασμό ενός προς μελέτη τμήματος γενετικού υλικού. Η κλασική μορφή της PCR μπορούσε να απαντήσει μόνο σε ερωτήσεις κλειστού τύπου, όπως π.χ. αν υπάρχει ή όχι κάποιο είδος μετάλλαξης. Με την ποσοτική PCR, ωστόσο, δύναται η παραγωγή ικανοποιητικής ποσότητας γενετικού υλικού, δίνοντας έτσι απαντήσεις σε ποσοτικά ζητήματα (Παπανικολάου και συνεργάτες, 2015)

Σε γενικές γραμμές η PCR χαρακτηρίζεται από μεγάλη ευαισθησία, χαμηλό κόστος, δε χρειάζεται μεγάλη ποσότητα αρχικού δείγματος σε σχέση με άλλες μεθόδους ανάλυσης νουκλεϊκών οξέων (Thomson & Thomson, 2011).

Διακρίνονται 3 φάσεις στη PCR: η εκθετική φάση, που χαρακτηρίζεται από επάρκεια αντιδραστηρίων και διπλασιασμό, ανά κύκλο, του τμήματος γενετικού υλικού που μας ενδιαφέρει, η γραμμική φάση, κατά την οποία η ταχύτητα παραγωγής αντιγράφων μειώνεται και η φάση πλατώ, κατά την οποία έχει εξαντληθεί ένα, τουλάχιστον, από τα αντιδραστήρια, με αποτέλεσμα η σύνθεση να σταματά.

Τα βασικά συστατικά για τη διενέργεια της αντίδρασης PCR είναι:

- Γενετικό υλικό που περιέχει την αλληλουχία-στόχος. Η απομόνωση DNA πραγματοποιείται εύκολα με τη χρήση συστημάτων αντιδραστηρίων (κιτ). Η αρχή λειτουργίας τους στηρίζεται στην επιλεκτική και μη μόνιμη πρόσδεση των μορίων DNA επί μεμβράνης γέλης πυριτίου. Τα κιτ απομόνωσης χαρακτηρίζονται από ευκολία και ταχύτητα χρήσης, επιτρέπουν τον ταυτόχρονο χειρισμό πολλών δειγμάτων, η ποιότητα του απομονωμένου DNA είναι υψηλής ποιότητας, δε

χρησιμοποιούνται επικίνδυνες χημικές ουσίες και, τέλος, τα αποτελέσματα διακρίνονται από επαναληψιμότητα.

- DNA πολυμεράση : αντιγράφει ένα υπάρχον μόριο DNA που χρησιμοποιείται ως εκμαγείο. Η DNA πολυμεράση απομονώνεται από το βακτήριο *Thermus aquaticus* (Taq) και μπορεί να διατηρεί τη δραστηριότητά της σε υψηλές θερμοκρασίες.
- Εκκινητές (Primers): είναι ολιγονουκλεοτίδια, συνήθως μεγέθους 18-60 νουκλεοτιδίων, που οριοθετούν το προς πολλαπλασιασμό τμήμα DNA
- Ρυθμιστικό διάλυμα της αντίδρασης και Mg^{2+} , τα οποία αποτελούν απαραίτητο συμπράγοντα της DNA πολυμεράσης
- Νουκλεοτίδια (dNTPs), προκειμένου να συντεθούν νέες αλυσίδες DNA

Περίληπτικά, τα στάδια της PCR έχουν ως εξής: 1. Θερμική αποδιάταξη των δύο αλυσιδών του DNA, 2. Υβριδισμός των κατάλληλα σχεδιασμένων εκκινητών ολιγονουκλεοτιδικής φύσης στις συμπληρωματικές τους αλληλουχίες στο εκμαγείο DNA, 3. Ενζυμική επιμήκυνση των εκκινητών που οδηγεί στη σύνθεση της νέας αλυσίδας, 4. Επανάληψη των σταδίων αυτών από 25 έως 35 φορές (Παπανικολάου και συνεργάτες, 2015).

Β' ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Μελέτη μυκητοειδών θηλών και τεχνικές προσέγγισης

Τις τελευταίες 3 δεκαετίες έχουν γίνει αρκετές έρευνες πάνω στην καταμέτρηση των μυκητοειδών θηλών, σε μια προσπάθεια συσχέτισης του αριθμού των θηλών αυτών με τη γευστική ευαισθησία. Κάποιοι ερευνητές προσπάθησαν να χρησιμοποιήσουν πιο απλές προσεγγίσεις, και συγκεκριμένα την ιδιότητα αντίληψης του PTC φάνηκε ότι η συγκεκριμένη φαινοτυπική έκφραση δεν ήταν αρκετή για να ερμηνεύσει τη διαφορετικότητα στη γευστική ευαισθησία προς το γλυκό. Το πρόβλημα με την καταμέτρηση των θηλών σχετίζεται με ένα πλήθος παραμέτρων που προέκυψαν από την απουσία εφαρμογής ενός ενιαίου πρωτοκόλλου. Ένα τέτοιο πρωτόκολλο θα έδινε σαφείς οδηγίες α. για την προέλευση του δείγματος (είδος και κατάσταση οργανισμού), β. το είδος της χρωστικής, γ. το σημείο της γλώσσας που θα παρατηρηθεί δ. τη μέθοδο παρατήρησης, ε. τα χαρακτηριστικά της παρατηρηθείσας θηλής.

Οι πρώτες οδηγίες για την ταυτοποίηση μιας μυκητοειδούς θηλής διατυπώθηκαν από τους Miller & Reedy (Miller & Reedy, 1990) και την ομάδα του Negoro (Negoro, Umemoto, Fukazawa, Terada, & Sakagami, 2004). Μια θηλή για να χαρακτηριστεί ως μυκητοειδής θα πρέπει, σε ό,τι αφορά το μέγεθος της, να έχει διάμετρο 0.5mm-0.97mm (Miller, Reedy 1990) ή η διάμετρος της προς μια κατεύθυνση να είναι 2 τυπικές αποκλίσεις πιο μεγάλη από την κάθετη διάμετρο, τουλάχιστον σε περιπτώσεις παραμορφωμένων μυκητοειδών θηλών (Melis et al., 2013b). Οι συγκεκριμένες όμως προϋποθέσεις δεν καλύπτουν την παράμετρο που αφορά στο ύψος μιας θηλής ή τη μεθοδολογία παρατήρησης ή χρώσης.

Οι χρωστικές που έχουν χρησιμοποιηθεί από διάφορες πειραματικές ομάδες είναι το Ponceau Red S, το Alcian Blue, το κυανό του μεθυλενίου, ο συνδυασμός ιοσίνης/ αιματοξυλίνης και το Brilliant Blue ή E133. Οι πιο διαδεδομένες χρωστικές μυκητοειδών θηλών είναι η Methylene Blue (Segovia et al., 2002), (Miller et al., 2002), (Pavlidis et al., 2014), (Konstantinidis, Chatziavramidis, Printza, Metaxas, & Constantinidis, 2010), (Duffy & Bartoshuk, 2000), (Pavlos Pavlidis et al., 2013) κι η Brilliant Blue (Zhang et al., 2009), (Shahbake et al., 2005), (Essick et al., 2003), (Correa, Hutchinson, Laing, & Jinks, 2013), (Barbarossa et al., 2015), (Fischer et al., 2013). Για το κυανό του μεθυλενίου έχουν αναφερθεί παρενέργειες όπως πονοκέφαλος, εμετός, σύγχυση, υψηλή αρτηριακή πίεση και ταχύπνοια.

2.1.1 Brilliant Blue $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$

Η Brilliant Blue (FCF, E133) είναι υδατοδιαλυτή κι ελαφρώς διαλυτή στην αιθανόλη. αποτελεί εγκεκριμένο πρόσθετο τροφίμων από τον FDA και την EFSA. Γενικά περιγράφεται ως άλας νατρίου αλλά επιτρέπονται και τα άλατα του με ασβέστιου ή κάλιο (EFSA, 2010).

Απορροφάται ελάχιστα μέσω του ΓΕΣ και αποβάλλεται κυρίως μέσω κοπράνων. 5% απορροφάται κι εν συνεχεία αποβάλλεται μέσω της χολής ή των ούρων. Δε θεωρείται μεταλλαξιογόνο. Μελέτες σε ανθρώπους έδειξαν ότι η διαπερατότητα του ΓΕΣ στη συγκεκριμένη χρωστική αυξάνει μόνο σε περιπτώσεις σοβαρά ασθενών, προκαλώντας μη αντιστρεπτή καταπληξία και μεταβολική οξέωση. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις μόνο σε περιπτώσεις προϋπάρχοντος άσθματος. Κατά την εφαρμογή σε γλώσσα, λιγότερο από 0.1% της χρωστικής απορροφάται από το γλωσσικό επιθήλιο (Maloney et al., 2002), (Gaur, Sorg, & Shukla, 2003). Η EFSA ορίζει ως μέγιστα επιτρεπόμενα όρια της χρωστικής τα 20-500mg/Kg τροφίμου και ως 200mg/L αναψυκτικών και ποτών (οδηγία Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και Συμβουλίου 94/36/EC. Επιτρεπόμενη ημερήσια πρόσληψη : 10mg/Kg σωματικού βάρους/μέρα, Scientific Committee on Food 1984). Έτσι, ακόμα κι αν χρησιμοποιηθεί η μέγιστη επιτρεπόμενη δόση, η ποσότητα που απορροφάται (πχ από ζαχαρωτά όπως γλειφιτζούρια) είναι τουλάχιστον 3500 κάτω από το ADI που έχει ορίσει η EFSA (Codrea, 2013).

2.1.2 Θέση μελέτης της γλώσσας

Η συντριπτική πλειοψηφία των ερευνών συμφωνούν ως προς τη μελέτη της άκρης της γλώσσας, καθώς φαίνεται να είναι η πιο πλούσια περιοχή σε μυκητοειδείς θηλές. Η πιο κοινή και πρακτική μέθοδος προετοιμασίας καταμέτρησης είναι η χρώση της άκρης της γλώσσας κι εν συνεχεία η τοποθέτηση αυτοκόλλητης ροδέλας διαμέτρου 0,6-1cm, είτε στην κορυφή της γλώσσας αριστερά της μέσης γραμμής είτε εφαρμογή χάρτου γνωστού μήκους σε σημείο επί της γλώσσας ορατό κατά τις φωτογραφικές λήψεις. Η χρήση και των δυο εξασφαλίζει την αναγκαία κλίμακα ώστε να πραγματοποιηθεί με ακρίβεια η καταμέτρηση διαμέτρων των θηλών ή ο υπολογισμός συγκεκριμένης επιφάνειας με θηλές. Κάποιοι ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει ατομικές μέγγκες, οι οποίες εξασφαλίζουν τη μέγιστη δυνατή ακινητοποίηση της γλώσσας κατά τις απεικονιστικές λήψεις (Fischer et al., 2013) (Duffy & Bartoshuk, 2000). Το μειονέκτημα αυτής

της τεχνικής είναι ότι, λόγω της ασκούμενης πίεσης, το σχήμα ή ακόμα κι η διάμετρος μιας θηλής θα εμφανιστούν αλλοιωμένα. Η ερευνητική ομάδα Shahbake (Shahbake et al., 2005) ανέλυσε την πυκνότητα των μυκητοειδών θηλών σε όλη την πρόσθια γλώσσα, χωρίζοντας την αριστερή μεριά σε 3 ζώνες του 0,5cm πλάτους κι εν συνεχεία κάθε ζώνη χωρίστηκε κάθετα σε 2 τμήματα, δίνοντας συνολικά 12 μικρότερες περιοχές. Κατέληξε σε δυο σημαντικά συμπεράσματα: α. οι θέσεις 1 και 5 (αριθμώντας από την κατώτατη σειρά προς τα πάνω κι από αριστερά προς δεξιά) αποτελούν τις θέσεις με τη μεγαλύτερη πυκνότητα θηλών, β. παρουσιάζουν υψηλή συσχέτιση με το συνολικό αριθμό μυκητοειδών θηλών στην πρόσθια γλώσσα και γ. η χρήση ροδέλας στις περιοχές αυτές μπορούν να αποδώσουν με μεγάλη ακρίβεια τον αριθμό των θηλών, χωρίς να χρειαστεί η διαδικασία της υποδιαίρεσης όλης της πρόσθιας γλώσσας. Σε συμφωνία η ομάδα Correa (Correa et al., 2013) πρόσθεσε ότι η τοποθέτηση ροδέλας στις θέσεις 1 και 5 μπορεί να δώσει παρόμοια αποτελέσματα αλλά μικρότερης συσχέτισης.

Σε γενικές γραμμές είναι δύσκολο να εκτιμηθούν συνολικά τα αποτελέσματα καταμέτρησης μυκητοειδών θηλών των διαφόρων επιστημονικών ομάδων διότι α. οι επιλεγμένες περιοχές και/ή εκτάσεις της γλώσσας δεν αντιστοιχούν πλήρως μεταξύ των ερευνητών, β. οι παραδοχές αξιολόγησης μιας θηλής ως μυκητοειδής δεν είναι σε απόλυτη συμφωνία μεταξύ των ομάδων, γ. σε αρκετές περιπτώσεις κατά τη δημοσίευση δεν αναφέρονται αριθμητικές τιμές θηλών παρά μόνο τα αποτελέσματα των συσχετίσεων, δ. οι τεχνικές παρατήρησης με χρώση υπερεκτιμούν κατά το 5πλάσιο τον αριθμό των μυκητοειδών θηλών χωρίς κάλυκες, σε αντίθεση με τις καταμετρήσεις μέσω βιντεομικροσκοπίας (Cheng & Robinson, 1991), (Miller & Reedy, 1990), (Miller & Reedy, 1990).

Η πρώτη απόπειρα δημιουργίας ενιαίου πρωτοκόλλου αξιολόγησης και χαρακτηρισμού των μυκητοειδών θηλών, που να μην περιέχει ως βασικό κριτήριο μόνο το σχήμα ή το χρωματισμό μιας θηλής (όπως τα κριτήρια του Negro) έγινε με το πρωτόκολλο Denver (Nuessle, Garneau, Sloan, & Santorico, 2015), σύμφωνα με το οποίο μια θηλή χαρακτηρίζεται ως μυκητοειδής όταν πληροί τα παρακάτω κριτήρια: α. έχει ευδιάκριτο σχήμα (σφαιρικό, κυβοειδές ή ωοειδές), β. είναι πιο αποχρωματισμένη από την υπόλοιπη περιοχή (ο βαθμός χρωματισμού εξαρτάται από την εκάστοτε εξεταζόμενη γλώσσα), γ. έχει διάμετρο $\geq 0.05\text{mm}$ και δ. το ύψος της δεν είναι σημαντικά χαμηλότερο από το ύψος των περιβαλλόντων θηλών.

2.1.3 Κριτήρια αποκλεισμού εθελοντών σε μελέτες καταμέτρησης των γευστικών θηλών

Παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν το μέγεθος ή τον αριθμό των θηλών, καθώς και της γευστικής ευαισθησίας αποτελούν λόγους αποκλεισμού ενός εθελοντή από μια έρευνα. Οι πιο σημαντικοί λόγοι αποκλεισμού είναι το κάπνισμα, η χρήση αντιϋπερτασικών φαρμάκων όπως καπτοπρόλη και ραμιμπρίλη, επεμβάσεις στο αυτί, μέση ωτίτιδα, νευρολογικές διαταραχές όπως παράλυση του προσώπου, σακχαρώδης διαβήτης, διαταραχές που επηρεάζουν τη γεύση, μολύνσεις μέσου ωτός, γρίπη, χρόνια ρινίτιδα, στοματικά προβλήματα όπως πρόσφατες εξαγωγές, φάρμακα που αλλοιώνουν τη γεύση, συστηματική χρήση ναρκωτικών ουσιών, τραυματισμός της χορδής του τυμπάνου, ΔΜΣ εκτός φυσιολογικών τιμών κατά το τελευταίο τρίμηνο πριν από την παρατήρηση, καθώς και άτομα που σημείωσαν υψηλά σκορ σε κλίμακες διατροφικής συμπεριφοράς ή που δεν εντόπισαν κατωφλικές τιμές συγκεντρώσεων στις 4 από τις 5 βασικές γεύσεις. Σε γενικές γραμμές, όλες οι μελέτες έχουν ακολουθήσει την πλειοψηφία των παραπάνω κριτηρίων αποκλεισμού.

2.2 Μεθοδολογία πειραματικής μελέτης

2.2.1 Επιλογή δοκιμαστών

Αναζητήθηκαν γυναίκες Ελληνικής καταγωγής, 18-33 ετών, με δείκτη μάζας σώματος <30, μη καπνίζουσες, οι οποίες δεν φέρουν ψυχική ή άλλη συστηματική νόσο, δεν λαμβάνουν κάποια συστηματική φαρμακευτική αγωγή (εκτός από αντισυλληπτικά χάπια), δεν καταναλώνουν συστηματικά αλκοόλ και τέλος δε βρίσκονται σε εγκυμοσύνη ή γαλουχία. Οι εθελόντριες χωρίστηκαν σε ομάδες των 10 ατόμων για την καλύτερη διεξαγωγή του πειράματος. Όλες οι εθελόντριες, 40 στον αριθμό, έδωσαν έγγραφη κι ενυπόγραφη συγκατάθεση συμμετοχής στη μελέτη.

2.2.2 Εκπαίδευση δοκιμαστών

Οι απαραίτητες προϋποθέσεις για την ομαλή και χωρίς σφάλματα διεξαγωγή των δοκιμών δόθηκαν σε μορφή έντυπων οδηγιών καθώς και σε δεκάλεπτη διάλεξη πριν την έναρξη των δοκιμασιών. Αφορούσαν στις ορθές πρακτικές που θα έπρεπε να ακολουθηθούν από την προηγούμενη κιόλας της ημέρας των δοκιμασιών.

2.2.3 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις ύψους, βάρους και αρτηριακής πίεσης, ενώ ακολούθησε υπολογισμός του δείκτη μάζας σώματος για κάθε εθελόντρια.

2.2.4 Γευστικές δοκιμασίες σουκρόζης

Πραγματοποιήθηκαν οργανοληπτικές δοκιμασίες υδατικών διαλυμάτων σουκρόζης (δοκιμή τριών εναλλακτικών υποχρεωτικών επιλογών) καθώς και δοκιμές επίγευσης και έντονης γεύσης.



Εικόνα 9. Στήσιμο πάγκου για τις γευστικές δοκιμασίες

2.2.5 Ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης γλυκών τροφίμων (SWEET FOOD FFQ)

Το ερωτηματολόγιο συντάχθηκε με σκοπό την καταγραφή της κατανάλωσης γλυκών τροφίμων τον τελευταίο μήνα πριν τις δοκιμές. Τα τρόφιμα που επιλέχθηκαν για το ερωτηματολόγιο ήταν κυρίως γλυκά και τρόφιμα των οποίων η σύσταση μπορεί να προκαλέσει εν μέρη ή εξ ολοκλήρου γλυκιά απόκριση γεύσης. Εκτός από το ερωτηματολόγιο κατανάλωσης γλυκών τροφίμων συμπεριλήφθηκαν ερωτήσεις σχετικές με την γενική συμπεριφορά που έχει το άτομο απέναντι στα γλυκά τρόφιμα, στην προτίμησή τους σχετικά με τα αλμυρά ή άλλης γεύσης τρόφιμα αλλά και στην ποσότητα της ζάχαρης που χρησιμοποιείται.

Άλλα ερωτηματολόγια που συμπληρώθηκαν ήταν ανακλήσεις 24ώρου και δύο ψυχομετρικά έγγραφα (ερωτηματολόγια STAI και ZDRS.)

2.2.6 Λήψη φωτογραφιών, αξιολόγηση και καταμέτρηση μυκητοειδών θηλών

Η μεθοδολογία λήψης φωτογραφιών και καταμέτρησης μυκητοειδών θηλών βασίστηκε στο πρωτόκολλο Denver της ερευνητικής ομάδας της Tiffany M. Nuessle (*Nuessle et al 2015*). Σε κάθε εθελόντρια ξεχωριστά δόθηκαν σαφείς οδηγίες για τη διαδικασία προετοιμασίας, λήψης καθώς και για την ασφάλεια των υλικών που θα χρησιμοποιηθούν.



Εικόνα 10. Λήψη φωτογραφιών γλώσσας

Μετά από εκούσια κατάποση σάλιου, ζητήθηκε από την εκάστοτε εθελόντρια να προβάλει τη γλώσσα της τόσο ώστε να μη νιώθει δυσφορία. Η γλώσσα σκουπίστηκε με διηθητικό χαρτί κι εν συνεχεία, με τη χρήση μπατονέτας, εφαρμόστηκε χρωστική ζαχαροπλαστικής E133 (Vahine, France) στην κορυφή της αριστερής πλευράς της γλώσσας για 3''. Μετά τον καθορισμένο χρόνο η εθελόντρια κατάπιε ξανά, η γλώσσα σκουπίστηκε εκ νέου ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια χρωστικής καθώς και το παραχθέν σάλιο. Επί της βαμμένης περιοχής τοποθετήθηκε αυτοκόλλητη διάτρητη ροδέλα διαμέτρου 0.6cm, έτσι ώστε η εξωτερική περιφέρεια της ροδέλας να εφαρμόζει οριακά στο άκρο της γλώσσας κι η εσωτερική περιφέρεια που αντιστοιχεί στην περίμετρο της οπής να εφαρμόζει στη μέση γραμμή της γλώσσας. Κατά τη διάρκεια της φωτογράφισης η εκάστοτε εθελόντρια ασκούσε ελαφρά πίεση στη γλώσσα με τα δόντια ώστε να την ακινητοποιήσει κατά το μέγιστο δυνατόν. Πραγματοποιήθηκαν 10 λήψεις για κάθε εθελόντρια με τη χρήση ψηφιακής φωτογραφικής μηχανής και φακό Macro επί τρίποδα, για μεγαλύτερη σταθερότητα κατά τις λήψεις. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε εκ νέου κατά τη δεύτερη επίσκεψη των εθελοντριών. Στο τέλος επιλέχθηκε για κάθε εθελόντρια η φωτογραφία με την υψηλότερη ευκρίνεια. Η καταμέτρηση των θηλών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού ImageJ και του κατάλληλου plugin (cell_counter.jar). Τα κριτήρια αποδοχής μιας θηλής ως μυκητοειδή αφορούσαν, σύμφωνα με το πρωτόκολλο Denver, αφορούν στο σχήμα μιας θηλής (σφαιρικό, ωοειδές ή κυλινδρικό), το χρώμα (ροζ ή ελαφρώς κυανό), το μέγεθος ($\geq 0,05\text{mm}$) και το ύψος αυτής (θηλές με χαμηλότερο ύψος από τις περιβάλλουσες δε γινόταν αποδεκτή). Η διαδικασία αξιολόγησης και καταμέτρησης στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε από δεύτερο άτομο, το οποίο είχε εκπαιδευθεί από τον πρώτο καταμετρητή κι είχε αξιολογήσει δοκιμαστικά 10 φωτογραφίες ατόμων εκτός ομάδας εθελοντών.



Εικόνα 11. Φωτογραφική απεικόνιση γλώσσας με χρώση E133. Οι περιοχές που δε βάφτηκαν έντονα από την E133 είναι μυκητοειδείς θηλές.

2.2.7 Ανάλυση DNA

Πραγματοποιήθηκε απομόνωση DNA από επιθηλιακά κύτταρα παρειάς με τη χρήση εμπορικού κιτ (Isohelix) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Τα δείγματα συλλέχθηκαν και τοποθετήθηκαν σε πάγο όπου και συντηρήθηκαν μέχρι την επεξεργασία τους στο εργαστήριο. Ακολούθησε μέτρηση της συγκέντρωσης και αξιολόγηση της καθαρότητας και της ποιότητας των απομονωθέντος νουκλεϊκού οξέος με τη χρήση φασματοφωτομέτρου. Η γονοτύπηση των εθελοντριών για τον πολυμορφισμό rs2274333 του γονιδίου της καρβονικής ανυδράσης VI (CA6) πραγματοποιήθηκε ακολούθως με τη μεθοδολογία της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Real Time-PCR) με τη χρήση τεχνολογίας Taqman.

2.3 Στατιστική ανάλυση- Αποτελέσματα

2.3.1 Γονοτύπηση

Μετά τη γονοτύπηση για τον πολυμορφισμό rs2274333, προέκυψε ότι 21 άτομα (52,5%) ήταν ομόζυγα για το αλληλόμορφο A (AA), 18 (45%) ετερόζυγα (AG) και ένα άτομο ομόζυγο για το αλληλόμορφο G (GG). Ο έλεγχος χ^2 έδειξε ότι οι παρατηρηθείσες τιμές είναι σε συμφωνία με την ισορροπία Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 1,6$, $p\text{-value}=0,2$). Οι συχνότητες των αλληλομόρφων των ομόζυγων AA είναι συγκρίσιμη με τους αντίστοιχους των πληθυσμών της Ευρώπης (52,5%), Κεντρικής Ευρώπης (50,5 %), της Τοσκάνης (Ιταλία) (50,5%).

2.3.2 Τιμές BET

Η ανάλυση και ο υπολογισμός των καλύτερα εκτιμώμενων κατωφλίων (BET's: Best Estimated Thresholds) πραγματοποιήθηκε από εξειδικευμένο προσωπικό του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου βάσει των αποτελεσμάτων της πειραματικής διαδικασίας 3-AFC. Οι τιμές επεξεργάστηκαν στο στατιστικό πρόγραμμα SPSS μαζί με τις υπόλοιπες μεταβλητές και εν συνεχεία μελετήθηκε η πιθανή ύπαρξη σχέσης μεταξύ τους.

Από την επεξεργασία απομακρύνθηκαν οι ακραίες τιμές 6 συνολικά εθελοντριών, αφού υπολογίστηκαν τα z-scores των μέσων τιμών των μέσων BET καθώς και των μέσων τιμών των

γεωμετρικών BET. Οι αποκλεισθείσες εθελόντριες αντιστοιχούν σε εκείνες με τιμές z-scores μεγαλύτερες από 3 και μικρότερες από -3.

Η μέση τιμή των μέσων BET (Best Estimated Threshold) και των γεωμετρικών μέσων BET (BET average mean, geometrical mean BET mean) βρέθηκε 2,42 και 2,039 αντίστοιχα. Τέλος, πραγματοποιήθηκε έλεγχος κανονικής κατανομής Kolmogorov-Smirnov για τις μεταβλητές «μέση τιμή των μέσων BET» και «μέση τιμή γεωμετρικών μέσων BET». Ο έλεγχος έδειξε ότι κι οι δυο μεταβλητές ακολουθούν την κανονική κατανομή, με αντίστοιχα p-values 0,689 και 0,092.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			
		BET μέσες τιμές	BET γεωμετρικοί μέσοι
N		34	34
Normal Parameters	Mean	2,4225477	2,0390817
	Std. Deviation	1,68220823	1,63724165
	Absolute	,122	,213
Most Extreme Differences	Positive	,122	,213
	Negative	-,085	-,119
Kolmogorov-Smirnov Z		,713	1,240
Asymp. Sig. (2-tailed)		,689	,092

Πίνακας 1. Μέσες τιμές και υπολογισμός κανονικότητας για τις μέσες τιμές BET και τις μέσες τιμές των γεωμετρικών μέσων BET

2.3.3 Αριθμός μυκητοειδών θηλών

Ο μέσος αριθμός θηλών του πρώτου καταμετρητή βρέθηκε $32,91/\text{cm}^2$ με μέσο όρο διαμέτρου θηλών $0,068\text{cm}$, ενώ οι αντίστοιχες τιμές του δεύτερου καταμετρητή ήταν $36,8/\text{cm}^2$ και $0,067\text{cm}$. Οι μέσες τιμές για την πυκνότητα και τις διαμέτρους, όπως προκύπτουν από τους μέσους όρους των τιμών των δύο καταμετρητών, ήταν $34,25/\text{cm}^2$ και $0,067\text{cm}$, αντίστοιχα. Ο έλεγχος κανονικότητας Kolmogorov-Smirnov έδειξε ότι κι οι δυο παράμετροι ακολουθούν την κανονική κατανομή, με αντίστοιχα p-values τις τιμές 0,920 και 0,342. Από τον έλεγχο κανονικότητας αποκλείστηκαν 2 εθελόντριες, για τις οποίες η μελέτη των φωτογραφιών των μυκητοειδών θηλών δεν έδωσε σαφή αποτελέσματα λόγω ομοιόμορφης χρώσης της γλώσσας.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			
		Μυκητ. Θηλές/cm ²	Διάμετρος μυκ. θηλών
N		38	38
Normal Parameters	Mean	34,25339	0,672632
	Std. Deviation	15,071917	,00885067
	Absolute	,090	,152
Most Extreme Differences	Positive	,090	,152
	Negative	-,063	-,086
Kolmogorov-Smirnov Z		,553	,938
Asymp. Sig. (2-tailed)		,920	,342

Πίνακας 2. Έλεγχος κανονικής κατανομής μυκητοειδών θηλών και διαμέτρων αυτών.

2.3.4 Έλεγχος γραμμικής συσχέτισης μεταξύ μεταβλητών κανονικής κατανομής

Για τον έλεγχο πιθανής συσχέτισης μεταξύ των συνεχών μεταβλητών (μέσος όρος αριθμών και μέσος όρος διαμέτρων θηλών, μέση τιμή των μέσων BET και μέση τιμή γεωμετρικών μέσων BET) υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης Pearson.

Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική γραμμική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών. Συγκεκριμένα, ο συντελεστής Pearson δεν έδωσε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση για τα ζεύγη μεταβλητών: μ.ο. αριθμού θηλών/cm² – μ.ο. γεωμ. μέσων BET (p-value 0,635), μ.ο. αριθμών θηλών/cm²-μ.ο. μέσων BET (p-value 0,493), μ.ο. αριθμών θηλών/cm²-μ.ο. διαμέτρων θηλών (p-value 0,083), μ.ο. διαμέτρων θηλών-μ.ο. γεωμ. μέσων BET (p-value 0,510) και μ.ο. διαμέτρων θηλών-μ.ο. μέσων BET (p-value 0,636).

2.3.5 Έλεγχος συσχέτισης μεταξύ γονότυπου της καρβονικής ανυδράσης VI και των υπολοίπων μεταβλητών

Διερευνήθηκε η πιθανή ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ του γονότυπου της καρβονικής ανυδράσης VI και των υπόλοιπων μεταβλητών. Για τον εν λόγω έλεγχο εφαρμόστηκε η δοκιμασία Kruskal-Wallis.

1. Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ γονότυπου και μ.ο. αριθμού θηλών/cm² (p-value: 0.982).
2. Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ γονότυπου και μ.ο. διαμέτρων θηλών (p-value: 0.3).
3. Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ γονότυπου και μ.ο. μέσων τιμών BET (p-value: 0.668).
4. Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ γονότυπου και μ.ο. γεωμετρικών μέσων BET (p-value: 0.888).

	M.O. θηλών/cm ²	M.O. διαμέτρων	M.O. μέσων BET	M.O. γεωμ. μέσων BET
Chi Square	0,037	2,411	0,806	0,239
df	2	2	2	2
Asymp. Sig.	0,982	0,300	0,668	0,888

Πίνακας 3. Έλεγχος Kruskal-Wallis (μεταβλητή ομαδοποίησης: γονότυπος, $\alpha=0,05$).

Ο έλεγχος γραμμικής παλινδρόμησης, με 3 ανεξάρτητες μεταβλητές (γονότυπος, αριθμός και διάμετρος θηλών) κι εξαρτημένη μεταβλητή τον γεωμετρικό μέσο BET δεν έδωσε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα (p-value=0.781). Ο έλεγχος γραμμικής παλινδρόμησης, με τις ίδιες 3 ανεξάρτητες μεταβλητές κι εξαρτημένη μεταβλητή τον μέσο BET επίσης δεν έδωσε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα (p-value=0.872).

Ο έλεγχος συσχέτισης (απλή γραμμ. παλινδρόμηση) μεταξύ μέσου BET και: α. γονότυπου: μη στατιστικά σημαντική (p-value=0,972), β. αριθμού θηλών/cm²: μη στατιστικά σημαντική (p-value=0,659), γ. διαμέτρου θηλών: μη στατιστικά σημαντική (0,636).

Ο έλεγχος συσχέτισης (απλή γραμμ. παλινδρόμηση) μεταξύ του γεωμετρικού μέσου BET και: α. γονότυπου: μη στατιστικά σημαντική ($p\text{-value}=0,784$), β. αριθμού θηλών/cm²: μη στατιστικά σημαντική ($p\text{-value}=0,547$), γ. διαμέτρου θηλών: μη στατιστικά σημαντική ($p\text{-value}=0,510$).

2.3.6 Σχολιασμός αποτελεσμάτων- Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε γονοτύπηση για την καρβονική ανυδράση για πρώτη φορά σε Ελληνικό πληθυσμό. Το δείγμα της μελέτης, αν και μικρό, δίνει μια σαφή εικόνα της χαμηλής συχνότητας εμφάνισης του αλληλόμορφου G για την καρβονική ανυδράση (rs2274333).

Η πρώτη σημαντική διαπίστωση από τα αποτελέσματα είναι ο αριθμός των μυκητοειδών θηλών. Στο δείγμα μας η μέση τιμή πυκνότητας μυκ. θηλών για την κορυφή της γλώσσας μετρήθηκε στις 34.25 θηλές/cm². Η συντριπτική πλειοψηφία των προηγούμενων σχετικών μελετών έχει καταλήξει σε πολύ υψηλότερες τιμές οι οποίες, αν και διαφέρουν μεταξύ τους, είναι τουλάχιστον διπλάσιες από τις αντίστοιχες της παρούσης έρευνας. Ο πιθανότερος λόγος για αυτή την υπερκαταγραφή είναι η επιλογή διαφορετικού αριθμού κριτηρίων αξιολόγησης μιας θηλής ως μυκητοειδής ή μη. Το βασικότερο κριτήριο σε κάθε μελέτη ήταν ο βαθμός χρωματισμού μιας θηλής. Ωστόσο, πολλές φορές παρατηρείται το φαινόμενο της χρώσης ολόκληρης της γλώσσας, συμπεριλαμβανομένων των μυκητοειδών θηλών, που φυσιολογικά αναμένονται να χρωματιστούν ελάχιστα ως καθόλου. Επίσης, υπάρχουν περιπτώσεις κατά τις οποίες η βαφή αδυνατεί να παραμείνει στην επιφάνεια της γλώσσας, με αποτέλεσμα το συγκεκριμένο δείγμα να μη μπορεί να δώσει μετρήσιμα στοιχεία. Αν το κριτήριο του χρωματισμού ήταν από μόνο του το πιο πειστικό τεκμήριο, τότε στην πρώτη περίπτωση θα πρέπει να δεχτούμε την απόλυτη έλλειψη μυκητοειδών θηλών, ενώ στη δεύτερη κάθε μακροσκοπικά παρατηρούμενη θηλή θα έπρεπε να χαρακτηριστεί ως μυκητοειδής. Το δεύτερο κριτήριο στη σειρά είναι το σχήμα των θηλών, το οποίο αρκετές μελέτες έθεσαν υπόψη. Αυτό που δεν συνυπολογίστηκε στις περισσότερες περιπτώσεις ήταν η διάμετρος καθώς και το ύψος των θηλών. Το πρωτόκολλο Denver αποτελεί το πρώτο οργανωμένο πρωτόκολλο που, ενώ

λαμβάνει υπόψη τις παρατηρήσεις των Miller, Reedy και Negoro, θεωρεί απαραίτητη την τήρηση όλων των κριτηρίων, χωρίς να δίνει προτεραιότητα σε κάποιο συγκεκριμένο. Επίσης, θεωρεί σημαντική ασφαλιστική δικλείδα τη «χαρτογράφηση» της γλώσσας από δυο καταμετρητές και τη σύγκριση των αποτελεσμάτων τους. Οι περιπτώσεις καταμέτρησης θηλών από δυο άτομα είναι εξαιρετικά σπάνιες στις ως τώρα απόπειρες καταγραφής. Υπενθυμίζεται ότι απόπειρες καταμέτρησης πραγματοποιούνται εδώ κι αρκετές δεκαετίες ενώ το πρωτόκολλο Denver είναι πολύ πρόσφατο.

Το δεύτερο εύρημα της παρούσας μελέτης είναι η αδυναμία εύρεσης συσχέτισης μεταξύ πυκνότητας μυκητοειδών θηλών και γευστικής ευαισθησίας. Στη βιβλιογραφία οι περισσότερες έρευνες περιστρέφονται γύρω από την γευστική ευαισθησία στην αντίληψη του πικρού, και συγκεκριμένα ως προς την PROP. Άλλες ερευνητικές ομάδες ασχολήθηκαν με τα αποτελέσματα ηλεκτρογευσιμετρίας σε σχέση με τον αριθμό των εν λόγω θηλών, οι οποίες κι αυτές βρήκαν αντίστροφη σχέση μεταξύ των δυο μεταβλητών. Οι Zhang et al (2009) κατάφεραν να βρουν αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ κατωφλικής αντίληψης της σουκρόζης με την πυκνότητα των μυκητοειδών θηλών. Η μόνη, ίσως, άλλη σχετική μελέτη είναι της μελέτης Beaver Dam (Fischer et al., 2013) η οποία δε βρήκε κάποια συσχέτιση μεταξύ της γευστικής ευαισθησίας στη σουκρόζη με τον αριθμό των μυκητοειδών θηλών. Σε σχέση με την ευαισθησία προς το πικρό και την PROP δεν κατάφερε να βρει κάποια συσχέτιση με την πυκνότητα των θηλών κι η ερευνητική ομάδα Feenay & Hayes (2014), όπως επίσης δε βρήκε κάποια συσχέτιση μεταξύ της πυκνότητας των θηλών με τον πολυμορφισμό της καρβονικής ανυδράσης VI ή μεταξύ του ενζύμου και της ευαισθησίας προς την PROP.

Στην παρούσα μελέτη δε βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των εξεταζόμενων παραγόντων: αριθμός/ διάμετρος μυκητοειδών θηλών, τιμές BET και πολυμορφισμού της καρβονικής ανυδράσης VI. Ενδεχομένως το φαινόμενο της γευστικής ευαισθησίας προς το γλυκό (αλλά και προς τις υπόλοιπες βασικές γεύσεις) εμπερικλείει περισσότερες παραμέτρους προς την τελική φαινοτυπική έκφραση. Παράγοντες όπως το πρωτεϊνικό προφίλ του σάλιου καθώς και πολυμορφισμοί των υπομονάδων του υποδοχέα TAS1R2-TAS1R3 θα μπορούσαν να αποτελούν κρίσιμους συντελεστές στην εξίσωση του φαινομένου της γευστικής αντίληψης κι ευαισθησίας. Μια μελλοντική μελέτη σε μεγαλύτερο δείγμα κι η οποία θα συμπεριλάμβανε αυτά τα επιπρόσθετα κριτήρια ίσως να οδηγήσει σε μια σφαιρικότερη, πληρέστερη και πραγματική αποτίμηση της λειτουργίας της πιο ευχάριστης και πιο σημαντικής γευστικής αίσθησης.

Βιβλιογραφία

- Δερματοχειρουργική, Ε. (2008). Στοιχεία ανατομίας και ζωτικά σημεία στη στοματική κοιλότητα Anatomical elements and vital points in mouth cavity, (3), 406–411.
- Abhary, S., Burdon, K. P., Gupta, a, Petrovsky, N., & Craig, J. E. (2009). Diabetic retinopathy is not associated with carbonic anhydrase gene polymorphisms. *Molecular Vision*, 15(June), 1179–84.
- Ariyasu, T., Matsumoto, S., Kyono, F., Hanaya, T., Arai, S., Ikeda, M., & Kurimoto, M. (2003). Taste receptor t1r3 is an essential molecule for the cellular recognition of the disaccharide trehalose, (February), 80–88.
- Arvidson, K. (1979). Location and variation in number of taste buds in human fungiform papillae. *European Journal of Oral Sciences*, 87(6), 435–442.
- Bachmanov, A.A., & Beauchamp, G. K. (2007). Taste receptor genes. *Annual Review of Nutrition*, 27(170), 389–414.
- Bae J.W. et al 2012. The Relationship between Single Nucleotide Polymorphisms of the Carbonic Anhydrase 6 Gene and Phenylthiocarbamide Taste Sensitivity, Taste Disorder, Korean Society of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery 2012
- Barbarossa, I. T., Melis, M., Mattes, M. Z., Calò C., Muroli, P., Crnjar, R., & Tepper, B. J. (2015). The gustin (CA6) gene polymorphism, rs2274333 (A/G), is associated with fungiform papilla density, whereas PROP bitterness is mostly due to TAS2R38 in an ethnically-mixed population. *Physiology and Behavior*, 138, 6–12.
- Bartel, D. L., Sullivan, S. L., Lavoie, É. G., Sévigny, J., & Finger, T. E. (2006). Nucleoside triphosphate diphosphohydrolase-2 is the ecto-ATPase of type I cells in taste buds. *Journal of Comparative Neurology*, 497(1), 1–12.
- Bartoshuk, L. M., Duffy, V. B., & Miller, I. J. (1994). PTC/PROP tasting: Anatomy, psychophysics, and sex effects. *Physiology and Behavior*, 56(6), 1165–1171.
- Bassoli, A., Borgonovo, G., Caremoli, F., & Mancuso, G. (2014). The taste of D- and L-amino

- acids: In vitro binding assays with cloned human bitter (TAS2Rs) and sweet (TAS1R2/TAS1R3) receptors. *Food Chemistry*, 150, 27–33.
- Beauchamp, G. K., Cowart, B. J., & Moran, M. (1986). Developmental changes in salt acceptability in human infants. *Developmental Psychobiology*, 19(1), 17–25.
- Bennick, A. (2002). Interaction of Plant Polyphenols with Salivary Proteins. *Crit Rev Oral Biol Med*, 13(2), 184–196.
- Berridge, M. J., Bootman, M. D., & Roderick, H. L. (2003). Calcium: Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4(7), 517–529.
- Biggs, B. T., Tang, T., & Krimm, R. F. (2016). Insulin-like growth factors are expressed in the taste system, but do not maintain adult taste buds. *PLoS ONE*, 11(2), 1–15.
- Bradley, R. M., Stedman, H. M., & Mistretta, C. M. (1985). Age does not affect numbers of taste buds and papillae in adult rhesus monkeys. *The Anatomical Record*, 212(3), 246–249.
- Bradley, R. M., & Stern, I. B. (1967). The development of the human taste bud during the foetal period. *Journal of Anatomy*, 101(Pt 4), 743–752.
- Burgoyne, R. D., & Weiss, J. L. (2001). The neuronal calcium sensor family of Ca²⁺-binding proteins. *Biochem J*, 353(Pt 1), 1–12.
- Cabras, T., Melis, M., Castagnola, M., Padiglia, A., Tepper, B. J., Messana, I., & Barbarossa, I. T. (2012). Responsiveness to 6-n-propylthiouracil (PROP) is associated with salivary levels of two specific basic proline-rich proteins in humans. *PLoS ONE*, 7(2).
- Calò, C., Padiglia, A., Zonza, A., Corrias, L., Contu, P., Tepper, B. J., & Barbarossa, I. T. (2011). Polymorphisms in TAS2R38 and the taste bud trophic factor, gustin gene co-operate in modulating PROP taste phenotype. *Physiology and Behavior*, 104(5), 1065–1071.
- Chandrashekar, J., Hoon, M. A., Ryba, N. J. P., & Zuker, C. S. (2006). The receptors and cells for mammalian taste. *Nature*, 444(7117), 288–294.
- Chandrashekar, J., Mueller, K. L., Hoon, M. A., Adler, E., Feng, L., Guo, W., Zuker, C., Ryba, N. (2000). T2Rs Function as Bitter Taste Receptors. *Cell*, 100(Figure 1), 703–711.
- Chaudhari, N., & Roper, S. D. (2010). The cell biology of taste. *Journal of Cell Biology*, 190(3),

285–296.

Cheng, L. H. H., & Robinson, P. P. (1991). The distribution of fungiform papillae and taste buds on the human tongue. *Archives of Oral Biology*, 36(8), 583–589.

Choi, J. H., Lee, J., Choi, I. J., Kim, Y. W., Ryu, K. W., & Kim, J. (2016). Variations in TAS1R taste receptor gene family modify food intake and gastric cancer risk in a Korean population. *Molecular Nutrition and Food Research*, 60(11), 2433–2445.

Codrea, S. A. (2013). Comment on “Absorption of triphenylmethane dyes Brilliant Blue and Patent Blue through intact skin, shaven skin and lingual mucosa from daily life products” by Lucová et al. (2013) Food and Chemical Toxicology 52, 19-27. *Food and Chemical Toxicology*, 57, 390.

Correa, M., Hutchinson, I., Laing, D. G., & Jinks, A. L. (2013). Changes in Fungiform Papillae Density During Development in Humans. *Chemical Senses*, 38(6), 519–527.

Dando, R., Pereira, E., Kurian, M., Barro-Soria, R., Chaudhari, N., & Roper, S. D. (2015). A permeability barrier surrounds taste buds in lingual epithelia. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 308(1), C21–C32.

DeFazio, R. A., & Hablitz, J. J. (2000). Alterations in NMDA receptors in a rat model of cortical dysplasia. *J Neurophysiol*, 83(1), 315–321.

Dias AG et al 2015, Variation of the TAS1R2 gene, sweet taste perception and intake of sugars, Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics, 2015

Doty, R. (2015). *Handbook of Olfaction and Gustation*. (R. L. Doty, Ed.) (3rd ed.). WILEY Blackwell.

Doty, R. L., Bagla, R., Morgenson, M., & Mirza, N. (2001). NaCl thresholds: Relationship to anterior tongue locus, area of stimulation, and number of fungiform papillae. *Physiology and Behavior*, 72, 373–378.

Duffy, V. B., & Bartoshuk, L. M. (2000). Food acceptance and genetic variation in taste. *Journal of the American Dietetic Association*.

Dvoryanchilov, G., Sinclair, M. S., Perea-Martinez, I., Wang, T., & Chaudhari, N. (2009). Inward

- rectifier channel, ROMK, is localized to the apical tips of glial-like cells in mouse taste buds. *Journal of Comparative Neurology*, 517(1), 1–14.
- EFSA. (2010). Scientific Opinion on the re-evaluation of Brilliant Blue FCF (E 133) as a food additive. *EFSA Journal*, 8(11), 1853.
- Eny, K. M., Wolever, T. M. S., Corey, P. N., & El-Sohemy, A. (2010). Genetic variation in TAS1R2 (Ile191Val) is associated with consumption of sugars in overweight and obese individuals in 2 distinct populations. *American Journal of Clinical Nutrition*, 92(6), 1501–1510.
- Essick, G. K., Chopra, A., Guest, S., & McGlone, F. (2003). Lingual tactile acuity, taste perception, and the density and diameter of fungiform papillae in female subjects. *Physiology and Behavior*, 80(2–3), 289–302.
- Faller, A., Schuenke, M., & Schuenke, G. (2004). *The Human Body* (1st englisch). Thieme Verlag.
- Feeney, E. L., & Hayes, J. E. (2014). Exploring associations between taste perception, oral anatomy and polymorphisms in the carbonic anhydrase (gustin) gene CA6. *Physiol Behav.*, (128), 148–154.
- Fischer, M. E., Cruickshanks, K. J., Schubert, C. R., Pinto, A., Klein, R., Pankratz, N., Pankow J. S., Huang, G. (2013). Factors Related to Fungiform Papillae Density : The Beaver Dam Offspring Study, 669–677.
- Fushan, A. A., Simons, C. T., Slack, J. P., Manichaikul, A., & Drayna, D. (2009). Allelic Polymorphism within the TAS1R3 Promoter Is Associated with Human Taste Sensitivity to Sucrose. *Current Biology*, 19(15), 1288–1293.
- Gaur, S., Sorg, T., & Shukla, V. (2003). Systemic absorption of FD&C blue dye associated with patient mortality. *Postgrad Med J* 2003; 79:602–60, 79, 602–603.
- Gilbertson, T. A., Damak, S., & Margolskee, R. F. (2000). The molecular physiology of taste transduction. *Current Opinion in Neurobiology*, 10(4), 519–527.
- Green, B. G., & Nachtigal, D. (2012). Somatosensory factors in taste perception: Effects of active tasting and solution temperature. *Physiol Behav*, 107(4), 488–495.
- Guagliardo, N. A., & Hill, D. L. (2007). Fungiform taste bud degeneration in C57BL/6J mice

- following chorda-lingual nerve transection. *Journal of Comparative Neurology*, 504(2), 206–216.
- Hall, J. E., & Guyton, A. C. (2011). Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. *Journal of Chemical Information and Modeling*.
- Heath, T. P., Melichar, J. K., Nutt, D. J., & Donaldson, L. F. (2006). Human Taste Thresholds Are Modulated by Serotonin and Noradrenaline. *Journal of Neuroscience*, 26(49), 12664–12671.
- Henkin, R. I. (1975). A Zinc Protein Isolated from Human Parotid Saliva, 72(2), 488–492.
- Henkin, R. I., Martin, B. M., & Agarwal, R. P. (1999). Efficacy of exogenous oral zinc in treatment of patients with carbonic anhydrase VI deficiency. *The American Journal of the Medical Sciences*, 318(6), 392–405.
- Hennigs, J. K., Burhenne, N., Stähler, F., Winnig, M., Walter, B., Meyerhof, W., & Schmale, H. (2008). Sweet taste receptor interacting protein CIB1 is a general inhibitor of InsP3-dependent Ca²⁺ release in vivo. *Journal of Neurochemistry*, 106(5), 2249–2262.
- Herness, S., Zhao, F. L., Kaya, N., Lu, S. G., Shen, T., & Sun, X. D. (2002). Adrenergic signalling between rat taste receptor cells. *J Physiol*, 543(Pt 2), 601–614.
- Höfer, D., & Drenckhahn, D. (1999). Localisation of actin, villin, fimbrin, ezrin and ankyrin in rat taste receptor cells. *Histochemistry and Cell Biology*, 112(1), 79–86.
- Hoon, M. A., Adler, E., Lindemeier, J., Battey, J. F., Ryba, N. J. P., & Zuker, C. S. (1999). Putative Mammalian Taste Receptors. *Cell*, 96(4), 541–551.
- Hosley, Hughes, Morton & Oakley (1987). Period for the Neural Induction of Taste Buds, 7(July), 0–5.
- Hu, J., Hauache, O., & Spiegel, A. M. (2000). Human Ca²⁺ receptor cysteine-rich domain: Analysis of function of mutant and chimeric receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 275(21), 16382–16389.
- Huang, Y.-J., Maruyama, Y., Dvoryanchikov, G., Pereira, E., Chaudhari, N., & Roper, S. D. (2007). The role of pannexin 1 hemichannels in ATP release and cell-cell communication in mouse

- taste buds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(15), 6436–6441.
- Huang, Y.-J., Maruyama, Y., Lu, K.-S., Pereira, E., Plonsky, I., Baur, J. E., Wu, D., Roper, S. D. (2005). Mouse Taste Buds Use Serotonin as a Neurotransmitter. *Journal of Neuroscience*, 25(4), 843–847.
- Huang, Y. A., Maruyama, Y., Stimac, R., & Roper, S. D. (2008). Presynaptic (Type III) cells in mouse taste buds sense sour (acid) taste. *The Journal of Physiology*, 586(12), 2903–2912.
- Huang, Y. A., Pereira, E., & Roper, S. D. (2011). Acid stimulation (sour taste) elicits GABA and serotonin release from mouse taste cells. *PLoS ONE*, 6(10).
- Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 85(2), 162–169.
- James, C. E., Laing, D. G., & Oram, N. (1997). A comparison of the ability of 8-9-Year-old children and adults to detect taste stimuli. *Physiology and Behavior*, 62(1), 193–197.
- Jiang, P., Cui, M., Zhao, B., Snyder, L. A., Benard, L. M. J., Osman, R., Max, M., Margolskee, R. F. (2005). Identification of the cyclamate interaction site within the transmembrane domain of the human sweet taste receptor subunit T1R3. *Journal of Biological Chemistry*, 280(40), 34296–34305.
- Jiang, P., Ji, Q., Liu, Z., Snyder, L. A., Benard, L. M. J., Margolskee, R. F., & Max, M. (2004). The cysteine-rich region of T1R3 determines responses to intensely sweet proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 279(43), 45068–45075.
- Just, T., Pau, H. W., Witt, M., & Hummel, T. (2006). Contact Endoscopic Comparison of Morphology of Human Fungiform Papillae of Healthy Subjects and Patients with Transected Chorda Tympani Nerve. *The Laryngoscope*, 116(7), 1216–1222.
- Kawai, K., Sugimoto, K., Nakashima, K., Miura, H., & Ninomiya, Y. (2000). Leptin as a modulator of sweet taste sensitivities in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(20), 11044–9. 7
- Kim, U. -k. (2006). Variation in the Human TAS1R Taste Receptor Genes. *Chemical Senses*, 31(7), 599–611.

- Kim, U., Wooding, S., Ricci, D., Jorde, L. B., & Drayna, D. (2005). Worldwide haplotype diversity and coding sequence variation at human bitter taste receptor loci. *Human Mutation*, 26(3), 199–204.
- Kivelä, J., Parkkila, S., Parkkila, A. K., Leinonen, J., & Rajaniemi, H. (1999). Salivary carbonic anhydrase isoenzyme VI. *Journal of Physiology*, 520(2), 315–320.
- Klasser, G. D., Fischer, D. J., & Epstein, J. B. (2008). Burning Mouth Syndrome: Recognition, Understanding, and Management. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*,
- Konstantinidis, I., Chatziavramidis, A., Printza, A., Metaxas, S., & Constantinidis, J. (2010). Effects of smoking on taste: Assessment with contact endoscopy and taste strips. *Laryngoscope*, 120(10), 1958–1963.
- Kubale, V. (2010). Taste Perception : From Anatomical To Molecular Level. *Slov Vet Res*, 47(3), 107–127.
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). Sensory evaluation of food: principles and practices: Springer Science & Business Media.
- Lawless, H. T. (2013). Quantitative Sensory Analysis Psychophysics, Models and Intelligent Design.
- Leinonen, J., Parkkila, S., Kaunisto, K., Koivunen, P., & Rajaniemi, H. (2001). Secretion of carbonic anhydrase isoenzyme VI (CA VI) from human and rat lingual serous von Ebner's glands. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry : Official Journal of the Histochemistry Society*, 49(5), 657–662.
- Li, X. J., & Snyder, S. H. (1995). Molecular cloning of Ebnerin, a von Ebner's gland protein associated with taste buds. *Journal of Biological Chemistry*.
- Li, Y.-K., Yang, J., Huang, Y., Ren, D., & Chi, F. (2015). Shrinkage of ipsilateral taste buds and hyperplasia of contralateral taste buds following chorda tympani nerve transection. *Neural Regeneration Research*, 10(6), 989–995.
- Li, Z. Q., Hu, X. P., Zhou, J. Y., Xie, X. D., & Zhang, J. M. (2015). Genetic polymorphisms in the carbonic anhydrase VI gene and dental caries susceptibility. *Genetics and Molecular Research*, 14(2), 5986–5993.

- Liao, J., & Schultz, P. G. (2003). Three sweet receptor genes are clustered in human Chromosome 1. *Mammalian Genome*, 14(5), 291–301.
- Lim, J., & Green, B. G. (2008). Tactile interaction with taste localization: Influence of gustatory quality and intensity. *Chemical Senses*, 33(2), 137–143.
- Lindskog S., Structure and Mechanism of Carbonic Anhydrase, Pharmacol. Thu. Vol.74, No.1, pp.1-20, 1997
- Liu, H. X., MacCallum, D. K., Edwards, C., Gaffield, W., & Mistretta, C. M. (2004). Sonic hedgehog exerts distinct, stage-specific effects on tongue and taste papilla development. *Developmental Biology*, 276(2), 280–300
- Lopez, G. F., & Krimm, R. F. (2006). Epithelial overexpression of BDNF and NT4 produces distinct gustatory axon morphologies that disrupt initial targeting. *Developmental Biology*, 292(2), 457–468.
- Maloney, J. P., Ryan, T. A., Brasel, K. J., Binion, D. G., Johnson, D. R., Halbower, A. C., ... Moss, M. (2002). Food dye use in enteral feedings: a review and a call for a moratorium. *Nutrition in Clinical Practice : Official Publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*, 17(3), 169–181.
- Margolskee, R. F. (2002). Molecular mechanisms of bitter and sweet taste transduction. *Journal of Biological Chemistry*, 277(1), 1–4. <https://doi.org/10.1074/jbc.R100054200>
- Marshall, K., Laing, D. G., Jinks, A. L., Effendy, J., & Hutchinson, I. (2005). Perception of temporal order and the identification of components in taste mixtures. *Physiology and Behavior*, 83(5), 673–681.
- Matsumoto, I., Ohmoto, M., Narukawa, M., Yoshihara, Y., & Abe, K. (2011). Skn-1a/Pou2f3 specifies taste receptor cell lineage. *Nat Neurosci*, 14(6), 685–687.
- Matsuo, R. (1992). Effects of inorganic constituents of saliva on taste responses of the rat chorda tympani nerve. *Brain Research*, 583(1–2), 71–80.
- Maxwell Lawton, D., Furness, D. N., Lindemann, B., & Hackney, C. M. (2000). Localization of the glutamate-aspartate transporter, GLAST, in rat taste buds. *European Journal of Neuroscience*, 12(9), 3163–3171.

- Melis, M., Atzori, E., Cabras, S., Zonza, A., Calò, C., Muroi, P., ... Tomassini Barbarossa, I. (2013a). The Gustin (CA6) Gene Polymorphism, rs2274333 (A/G), as a Mechanistic Link between PROP Tasting and Fungiform Taste Papilla Density and Maintenance. *PLoS ONE*, 8(9), 1–15.
- Melis, M., Atzori, E., Cabras, S., Zonza, A., Calò, C., Muroi, P., Nieddu, N., Padiglia, A., et al. (2013b). The Gustin (CA6) Gene Polymorphism, rs2274333 (A/G), as a Mechanistic Link between PROP Tasting and Fungiform Taste Papilla Density and Maintenance. *PLoS ONE*.
- Melo, S. V., Agnes, G., Vitolo, M. R., Mattevi, V. S., Campagnolo, P. D. B., & Almeida, S. (2009). Evaluation of the association between the TAS1R2 and TAS1R3 variants and food intake and nutritional status in children, (2009).
- Mennella, J., Finkbeiner, S., & Monell, R. (2008). The proof is in the pudding: children prefer lower fat but higher sugar than do mothers. *Growth (Lakeland)*, 23(1), 1–7.
- Miller, I. J., & Reedy, F. E. (1990). Variations in human taste bud density and taste intensity perception. *Physiology and Behavior*, 47(6), 1213–1219.
- Miller, I., & Reedy, F. (1990). Quantification of fungiform papillae and taste pores in living human subjects. *Chemical Senses*, 15(3), 281–294.
- Miller, S. L., Mirza, N., & Doty, R. L. (2002). Electrogustometric thresholds: Relationship to anterior tongue locus, area of stimulation, and number of fungiform papillae. *Physiology and Behavior*, 75(5), 753–757.
- Mistretta, C. M., Gurkan, S., & Bradley, R. M. (1988). Morphology of chorda tympani fiber receptive fields and proposed neural rearrangements during development. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 8(1), 73–78.
- Miura, H., Scott, J. K., Harada, S., & Barlow, L. A. (2014). Sonic hedgehog-expressing basal cells are general post-mitotic precursors of functional taste receptor cells. *Developmental Dynamics*, 243(10), 1286–1297.
- Møller, A. R. (2003). *Sensory systems: Anatomy and Physiology*. Elsevier Science.
- Morini, G., Bassoli, A., & Temussi, P. A. (2005). From small sweeteners to sweet proteins: Anatomy of the binding sites of the human T1R2_T1R3 receptor. *Journal of Medicinal*

Chemistry, 48(17), 5520–5529.

Murray, R. G. (1986). The mammalian taste bud type III cell: A critical analysis. *Journal of Ultrastructure Research and Molecular Structure Research*, 95(1–3), 175–188.

Naim, M., Nir, S., Spielman, A. I., Noble, A. C., & Peri, I. (2002). Hypothesis of receptor-dependent and receptor-independent mechanisms for bitter and sweet taste transduction: implications for slow taste onset and lingering. *ACS Symposium*

Nakamura, Y., Sanematsu, K., Ohta, R., Shirosaki, S., Koyano, K., Nonaka, K., Shigemura, N., Ninomiya, Y. (2008). Diurnal variation of human sweet taste recognition thresholds is correlated with plasma leptin levels. *Diabetes*, 57(10), 2661–2665.

Negoro, A., Umemoto, M., Fukazawa, K., Terada, T., & Sakagami, M. (2004). Observation of tongue papillae by video microscopy and contact endoscopy to investigate their correlation with taste function. *Auris Nasus Larynx*, 31(3), 255–259.

Nelson, G., Hoon, M. A., Chandrashekar, J., Zhang, Y., Ryba, N. J. P., & Zuker, C. S. (2001). Mammalian Sweet Taste Receptors insight to our understanding of chemosensory discrimination and coding. Recently, we described the isolation of two novel families of G protein-coupled receptors. *Cell*, 106, 381–390.

Netter, F. H. (2014). *Atlas of Human Anatomy* (6th Editio). Saunders Elsevier.

Nin, T., Sakagami, M., Sone-Okunaka, M., Muto, T., Mishiro, Y., & Fukazawa, K. (2006). Taste function after section of chorda tympani nerve in middle ear surgery. *Auris Nasus Larynx*, 33(1), 13–17.

Nosrat, I. V., Agerman, K., Marinescu, A., Ernfors, P., & Nosrat, C. A. (2004). Lingual deficits in neurotrophin double knockout mice. *Journal of Neurocytology*, 33(6), 607–615.

Nuessle, T. M., Garneau, N. L., Sloan, M. M., & Santorico, S. A. (2015). Denver Papillae Protocol for Objective Analysis of Fungiform Papillae. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, (100), e52860.

Padiglia, A., Zonza, A., Atzori, E., Chillotti, C., Calò, C., Tepper, B. J., & Barbarossa, I. T. (2010). Sensitivity to 6-n-propylthiouracil is associated with gustin (carbonic anhydrase VI) gene polymorphism, salivary zinc, and body mass index in humans. *American Journal of Clinical*

Nutrition, 92(3), 539–545.

Pagella, P., Jiménez-Rojo, L., & Mitsiadis, T. A. (2014). Roles of innervation in developing and regenerating orofacial tissues. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(12), 2241–2251.

Parkilla, S., Kaunisto, K., Rajaniemi, L., Kumpulainen, T., Jokinen, K., & Rajaniemi, H. (1990). Immunohistochemical localization of Carbonic Anhydrase Isoenzymes VI, II, and I in Human Parotid and Submandibular Glands. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 38(7), 641–647.

Pavlidis, P., Gouveris, H., Anogeianaki, A., Koutsonikolas, D., Anogianakis, G., & Kekes, G. (2013). Age-related changes in electrogustometry thresholds, tongue tip vascularization, density, and form of the fungiform papillae in humans. *Chemical Senses*, 38(1), 35–43.

Pavlidis, P., Gouveris, H., Kekes, G., & Maurer, J. (2014). Electrogustometry thresholds, tongue tip vascularization, and density and morphology of the fungiform papillae in diabetes. *B-Ent*, 10(4), 271–278.

Peres, R. C. R., Camargo, G., Mofatto, L. S., Cortellazzi, K. L., Santos, M. C. L. G., Nobre-dos-Santos, M., et. al (2010). Association of polymorphisms in the carbonic anhydrase 6 gene with salivary buffer capacity, dental plaque pH, and caries index in children aged 7-9 years. *The Pharmacogenomics Journal*, 10(2), 114–119.

Petersen, C. I., Jheon, A. H., Mostowfi, P., Charles, C., Ching, S., Barlow, L. A., & Klein, O. D. (2011). FGF Signaling Regulates the Number of Posterior Taste Papillae by Controlling Progenitor Field Size, 7(6)

Prutkin, J., Duffy, V. B., Etter, L., Fast, K., Gardner, E., Lucchina, L. A., ... Bartoshuk, L. M. (2000). Genetic variation and inferences about perceived taste intensity in mice and men. *Physiology and Behavior*, 69(1), 161–173.

Ramos-Lopez, O., Panduro, A., Martinez-Lopez, E., & Roman, S. (2016). Sweet taste receptor TAS1R2 polymorphism (VAL191VAL) is associated with a higher carbohydrate intake and hypertriglyceridemia among the population of west Mexico. *Nutrients*, 8(2), 1–12.

Rolls, E. T. (2012). Taste, olfactory and food texture reward processing in the brain and the control of appetite. *Proceedings of the Nutrition Society*, 71(4), 488–501.

- Sallese, M., Iacovelli, L., Cumashi, A., Capobianco, L., Cuomo, L., & De Blasi, A. (2000). Regulation of G protein-coupled receptor kinase subtypes by calcium sensor proteins. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1498(2–3), 112–121.
- Scala, A., Checchi, L., Marini, I., & Montevecchi, M. (2003). UPDATE ON BURNING MOUTH SYNDROME: OVERVIEW AND PATIENT MANAGEMENT. *Crit Rev Oral Biol Med*, 14(4), 275–291.
- Segovia, C., Hutchinson, I., Laing, D. G., & Jinks, A. L. (2002). A quantitative study of fungiform papillae and taste pore density in adults and children. *Developmental Brain Research*, 138(2), 135–146.
- Seta, Y., Oda, M., Kataoka, S., Toyono, T., & Toyoshima, K. (2011). Mash1 is required for the differentiation of AADC-positive type III cells in mouse taste buds. *Developmental Dynamics*, 240(4), 775–784.
- Seta, Y., Seta, C., & Barlow, L. A. (2003). Notch-associated gene expression in embryonic and adult taste papillae and taste buds suggests a role in taste cell lineage decisions. *Journal of Comparative Neurology*, 464(1), 49–61.
- Shahbake, M., Hutchinson, I., Laing, D. G., & Jinks, A. L. (2005). Rapid quantitative assessment of fungiform papillae density in the human tongue. *Brain Research*, 1052(2), 196–201.
- Smith, D. V., Akeson, R. A., & Shipley, M. T. (1993). NCAM expression by subsets of taste cells is dependent upon innervation. *Journal of Comparative Neurology*, 336(4), 493–506.
- Soares, S., Vitorino, R., Osório, H., Fernandes, A., Venâncio, A., Mateus, N., De Freitas, V. (2011). Reactivity of human salivary proteins families toward food polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5535–5547.
- Sollars, S. I., & Bernstein, I. L. (2000). Neonatal chorda tympani transection permanently disrupts fungiform taste bud and papilla structure in the rat. *Physiology and Behavior*, 69(4–5), 439–444.
- Stein, N., Laing, D. G., & Hutchinson, I. (1994). Topographical differences in sweetness sensitivity in the peripheral gustatory system of adults and children. *Developmental Brain Research*, 82(1–2), 286–292.

- Suzuki, T. (2007). Cellular Mechanisms in Taste Buds, *48*, 151–161.
- Temple, E. C., Hutchinson, I., Laing, D. G., & Jinks, A. L. (2002). Taste development: Differential growth rates of tongue regions in humans. *Developmental Brain Research*, *135*(1–2), 65–70.
- Temussi, P. A. (2002). Why are sweet proteins sweet? Interaction of brazzein, monellin and thaumatin with the T1R2-T1R3 receptor. *FEBS Letters*, *526*(1–3), 1–4.
- Temussi, P. A. (2009). Sweet, bitter and umami receptors: a complex relationship. *Trends in Biochemical Sciences*, *34*(6), 296–302.
- Thomson & Thomson, Ιατρική Γενετική, εκδ. Πασχαλίδης, 2011
- Tomchik, S. M., Berg, S., Kim, J. W., Chaudhari, N., & Roper, S. D. (2007). Breadth of Tuning and Taste Coding in Mammalian Taste Buds. *Journal of Neuroscience*, *27*(40), 10840–10848.
- Tordoff, M. G., Shao, H., Alarcon, L. K., Margolskee, R. F., Mosinger, B., Bachmanov, A. A., Reed, D., McCaughey, S. (2008). Involvement of T1R3 in calcium-magnesium taste. *Physiological Genomics*, *34*(3), 338–348.
- Trulsson, M., Essick, G. K., Iodi Carstens, M., Furrer, S., Simons, C. T., Slack, J. P., ... Obst, K. (1997). Low-Threshold Mechanoreceptive Afferents in the Human Lingual Nerve. *J Neurophysiol*, *77*, 737–748.
- Wakisaka, S., Tabata, M. J., Maeda, T., Matsumoto, K., Wanaka, a, Muramatsu, H., ... Kurisu, K. (1998). Immunohistochemical localization of pleiotrophin and midkine in the lingual epithelium of the adult rat. *Archives of Histology and Cytology*, *61*(5), 475–480.
- Whitehead, M. C., Beeman, C. S., & Kinsella, B. A. (1985). Distribution of taste and general sensory nerve endings in fungiform papillae of the hamster. *American Journal of Anatomy*, *173*(3), 185–201.
- Witt, M., & Kasper, M. (1998). Immunohistochemical distribution of CD44 and some of its isoforms during human taste bud development. *Histochemistry and Cell Biology*, *110*(1), 95–103.
- Witt, M., & Miller, I. J. J. (1992). Comparative lectin histochemistry on taste buds in foliate,

- circumvallate and fungiform papillae of the rabbit tongue. *Histochemistry* (1992) 98:173-182, 173–182.
- Xu, H., Staszewski, L., Tang, H., Adler, E., Zoller, M., & Li, X. (2004). Different functional roles of T1R subunits in the heteromeric taste receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(39), 14258–14263.
- Yee, K. K., Sukumaran, S. K., Kotha, R., Gilbertson, T. A., & Margolskee, R. F. (2011). Glucose transporters and ATP-gated K⁺ (KATP) metabolic sensors are present in type 1 taste receptor 3 (T1r3)-expressing taste cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(13), 5431–5436.
- Zhang, G. H., Zhang, H. Y., Wang, X. F., Zhan, Y. H., Deng, S. P., & Qin, Y. M. (2009). The relationship between fungiform papillae density and detection threshold for sucrose in the young males. *Chemical Senses*, 34(1), 93–99.
- Zhang, Y., Hoon, M. A., Chandrashekar, J., Mueller, K. L., Cook, B., Wu, D., Zuker, C., Ryba, N. J. P. (2003). Coding of sweet, bitter, and umami tastes: Different receptor cells sharing similar signaling pathways. *Cell*, 112(3), 293–301.
- Zhao, G. Q., Zhang, Y., Hoon, M. A., Chandrashekar, J., Erlenbach, I., Ryba, N. J. P., & Zuker, C. S. (2003). The receptors for mammalian sweet and umami taste. *Cell*, 115(3), 255–266.
- Zuniga, J. R., Chen, N., & Phillips, C. L. (1997). Chemosensory and somatosensory regeneration after lingual nerve repair in humans. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 55(1), 2–14.
- Παπανικολάου Γ., Παλαιολόγου Δ., Κατσαρέλη Ε., Κατσίδα Θ., Τσαρουχά Χ., Τζέτη Μ., Λιλάκος Κ., Δούκισσας Λ., 2015. Εργαστηριακές ασκήσεις Γενετικής του Ανθρώπου στον υπολογιστή και στον πάγκο, www.kallipos.gr