



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS DEL GEN *TAS2R38*,
RELACIONADO CON LA PERCEPCIÓN DEL SABOR AMARGO EN INDIVIDUOS DEL
CANTÓN QUITO

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Ingeniera en Biotecnología.

Profesor Guía
MSc. Carolina Alejandra Salazar Ruales

Autora
María Emilia Dávalos Montalvo

Año
2016

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

Carolina Alejandra Salazar Ruales

Máster en Biotecnología

C.C. 1718836099

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”

María Emilia Dávalos Montalvo

C.C. 0603236001

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía.

A mi papá, por todo su esfuerzo y dedicación. A mi mamá, por enseñarme el camino y pulir mi carácter. A mi Abu, por ser mi debilidad y darme tanto amor. A Cris, por tus consejos y ser mi mejor amiga.

AGRADECIMIENTO

El cumplimiento de este hermoso sueño fue gracias al apoyo de toda mi familia. Gracias Juanjo por tus palabras de motivación llenas de amor, fueron el impulso perfecto. Un agradecimiento al Dr. César Paz-y-Miño por abrirme las puertas del Instituto de Investigaciones Biomédicas, y por confiar en mí para realizar esta investigación. Gracias Caro por ser mi guía en este proyecto y por ayudarme a crecer profesionalmente. De manera especial agradezco a los investigadores Paola Leone, Germán Burgos y Andrés López por instruirme y brindarme su amistad durante todo este tiempo.

RESUMEN

La preferencia alimentaria depende de varios factores culturales, sociológicos, sociales, nutricionales y genéticos. Con respecto a los factores genéticos, estos se encuentran directamente relacionados con el grado de percepción de los sabores en las personas. Las variaciones en genes involucrados en el mecanismo del sistema gustativo se consideran los principales responsables en la diferencia de percepción de los sabores a nivel mundial. El gen *TAS2R38*, ha sido vinculado a la percepción del sabor amargo, y pertenece a la familia de genes *TAS2rs*. Este gen posee un único exón y es responsable de codificar los receptores acoplados a proteína G. Al existir los polimorfismos C145G, C785T y G886A, se generarán cambios nucleotídicos y cambiarán la estructura proteica generando una variabilidad en la percepción del sabor. A partir de los polimorfismos, se construyeron haplotipos que estuvieran vinculados al rango de percepción de lo amargo. Para poder determinar estos rangos, se realizaron evaluaciones sensoriales con benzoato de sodio, a diferentes concentraciones, a 110 individuos del cantón Quito. Así mismo, se realizaron técnicas de biología molecular para obtener los genotipos y haplotipos de la población. Mediante diferentes pruebas estadísticas, se realizaron asociaciones entre los rangos de percepción del sabor amargo con los polimorfismos y los haplotipos. En la población estudiada se observó un número elevado de catadores del sabor amargo, y reducido de no catadores. No se pudo obtener diferencias altamente significativas entre genotipo-fenotipo, genotipo-haplotipo y haplotipo-fenotipo. Sí se observó una relación estadísticamente significativa entre la percepción del sabor amargo y el sexo, y la percepción con los diferentes hábitos (consumo de café y alcohol) y enfermedades de los individuos. Esto sugiere que la población ecuatoriana posee una baja variabilidad genotípica del gen *TAS2R38*, lo que produce una elevada percepción del sabor amargo que puede influenciar sus hábitos alimenticios y dar lugar a ciertas enfermedades.

Palabras clave: receptores acoplados a proteínas G, benzoato de sodio, amargo, gen *TAS2R38*.

ABSTRACT

Food preferences depend on various cultural, sociological, social, nutritional and genetic factors. These genetic factors are directly related to the degree of taste perception in humans. The variations in genes involved in the mechanism of the taste system are considered primarily responsible for the difference in taste perception worldwide. The *TAS2R38* gene has been linked to the perception of bitter taste, and belongs to the family of genes *TAS2Rs*. This gene has a single exon and is responsible for encoding the G protein coupled receptors. The presence of the polymorphisms C145G, G886A, and C785T generate changes in the nucleotides and in the protein structure, creating variability in taste perception. From polymorphisms, haplotypes were built and linked to the level of perception of bitterness. To determine these levels, sensory evaluations with sodium benzoate at different concentrations were held in 110 individuals established in Quito, Ecuador. Additionally, molecular biology techniques were performed to obtain the genotypes and haplotypes of the population. The association of bitter taste perception with polymorphisms and haplotypes was determined by using several statistical tests. In the studied population, a large number of “tasters” and a small number of “no tasters” of bitterness were observed. Highly statistical significances between genotype-phenotype, genotype-haplotype, and phenotype-haplotype could not be obtained. A tight relationship between the perception of bitter taste and sex, and perception with different habits (i.e. consumption of coffee and alcohol) and diseases was observed. This suggests that the Ecuadorian population has low genotypic variability in the *TAS2R38* gene and high perception of bitter taste that is influenced by certain habits or diseases.

Keywords: G-protein-coupled receptor, sodium benzoate, bitter, *TAS2R38* gene.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 ANTECEDENTES	1
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	3
1.3 OBJETIVOS.....	4
1.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1 GENERALIDADES DEL MECANISMO DEL SISTEMA GUSTATIVO.....	6
2.2 HISTORIA SOBRE LA PERCEPCIÓN DEL SABOR AMARGO	7
2.3 RECEPTORES DEL GUSTO.....	8
2.3.1 Mecanismo de acción de la proteína G.....	9
2.3.2 Codificación del sabor amargo	10
2.4 GEN DEL SABOR AMARGO	11
2.4.1 Polimorfismos de nucleótido simple.....	12
2.4.2 Formación de haplotipos.....	13
2.4.3 Percepción del sabor amargo según alelos y haplotipos	14
2.5 COMPUESTOS Y ALIMENTOS CONSIDERADOS “AMARGOS”	15
2.5.1 Benzoato de sodio	15
2.5.2 Compuestos tóxicos del sabor amargo y causa de enfermedades.....	16
2.6 ANÁLISIS DE LA PERCEPCIÓN DEL SABOR AMARGO A NIVEL MUNDIAL.....	18
2.6.1 Porcentaje de catadores y no catadores en la población mundial	19
2.6.2 Frecuencia de haplotipos.....	19

3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1 DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA.....	21
3.2 SELECCIÓN DE INDIVIDUOS DEL CANTÓN QUITO.....	22
3.3 EVALUACIÓN SENSORIAL CON BENZOATO DE SODIO	22
3.4 OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE PERIFÉRICA.....	23
3.5 EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO A PARTIR DE SANGRE PERIFÉRICA.....	23
3.6 ANÁLISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO DE ADN.....	25
3.6.1 Análisis cualitativo.....	25
3.6.2 Análisis cuantitativo	25
3.7 DETERMINACIÓN DE LOS GENOTIPOS.....	25
3.7.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	26
3.7.2 Diseño de cebadores específicos para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	26
3.7.3 Reacción de PCR de punto final para el polimorfismo rs713598 (145 C>G) del gen TAS2R38.....	27
3.7.3.1 Estandarización en la T _m de los cebadores en la reacción de PCR	28
3.7.3.2 Amplificación del polimorfismo rs713598 (145 C>G) del gen TAS2R38	29
3.7.4 Reacción de PCR de punto final para los polimorfismos rs1726866 (785 C>T) y rs10246939 (886 G>A) del gen TAS2R38	29
3.7.4.1 Estandarización en la T _m de los cebadores en la reacción de PCR	29
3.7.4.2 Amplificación de los polimorfismos rs1726866 (785 C>T) y rs10246939 (886 G>A) del gen TAS2R38	30
3.8 SECUENCIACIÓN TIPO SANGER CON ELECTROFORESIS CAPILAR	30

3.8.1 Purificación de los productos de PCR por Ampure®	30
3.8.2 Reacción en cadena de la polimerasa de secuencia	31
3.8.3 Purificación de PCR de secuencia por Cleanseq®	32
3.8.4 Secuenciación de ADN mediante electroforesis capilar.....	33
3.9 CONSTRUCCIÓN DE HAPLOTIPOS	33
3.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	34
4. RESULTADOS.....	36
4.1 ENCUESTA BIOMÉDICA	36
4.1.1 Edad y sexo	36
4.1.2 Hábitos.....	36
4.2 EVALUACIÓN SENSORIAL CON BENZOATO DE SODIO	37
4.3 EXTRACCIÓN DEL ADN GENÓMICO	39
4.3.1 Evaluación de la concentración del ADN	39
4.4 DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO	40
4.4.1 Amplificación de los fragmentos de interés del gen TAS2R38	40
4.5 SECUENCIACIÓN TIPO SANGER CON ELECTROFORESIS CAPILAR	41
4.5.1 Análisis genético de la variante C145G	41
4.5.1.1 Frecuencias genotípicas.....	42
4.5.2 Análisis genético de la variante C785T	43
4.5.2.1 Frecuencias genotípicas.....	44
4.5.3 Análisis genético de la variante G886A	45
4.5.3.1 Frecuencias genotípicas.....	45
4.6 ANÁLISIS DE HAPLOTIPOS	46
4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	47
4.7.1 Asociación de los hábitos con los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen TAS2R38.....	47
4.7.2 Asociación de los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen TAS2R38 con la capacidad de percepción del sabor amargo	49

4.7.2.1 Asociación del polimorfismo C145G del gen TAS2R38 con la concentración de 0,001% de benzoato de sodio	49
4.7.2.2 Asociación del polimorfismo C145G del gen TAS2R38 con la concentración de 0,08% de benzoato de sodio	51
4.7.2.3 Asociación del polimorfismo C145G del gen TAS2R38 con la concentración de 0,25% de benzoato de sodio	53
4.7.2.4 Asociación del polimorfismo C145G del gen TAS2R38 con la concentración de 0,40% de benzoato de sodio	55
4.7.2.5 Asociación del polimorfismo C145G del gen TAS2R38 con la concentración de 0,75% de benzoato de sodio	57
4.7.2.6 Asociación del polimorfismo C785T del gen TAS2R38 con la concentración de 0,001% de benzoato de sodio	59
4.7.2.7 Asociación del polimorfismo C785T del gen TAS2R38 con la concentración de 0,08% de benzoato de sodio	61
4.7.2.8 Asociación del polimorfismo C785T del gen TAS2R38 con la concentración de 0,25% de benzoato de sodio	63
4.7.2.9 Asociación del polimorfismo C785T del gen TAS2R38 con la concentración de 0,40% de benzoato de sodio	65
4.7.2.10 Asociación del polimorfismo C785T del gen TAS2R38 con la concentración de 0,75% de benzoato de sodio	67
4.7.2.11 Asociación del polimorfismo G886A del gen TAS2R38 con la concentración de 0,001% de benzoato de sodio	69
4.7.2.12 Asociación del polimorfismo G886A del gen TAS2R38 con la concentración de 0,08% de benzoato de sodio	71
4.7.2.13 Asociación del polimorfismo G886A del gen TAS2R38 con la concentración de 0,25% de benzoato de sodio	73
4.7.2.14 Asociación del polimorfismo G886A del gen TAS2R38 con la concentración de 0,40% de benzoato de sodio	75
4.7.2.15 Asociación del polimorfismo G886A del gen TAS2R38 con la concentración de 0,75% de benzoato de sodio	77
4.7.3 Asociación de los haplotipos del gen TAS2R38 con la capacidad de percepción del sabor amargo	79

4.7.3.1 Asociación de los haplotipos del gen TAS2R38 con la concentración de 0,001% de benzoato de sodio	79
4.7.3.2 Asociación de los haplotipos del gen TAS2R38 con la concentración de 0,08% de benzoato de sodio	81
4.7.3.3 Asociación de los haplotipos del gen TAS2R38 con la concentración de 0,25% de benzoato de sodio	83
4.7.3.4 Asociación de los haplotipos del gen TAS2R38 con la concentración de 0,40% de benzoato de sodio	85
4.7.3.5 Asociación de los haplotipos del gen TAS2R38 con la concentración de 0,75% de benzoato de sodio	87
4.7.4 Percepción del sabor amargo, en concentraciones de 0,001%-0,08%-0,25%-0,40%-0,75% de benzoato de sodio, según el género.....	89
4.7.5 Asociación de la percepción del sabor amargo, en concentraciones de 0,001%-0,08%-0,25%-0,40%-0,75% de benzoato de sodio, con los hábitos.....	92
5. DISCUSIÓN	95
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	106
6.1 CONCLUSIONES.....	106
6.2 RECOMENDACIONES	107
REFERENCIAS	108
ANEXOS	115

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

El sistema gustativo en mamíferos comprende: las papilas gustativas, las células gustativas y familias de proteínas receptoras. La cascada del sabor inicia en las papilas gustativas con la interacción de un estímulo del sabor y las células receptoras del gusto, a través de las proteínas receptoras. Esta interacción produce una señal que se transmite al cerebro, a través de los nervios, para evocar la percepción del sabor (Bachmanov *et al.*, 2014, pp. 2669-2683). El estudio genético enfocado en la percepción de los sabores, ha permitido entender y caracterizar cinco modalidades básicas del gusto percibidos por los mamíferos: dulce, amargo, ácido, salado y umami (Matusunami, Montmayeur y Buck, 2000, pp. 601-604).

La existencia de diferentes cualidades gustativas implica que cada sabor tiene un mecanismo de codificación específico, que es mediado por proteínas receptoras especializadas (Kim y Drayna., 2004, pp. 275-280). Ciertos estudios realizados sobre las diversas vías de transducción de los estímulos indican que los estímulos de los sabores ácido y salado interactúan directamente con los canales de iones y canales de sodio, mientras que los estímulos de los sabores dulce, umami y amargo activan los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) e interactúan con las familias de proteínas *T1R* y *T2R* (García-Bailo, Toguri, Eny y El-Sohemy, 2009, pp. 69-80). El estudio genético ha podido identificar los genes que codifican estos receptores, incluyendo la familia de genes *TAS2R* para el sabor amargo (Adler *et al.*, 2000, pp. 693-702; Bachmanov *et al.*, 2001, pp. 925-933; Chandrashekar *et al.*, 2000, pp. 703-711; García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80), la familia de genes *TAS1R* para los sabores dulce y umami (Bachmanov y Beauchamp, 2007, pp. 389-414; García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80; Li *et al.*, 2002, pp. 4692-4696), los genes *PKD2L* y *PKD1L3* para el sabor agrio (García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80; Huang *et al.*, 2006, pp. 934-938; Ishimaru *et al.*, 2006, pp. 12569-12574; López-Jiménez

et al., 2005, pp. 472-482) y el gen *Scnn1a* para el sabor salado (Bachmanov *et al.*, 2014, pp. 2669-2683; García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80; Shigemura *et al.*, 2008, pp. 66-75).

Existen varios genes de la familia *T2R* implicados en la percepción del sabor amargo, entre ellos tenemos el gen *TAS2R38* que se encuentra muy relacionado a la percepción de feniltiocarbamida (PTC) y propiltiouracilo (PROP), dos compuestos orgánicos miembros de las tioureas. Los estudios realizados sobre la percepción del sabor amargo se realizaban, la mayoría, con compuestos amargos como PTC y PROP. Sin embargo, se ha demostrado la misma sensibilidad al sabor amargo en otras sustancias como la quinina, cloruro de potasio y benzoato de sodio (Drewnowski y Rock, 1995, pp. 506-511).

El gen *TAS2R38* se encuentra ubicado en una región del cromosoma 7, en donde el único exón codifica a un receptor acoplado a proteínas G con 7 dominios transmembrana (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; Emerson, 2012, pp. 246-250). En este gen, se identificaron tres polimorfismos de nucleótidos simples comunes, los cuales dan lugar a cambios de aminoácidos en la proteína. La primera variante consiste en el cambio nucleotídico de citosina (C) por guanina (G) y el cambio aminoacídico de prolina (Pro) por alanina (Ala) en la posición 49. La segunda variante consiste en el cambio nucleotídico de citosina (C) por timina (T) y el cambio aminoacídico de alanina (Ala) por valina (Val) en la posición 262. Por último, la tercera variante consiste en el cambio nucleotídico de guanina (G) por adenina (A) y el cambio aminoacídico de Valina (Val) por Isoleucina (Ile) en la posición 296 (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; Duffy *et al.*, 2004, pp. 1629-1637; Emerson, 2012, pp. 246-250; García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80).

A partir de los diferentes cambios aminoacídicos que se han encontrado, se han identificado 5 haplotipos comunes asociados al rango de percepción del sabor amargo: PAV, AAV, AVI, AAI y PVI (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225). Se ha determinado que el haplotipo PAV está asociado a la percepción fuerte del

sabor amargo, los haplotipos AAV, AAI y PVI están asociados a una percepción moderada del sabor, mientras que el haplotipo AVI está asociado a un no catador del sabor amargo (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; Duffy *et al.*, 2004, pp. 1629-1637; Emerson, 2012, pp. 246-250). El resultado de muchos estudios demuestra que las variantes en el gen *TAS2R38* poseen un profundo impacto en la percepción del sabor amargo y están relacionadas a comportamientos alimenticios de algunas poblaciones estudiadas (Kim, Breslin, Reed y Drayna, 2004, pp. 448-453). Alrededor del 75% de los humanos perciben el sabor amargo en compuestos como PTC, PROP, quinina, benzoato de sodio, entre otros. A este grupo de personas se los clasifica como “catadores”, mientras que el grupo restante de la población mundial no percibe este sabor (García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80; Emerson, 2012, pp. 246-250; Guo y Reed, 2001, pp. 111-142). A pesar de tener datos globales sobre el porcentaje de catadores y no catadores a nivel mundial, actualmente no existen datos registrados sobre la percepción del sabor amargo en el Ecuador.

1.2 JUSTIFICACIÓN

La variación genética en los receptores del gusto en humanos afecta la percepción, elección y consumo de los alimentos. La percepción de los sabores influencia directamente en la nutrición de un individuo y a la predisposición de enfermedades. Ciertas sustancias tóxicas, como los polifenoles y los glucosinolatos, están presentes en algunos alimentos y generan un sabor amargo (Sandell y Breslin, 2006, pp. 792-794). Es por eso que las personas no catadoras del sabor amargo, ingieren alimentos que poseen estos compuestos y acumulan toxinas en el organismo, haciéndolos más propensos a contraer enfermedades como la inhibición de la tiroides, la obesidad, el alcoholismo o la diabetes (Duffy *et al.*, 2004, pp. 1629-1637; Guo y Reed, 2001, pp. 111-142; Sandell y Breslin, 2006, pp. 792-794). El riesgo de contraer estas enfermedades puede ser atribuido a la variación en la percepción del sabor amargo, que conlleva al mal consumo de ciertos alimentos, y afecta directamente a la salud. Por tal razón, los investigadores buscan generar

marcadores biológicos a partir de los genotipos del sabor amargo para identificar predisposiciones a enfermedades y poder prevenirlas (Bachmanov y Beauchamp, 2007, pp. 389-414; García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80).

En Ecuador, el Ministerio de Salud Pública (MSP) y el Instituto Nacional de Estadística y Censos realizaron la “Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2011-2013)”. Los resultados de esta encuesta revelaron que en niños entre 5 a 11 años el sobrepeso llegó al 32%, mientras que en adolescentes y adultos llegó a 26% y 63% respectivamente. De igual manera esta investigación reflejó que más de 400 mil personas entre 10 y 59 años, sufren de diabetes. En relación al consumo de alcohol y tabaco, se ha reportado un 72% y 50% de jóvenes consumidores de 15 a 19 años (INEC, 2013).

Así mismo, se ha reportado que el 1,7% de hombres y 3,8% de mujeres ecuatorianas padecen de cáncer de tiroides (INEC, 2011).

Así mismo, la información sobre la variación en los receptores del gusto está relacionada a comportamientos alimenticios de las poblaciones estudiadas (Kim *et al.*, 2004, pp. 448-453). Como se mencionó anteriormente, el desarrollo de investigaciones realizadas en diferentes poblaciones, permiten relacionar los genotipos de cada población con la percepción del sabor amargo, y a su vez, permiten determinar o modificar la nutrición de una población, evitando así, la el consumo de alimentos tóxicos y el riesgo de contraer enfermedades (García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80; Guo y Reed, 2001, pp. 111-142).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia de los polimorfismos del gen *TAS2R38* relacionados con la percepción del sabor amargo en individuos del cantón Quito.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la dosis umbral del sabor amargo en individuos del cantón Quito mediante degustación de benzoato de sodio.
- Analizar las frecuencias alélicas y genotípicas de polimorfismos de nucleótido simple del gen *TAS2R38* mediante PCR y análisis de secuencias.
- Asociar las características fenotípicas y genotípicas relacionadas a la percepción del sabor amargo en individuos del cantón Quito mediante análisis estadístico.
- Comparar la frecuencia de polimorfismos de percepción del sabor amargo en individuos del cantón Quito con población a nivel mundial mediante revisión bibliográfica.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES DEL MECANISMO DEL SISTEMA GUSTATIVO

En la cavidad oral, la lengua es considerada el principal órgano gustativo. En la superficie de este órgano se encuentran distribuidas las papilas gustativas y en su interior los botones gustativos. Dentro de estas estructuras, se encuentran organizadas las células receptoras del gusto (Bachmanov *et al.*, 2014, pp. 2669-2683; Behrens y Meyerhof, 2009, pp. 203-220). Estas células gustativas se clasifican en cuatro tipos: tipo I, II, III y células basales.

Las células de tipo I y III son células receptoras maduras que están expuestas en la cavidad oral para interactuar con el estímulo gustativo, mediante proteínas específicas (Bachmanov *et al.*, 2014, pp. 2669-2683). A partir de esta, se produce una cascada de señalización que es transmitida mediante los nervios aferentes gustativos y que culmina en la liberación de neurotransmisores en el cerebro, para producir una percepción gustativa (*Figura 1*).

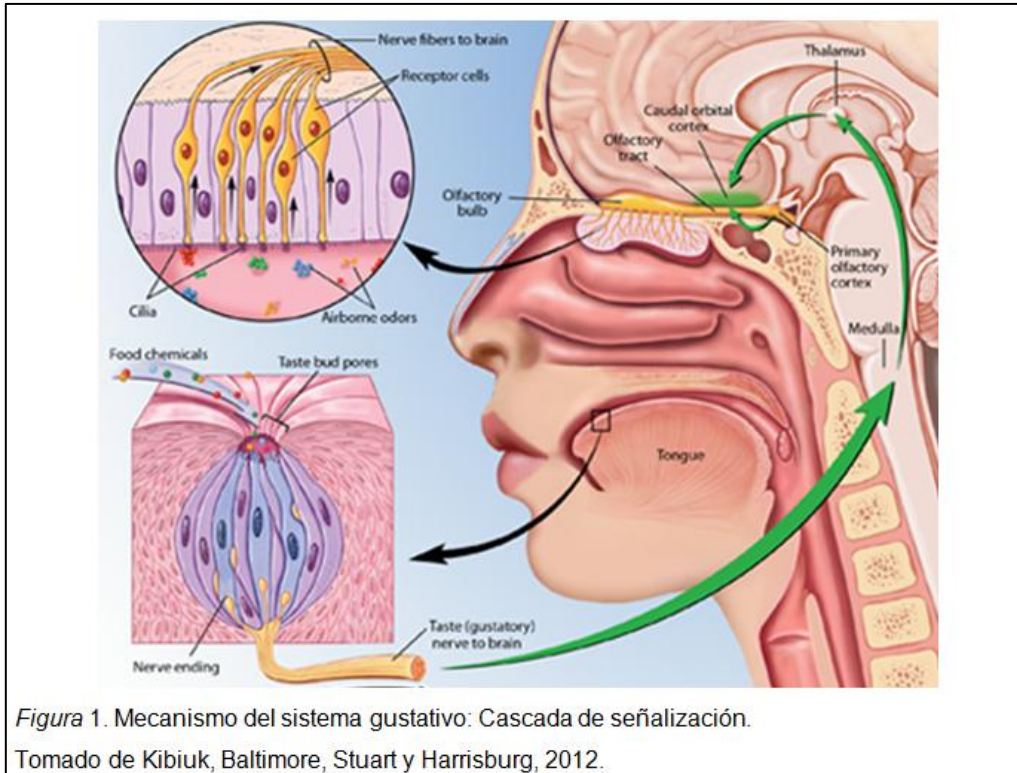


Figura 1. Mecanismo del sistema gustativo: Cascada de señalización.
Tomado de Kibiuk, Baltimore, Stuart y Harrisburg, 2012.

Actualmente, se han identificado 5 cualidades gustativas percibidas por los humanos: dulce, amargo, ácido, salado y umami (Adler *et al.*, 2000, pp. 693-702; Bachmanov *et al.*, 2014, pp. 2669-2683).

2.2 HISTORIA SOBRE LA PERCEPCIÓN DEL SABOR AMARGO

Los estudios genéticos enfocados en la percepción del sabor amargo iniciaron en el año 1931 con el descubrimiento del químico Arthur L. Fox. Tras un accidente en el laboratorio con feniltiocarbamida (PTC), Fox y su colaborador, el Dr. C. R. Noller, tuvieron diferentes percepciones sobre el sabor amargo presente, ya que el Dr. Noller percibió un sabor amargo intenso en el ambiente, mientras que Fox no percibió el sabor. Esto llamó la atención del químico, quien enfocó su investigación en la diferencia de percepción del sabor amargo en los humanos (Fox, 1932, 115-120; Drewnowski y Rock, 1995, pp. 506-511; Guo y Reed, 2001, pp. 111-142).

A partir de este descubrimiento, se realizaron estudios enfocados en diversas familias, cuyos resultados demostraron que aproximadamente un tercio de la población muestreada era insensible al sabor amargo. Por tal razón, se determinó que la percepción del sabor amargo se basaba en un simple rasgo Mendeliano recesivo. Así mismo, estudios posteriores postulaban una fuerte relación entre la incapacidad de percibir el sabor amargo con el antígeno del grupo sanguíneo, KEL (Emerson, 2012, pp. 246-250; Guo y Reed, 2001, pp. 111-142; Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225). Sin embargo, se reportaron investigaciones que contradecían estos modelos y postulaban la acción de un gen dominante responsable de la percepción del sabor amargo (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225).

2.3 RECEPTORES DEL GUSTO

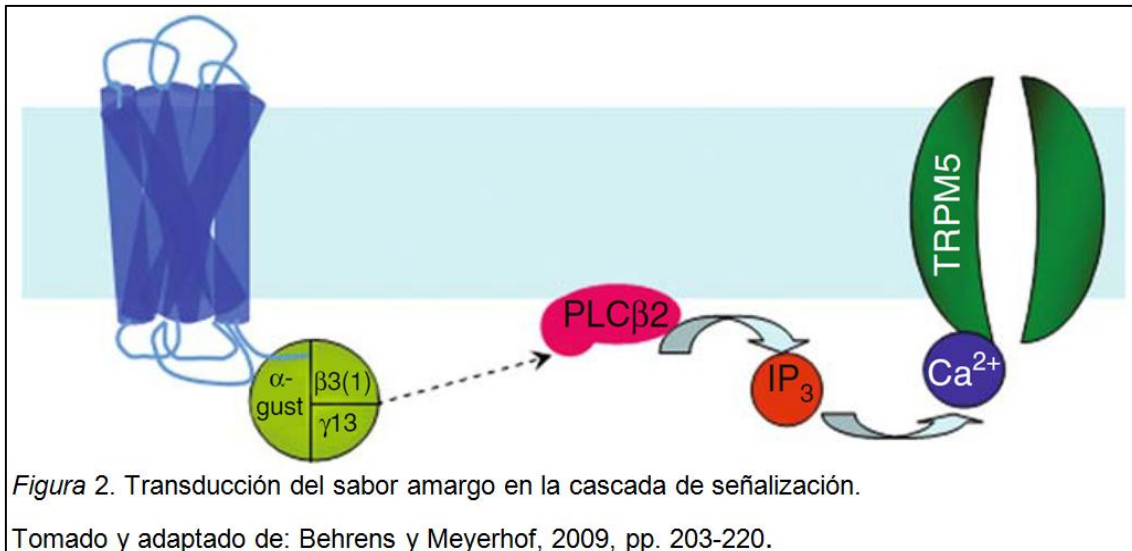
A partir del descubrimiento del químico A. L. Fox, se realizaron muchas investigaciones para conocer a profundidad el mecanismo de percepción del sabor amargo. En mamíferos, se identificó una familia de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs), expresadas en células receptoras del gusto presentes en las papilas gustativas (Adler *et al.*, 2000, pp. 693-702; Chandrashekar *et al.*, 2000, pp. 703-711; Matusunami, Montmayeur y Buck, 2000, pp. 601-604). Los GPCR poseen una estructura común con 7 dominios transmembrana, con un extremo amino terminal en el exterior encargado del reconocimiento del ligando, y un extremo carboxilo en el interior de la célula (FIBAO, 2008).

Estas proteínas de membrana son activadas por ligandos exógenos, como ciertos olores o sustancias gustativas, o ligandos endógenos, como neurotransmisores u hormonas (Takeda, Kadowaki, Haga, Takaesu y Mitaku, 2002, pp. 97-101). Varios estudios han determinado que la transducción gustativa de los sabores dulce, umami y amargo, es mediado por los receptores acoplados a proteínas G (Adler *et al.*, 2000, pp. 693-702; Guo y Reed, 2001, pp. 111-142; Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; Behrens y Meyerhof, 2009, pp. 203-220).

2.3.1 Mecanismo de acción de la proteína G

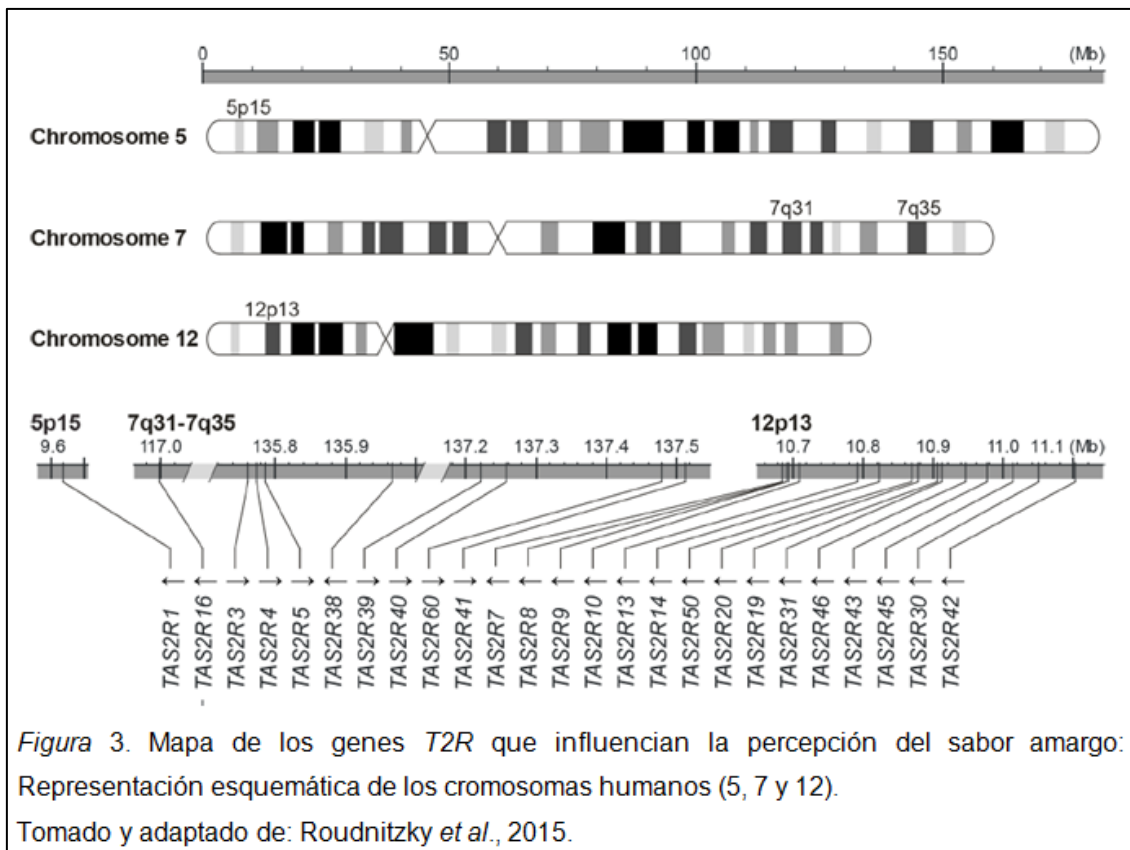
Gustducina es una subunidad α de una proteína G heteromérica, asociada al sistema gustativo y se encuentra presente en las células receptoras del gusto. Esta proteína actúa directamente en la transducción de los estímulos de los sabores amargos, dulces y umami (Chandrashekar *et al.* 2000, pp. 703-711; Behrens y Meyerhof, 2009, pp. 203-220; Meyerhof, Behrens, Brockhoff, Bufe y Kuhn, 2005, pp. 14-15). De igual manera, la proteína G heteromérica está formada por subunidades $\beta 3(1)$ y $\gamma 13$ y son necesarias para el funcionamiento de esta proteína. En la *Figura 2*, se puede observar la transducción del sabor amargo en la cascada de señalización, mediada por el trímero de subunidades α -gust, $\beta 3(1)$ y $\gamma 13$. Cuando existe una activación de la familia de genes receptores *TAS2R*, se activa también el complejo de subunidades de los receptores acoplados a proteínas G α -gust, $\beta 3(1)$ y $\gamma 13$.

Las subunidades $\beta\gamma$ inducen la activación de la isoenzima fosfoinosítido fosfolipasa C $\beta 2$ (*PLC $\beta 2$*), cuyo principal rol es la producción de la molécula mensajera inosito 1, 4, 5-trifosfato (IP_3). La activación de IP_3 provoca el aumento de calcio intracelular, y a la vez, activa el canal receptor de potencial transitorio (TRPM5). Este canal es el responsable de conducir la despolarización de la membrana y la consecuente liberación de ATP y secreción de neurotransmisores en el cerebro, en donde se interpreta e identifica el sabor (Adler *et al.*, 2000, pp. 693-702; Behrens y Meyerhof, 2009, pp. 203-220; Chandrashekar *et al.* 2000, pp. 703-711).



2.3.2 Codificación del sabor amargo

Chandrashekar *et al.* (2000, pp. 703-711) fueron los primeros en identificar la familia *TAS2Rs* o *T2R* como genes receptores del sabor amargo, que se caracterizan por no poseer intrones. Estos genes son los responsables de codificar los receptores acoplados a proteínas G, de alrededor de 300-333 aminoácidos, e iniciar la cascada de señalización cuando se produce la interacción de estos receptores con el estímulo de sabor (Behrens y Meyerhof, 2009, pp. 203-220; Mueller *et al.*, 2005, pp. 225-229). A partir de este descubrimiento, se lograron identificar 25 genes *T2R* humanos localizados en el cromosoma 5 (Adler *et al.*, 2000, pp. 693-702), cromosoma 7 (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225) y cromosoma 12 (Matusunami, Montmayeur y Buck, 2000, pp. 601-604; Roudnitzky *et al.*, 2015) (Figura 3).



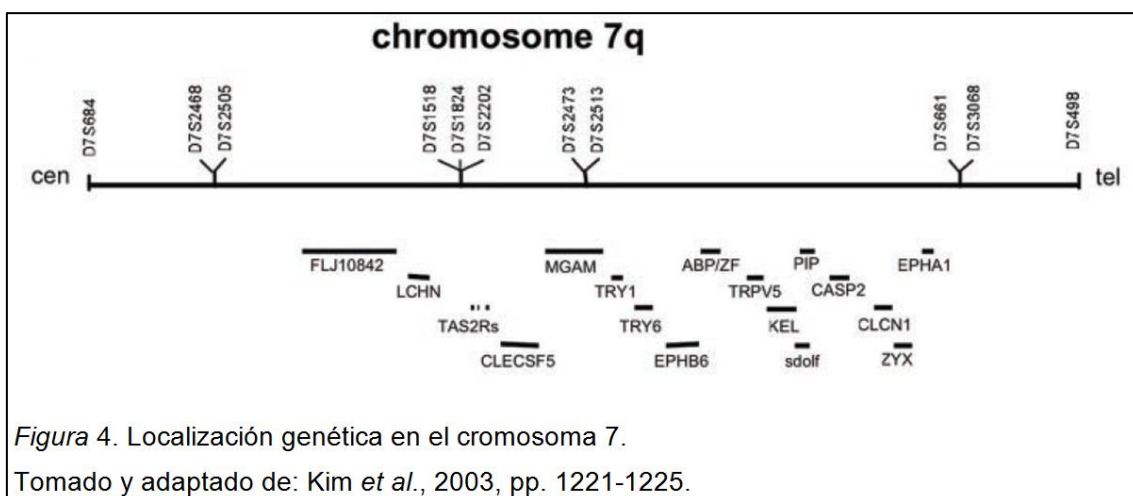
En la percepción del sabor, se determinó que el número de compuestos percibidos por los humanos como amargos es mucho más grande que el número de genes *TAS2R* humanos. Esto se debe a que cada gen responde a más de un ligando del sabor amargo (Behrens y Meyerhof, 2006, pp. 1501-1509; Meyerhof *et al.*, 2010, pp. 157-170).

2.4 GEN DEL SABOR AMARGO

En la última década, las investigaciones se han basado en demostrar qué rasgo genético actúa directamente en la percepción del sabor amargo. Se han caracterizado 28 genes *TAS2R* humanos responsables de la percepción del sabor amargo, dentro de los cuales los genes vinculados directamente con el mecanismo de percepción del sabor amargo de los compuestos feniltiocarbamida (PTC) y propiltiouracilo (PROP) son los genes *TAS2R4* y *TAS2R38* (Boxer y Garneau, 2015, p. 505; García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80;

Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; Wooding, Kim, Bramshad, Jorde y Drayna, 2004, pp. 637-646).

Kim y colaboradores (2003, pp. 1221-1225) enfocaron sus estudios en el cromosoma 7, y encontraron más de 150 genes presentes (incluyendo el gen que codifica para el antígeno KEL) y genes receptores de olores (OR). Su estudio se basó en la evaluación de una determinada región que contenía 9 genes específicos y 7 genes OR (*Figura 4*). Dentro de los 9 genes estudiados, se encontró el gen *TAS2R38*, cuyo número de acceso en el National Center for Biotechnology Information (NCBI) es 5726; y está ubicado en la región 34 del brazo largo del cromosoma 7. Este gen, consiste en un simple exón de 1002 pb. de longitud, que codifica a receptores acoplados a proteínas G compuesta por 333 aminoácidos. Los científicos atribuyeron a este gen la responsabilidad de la percepción del sabor amargo del compuesto PTC (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80).



2.4.1 Polimorfismos de nucleótido simple

Además del descubrimiento del gen *TAS2R38*, Kim y colaboradores (2003, pp. 1221-1225) identificaron tres polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) comunes en la población estudiada, cuyo resultado es el cambio aminoacídico de la proteína G codificada. El primer polimorfismo es C/G en el nucleótido 145, convirtiendo el aminoácido prolina a alanina. Se ha determinado que este

polimorfismo está estrechamente asociado a la percepción del sabor amargo. El segundo polimorfismo es C/T en el nucleótido 785, convirtiendo el aminoácido alanina en valina. Por último, el tercer cambio ocurre en el nucleótido 886 con G/A y el cambio del aminoácido valina por isoleucina (Tabla 1) (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80; Duffy *et al.*, 2004, pp. 1629-1637; Emerson, 2012, pp. 246-250).

Tabla 1. Polimorfismos de nucleótido simple presentes en el gen *TAS2R38*

Posición		Alelo	Aminoácido codificado
Par de bases	Aminoácido		
145	49	C	Prolina
		G	Alanina
785	262	C	Alanina
		T	Valina
886	296	G	Valina
		A	Isoleucina

Tomado y adaptado de (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225).

2.4.2 Formación de haplotipos

Para entender mejor el efecto de los tres polimorfismos de nucleótido simple, se identificaron las posibles combinaciones de aminoácidos, y se construyeron haplotipos en el gen *TAS2R38* (Tabla 2) (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; Kim *et al.*, 2004, pp. 448-453; Kim y Drayna., 2004, pp. 275-280; García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80). La construcción de los haplotipos se basó en la unión de los tres aminoácidos presentes en el genoma de una población determinada. Los dos haplotipos más comunes son: PAV, formado a partir de una prolina-alanina-valina; y AVI, formado de una alanina-valina-isoleucina. De igual manera, a partir de los diferentes cambios aminoacídicos encontrados, se identificaron tres haplotipos más: AAV, AAI y PVI (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; Kim *et al.*, 2004, pp. 448-453).

Tabla 2. Haplotipos del gen *TAS2R38*.

C145 G	Aminoácido codificado	C78 5T	Aminoácido codificado	G88 6A	Aminoácido codificado	Haplоти pos
C	Pro	C	Ala	G	Val	PAV
G	Ala	T	Val	A	Ile	AVI
G	Ala	C	Ala	G	Val	AAV
G	Ala	C	Ala	A	Ile	AAI
C	Pro	T	Val	A	Ile	PVI

Adaptado de (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; Timpson *et al.*, 2005, pp. 1005-1011).

2.4.3 Percepción del sabor amargo según alelos y haplotipos

Mediante la secuenciación de los polimorfismos de nucleótido simple, se ha podido correlacionar el genotipo con el fenotipo, y a la vez, con cada haplotipo. Como se observa en la Tabla 3, a un individuo con un determinado conjunto de alelos, se lo puede caracterizar como “súper catador”, “catador moderado” o “no catador” del sabor amargo (SNPedia, 2011).

Kim y colaboradores (2003, pp. 1221-1225) lograron relacionar los haplotipos identificados con el estado de percepción del sabor amargo. Los haplotipos más comunes PAV y AVI, demuestran una gran sensibilidad y una nula sensibilidad, respectivamente, hacia el sabor amargo de los compuestos PTC y PROP. Así mismo, los haplotipos AAV, AAI y PVI identificados, están asociados a una percepción moderada del sabor (Duffy *et al.*, 2004, pp. 1629-1637; Emerson, 2012, pp. 246-250).

Tabla 3. Relación genotipo/fenotipo en cada SNP.

C145G		C785T		G886A	
Alelo	Estado gustativo	Alelo	Estado gustativo	Alelo	Estado gustativo
C/C	Percepción	C/C	Percepción	G/G	Percepción
C/C	Percepción moderada	C/T	Percepción moderada	G/A	Percepción moderada
G/G	Percepción nula	T/T	Percepción nula	A/A	Percepción nula

Tomado y adaptado de (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225).

2.5 COMPUESTOS Y ALIMENTOS CONSIDERADOS “AMARGOS”

Se ha caracterizado a los péptidos, aminoácidos, sulfamidas, ureas, tioureas, terpenos, fenoles, polifenoles, metilxantinas, isoflavones y glucosinolatos, como fitoquímicos con sabor amargo (Drewnowski, Henderson y Barratt, 2001, pp. 535-538). Estos compuestos son los responsables de otorgar amargura y pungencia a cierta variedad de plantas alimenticias como la patata, frijol, guisante, pepino, calabaza, calabacín, lechuga, espinaca, coles de Bruselas, coliflor y brócoli (Drewnowski y Gomez, 2000, pp. 1424-1435; Dinehart, Hayes, Bartoshuk, Lanier y Duffy, 2006, pp. 304-313). De igual manera, se ha identificado el sabor amargo en alimentos como quesos, productos de soya, toronjas, té verde, café y bebidas alcohólicas (García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80).

El modelo principal, en el cual se basaron las investigaciones pioneras (Fox, 1932, 115-120; Hopkins, 1942, pp. 268-273; Harris y Kalmus, 1951, pp. 32-45; Fischer y Griffin, 1964, pp. 673-686), era la vinculación del sabor amargo solamente con compuestos que contenían el grupo $N-C=S$, como feniltiocarbamida y propiltiouracilo. Sin embargo, estudios posteriores demostraron que la percepción de compuestos amargos, que no contienen el grupo $N-C=S$, es influenciada por el genotipo de compuestos con este grupo (Drewnowski y Rock, 1995, pp. 506-511; Guo y Reed, 2001, pp. 111-142). Por tal razón, para tener un mejor concepto del sabor amargo y la percepción de este sabor en los humanos, se han realizado estudios con compuestos como la quinina, feniltiocarbamida, propiltiouracilo, urea, benzoato de sodio, debido a su propiedad de ser amargos (Hoover, 1956, pp. 345-348; Drewnowski, Henderson y Barratt, 2001, pp. 535-538; García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80).

2.5.1 Benzoato de sodio

El benzoato de sodio, conocido también como benzoato de sosa o sal sódica, es una sal del ácido benzoico de apariencia blanca cristalina. Este compuesto

se lo puede encontrar de forma natural en frutas y especias como manzanas, cerezas, ciruelas, clavos de olor y canela. De igual manera, es utilizado en muchos alimentos y productos como conservante. Se lo puede encontrar en refrescos, jugos, vinagre, fármacos y cosméticos (Med-Health, s.f.). Se ha determinado que el compuesto benzoato de sodio puede ser imperceptible o producir cuatro sabores gustativos: dulce, amargo, agrio o salado. Este compuesto ha sido utilizado principalmente en investigaciones enfocadas en la percepción del sabor amargo, para dividir la población en dos clases: “catadores” y “no catadores” del sabor. Los estudios con este compuesto han determinado que 7 de cada 10 personas detectan el benzoato de sodio con un sabor amargo, en alimentos o bebidas (Hoover, 1956, pp. 345-348; González, García y González, 2005; Drewnowski y Rock, 1995, pp. 506-511).

2.5.2 Compuestos tóxicos del sabor amargo y causa de enfermedades

Como se mencionó en la sección 2.5, gran variedad de plantas alimenticias contienen un alto contenido de fenoles, flavonoides, isoflavones, terpenos, glucosinolatos y polifenoles, perjudiciales para quien los consume en altas cantidades (Tabla 4) (Sandell y Breslin, 2006, pp. 792-794).

Tabla 4. Clasificación de las sustancias con actividad deletérea presentes en alimentos vegetales.

Efecto tóxico	Estructura química	Familia, género, especie o alimento
Sustancias hemotóxicas		
Lectinas (fitohemoaglutinas)	Proteínas/glucoproteínas	Leguminosas
Compuestos fávicos	β -glucósidos	<i>Vicia faba</i>
Sustancias productoras de HCN	Glucósidos	Leguminosas, rosáceas, gramíneas y otras
Compuestos bociógenos	Glucosinolatos	Crucíferas
Sustancias neurotóxicas		
Latirógenos	Aminoácidos no proteicos	<i>Lathirus</i> spp.
Glucocalcoides de las patatas	Glucocalcoides	<i>Solanum</i> spp.
Compuestos con actividad estrogénica	Isoflavonas	Soja
	Cumarinas	Leguminosas
	Lactonas del ác.	

	Resorcúclico	
Compuestos hepatotóxicos y carcinogénicos	Alcaloides de pirrolizidina	<i>Boraginaceae, Compositae, Leguminoseae y otras</i>
Compuestos con efecto vasopresor	Metil-xantinas	Café, té, cacao
	Aminas (tiramina y otras)	Quesos, chocolate, aguacate, vino
Sustancias psicoactivas	Miristicina	Nuez moscada, pimienta negra
	Carotatoxina	Apio, zanahorias
	Alcaloides (mescalina, dioscorina, psilocibina)	cactus, batata
	Metil-xantinas	Café, té, cacao
Compuestos cancerígenos		
Cicasina	Glucósido	<i>Cycacedaea</i>
Safrol, estragol	Metilendioxicenos	Azafrán, estragón
Quercetina	Flavona	Pieles de los cítricos
	Taninas	Frutas tropicales, café, cacao, té

Tomado y adaptado de (Camean y Repetto, 2012, pp 192).

La amargura de un compuesto puede estar relacionada a su potencial toxicidad, y la habilidad que poseen ciertas personas de detectar toxinas amargas, les ofrecen una ventaja para la prevención en la ingesta de estas plantas alimenticias. En otras palabras, individuos que perciben estos compuestos pueden evitar el consumo de ciertos alimentos amargos, mientras que personas “no catadoras”, tienden a ingerir más alimentos amargos y acumular estas sustancias tóxicas en su organismo, haciéndolos más propensos a adquirir una enfermedad (Duffy *et al.*, 2004, pp. 1629-1637; Guo y Reed, 2001, pp. 111-142).

Dietas ricas en vegetales y frutas han sido relacionadas a ciertas enfermedades y diferentes tipos de cáncer. Han existido reportes que han asociado diversas enfermedades con la percepción del sabor, entre las cuales se encuentran: la diabetes, el cáncer de tiroides, el cáncer de colón, las úlceras gastrointestinales, entre otros (Guo y Reed, 2001, pp. 111-142).

De igual manera, se ha determinado que los “supercatadores” del sabor amargo tienen una aversión sensorial al consumo de bebidas alcohólicas, lo cual hace a los “no catadores” propensos a sufrir alcoholismo (Duffy *et al.*,

2004, pp. 1629-1637). La acumulación de los glucosinolatos, presentes generalmente en plantas del género *Brassica*, genera una disminución de la función tiroidea y el desarrollo de bocio (Camean y Repetto, 2012, pp 192).

Se ha determinado que los individuos con mayor sensibilidad a compuestos amargos sufren de obesidad y enfermedades coronarias. Esto se debe a que evitan alimentos con sabor amargo, como vegetales y frutas, y su dieta diaria se basa en comida no saludable, cuyos ingredientes principales son grasas y carbohidratos (Keller y Tepper, 2004, pp. 904-912).

2.6 ANÁLISIS DE LA PERCEPCIÓN DEL SABOR AMARGO A NIVEL MUNDIAL

En cuanto a la percepción de los sabores, existe un determinado grupo de personas que tiene la capacidad de percibir un sabor y otro grupo que no lo percibe. Esta propiedad se ha mantenido en la población y ha influenciado las preferencias alimenticias y la nutrición de cada individuo (García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80). A lo largo del tiempo, las investigaciones se han basado en entender la genética poblacional, enfocadas en la diferencia de percepción del sabor amargo. Estas investigaciones han utilizado PTC y PROP, como compuestos amargos principales, para determinar la habilidad de percepción de varias poblaciones. A partir de la relación genotipo-fenotipo, ha sido posible determinar el porcentaje de “catadores” y “no catadores” de varias poblaciones, y a la vez, se ha podido determinar la frecuencia de los haplotipos (Guo y Reed, 2001, pp. 111-142). A pesar de todos los estudios realizados en varias poblaciones del mundo, no se han reportado porcentajes de “catadores” o “no catadores” de la población ecuatoriana, y de igual manera, no se tienen datos de la frecuencia de los haplotipos presentes en los individuos de este país (Paz-y-Miño, 2013, pp- 22-24).

2.6.1 Porcentaje de catadores y no catadores en la población mundial

A partir del descubrimiento de la diferencia en la percepción del sabor amargo del químico Arthur Fox, se han realizado cientos de estudios en poblaciones de todo el mundo (Anexo 1). Se ha determinado que alrededor del 50% de poblaciones con origen australiano, no perciben el sabor amargo del compuesto PTC. De igual manera, el 27% de poblaciones con origen europeo no perciben este sabor. Sin embargo, las poblaciones de África, Asia y América, tienen un porcentaje bajo de no catadores de sabor amargo, con tan solo 10% (Guo y Reed, 2001, pp. 111-142). A partir de estos estudios, Kim, Breslin, Reed y Drayna (2004, pp. 448-453) concluyeron que aproximadamente el 75% de los individuos a nivel mundial perciben los compuestos PTC y PROP como amargos, mientras que el 25% restante de la población no percibe este sabor.

2.6.2 Frecuencia de haplotipos

El análisis de haplotipos en poblaciones ha permitido identificar cuál o cuáles de los cinco haplotipos determinados son los más frecuentes. A partir de las investigaciones, se ha observado que existen dos haplotipos predominantes en las poblaciones mundiales, PAV y AVI. Como se observa en la Tabla 5, los estudios realizados en población europea, revelaron que aproximadamente el 49% tienen haplotipo PAV, 47% AVI y 3% AAV. En poblaciones asiáticas, se identificaron solo dos haplotipos PAV y AVI, con porcentajes de 58% y 42% respectivamente. En la población africana, se observaron los cinco haplotipos predominando PAV (Kim *et al.*, 2004, pp. 448-453).

Tabla 5. Variación de haplotipos en poblaciones mundiales.

Haplotipos	Frecuencias			
	Europa	Asia	África	Nativos América
PAV	0,49	0,58	0,5	1,0
AVI	0,47	0,42	0,25	
AAV	0,03		0,04	
AAI			0,17	
PVI			0,04	

Tomado y adaptado de (Kim *et al.*, 2004, pp. 448-453).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA

El presente proyecto se desarrolló mediante los métodos inductivo, deductivo y experimental, con incursión en la investigación básica y aplicada. Esta investigación fue avalada por el comité de bioética de la Universidad De Las Américas bajo el código 2015-0702 “*Estudio de enfermedades genéticas en el Ecuador*” (Anexo 2).

Para el desarrollo de esta investigación se analizaron un total de 110 individuos del cantón Quito. Se realizó una encuesta biomédica previa a cada individuo, para obtener información sobre varios parámetros como: edad, antecedentes familiares, enfermedades, ingesta de fármacos o drogas, consumo de café, alcohol y tabaco. Para determinar el fenotipo de cada individuo, se realizó una evaluación sensorial con benzoato de sodio a diferentes concentraciones y se estratificó bajo cinco rangos sensoriales.

Para la obtención de material biológico, se extrajeron muestras de sangre periférica de cada individuo en tubos con anticoagulante EDTA-K3, para posteriormente obtener su ADN y almacenarlas a -20°C. Para determinar el genotipo de los individuos, se obtuvo el ADN de las muestras de sangre periférica y se verificó la calidad y cantidad del mismo. Posterior a la obtención del ADN, se realizó una reacción en cadena de la polimerasa de punto final, con la finalidad de amplificar los fragmentos de interés, y a su vez, determinar la presencia de los polimorfismos de nucleótido simple rs713598, rs1726866 y rs10246939 en el gen *TAS2R38*.

El tamaño del primer fragmento amplificado fue de 321 pares de bases, donde se amplificó el polimorfismo rs713598. El tamaño del segundo fragmento amplificado fue de 588 pares de bases, donde se amplificaron los polimorfismos rs1726866 y rs10246939. Los productos de PCR fueron identificados y comprobados mediante visualización en geles de agarosa al 2%. Una vez confirmadas las correctas amplificaciones, se realizaron diferentes

secuenciaciones capilares para determinar la presencia o ausencia de las variantes 145 C>G, 785 C>T y 886 G>A del gen *TAS2R38*.

Una vez determinada la presencia o ausencia de los tres polimorfismos de nucleótido simple, se construyó el haplotipo de cada individuo. Finalmente se procedió a la recopilación de la información de los fenotipos y haplotipos, para determinar la asociación de la percepción del sabor amargo con el genotipo de cada individuo. De igual manera, se asociaron los datos de los hábitos que fueron recolectados en las encuestas con la percepción del sabor amargo y haplotipos de los individuos.

3.2 SELECCIÓN DE INDIVIDUOS DEL CANTÓN QUITO

La población analizada en esta investigación estuvo conformada por 110 individuos de nacionalidad ecuatoriana, pertenecientes al cantón Quito. De toda esta población, el 59% (n=65) de individuos fueron de sexo femenino y el 41% (n=45) de individuos de sexo masculino, todos entre 17 y 62 años de edad.

Se realizó una encuesta biomédica a cada individuo con la finalidad de obtener información y se desarrolló una base de datos con varios parámetros informativos: edad, antecedentes de enfermedades familiares, enfermedades, ingesta de fármacos o drogas, consumo de café, alcohol y tabaco.

3.3 EVALUACIÓN SENSORIAL CON BENZOATO DE SODIO

El fenotipo de los participantes fue asociado con la percepción del sabor amargo, acorde a Kim *et al.* (2003, pp. 1221-1225), quienes establecieron tres características fenotípicas según la capacidad de percibir el sabor amargo a diferentes concentraciones: capacidad absoluta, capacidad limitada e incapacidad para percibir el sabor amargo. Como paso inicial, cada individuo degustó una solución de benzoato de sodio (1 mg/L) y se procedió a aumentar la concentración (0.001%, 0.08%, 0.25%, 0.40% y 0.75%) hasta que percibiese el sabor amargo. Entre cada evaluación sensorial, al individuo se le

proporcionó agua con el fin de limpiar las papilas gustativas y garantizar que cada degustación no se vea afectada por las anteriores. Para dictaminar la percepción del sabor amargo (fenotipo), en cada evaluación sensorial los individuos seleccionaron uno de los siguientes rangos paramétricos en cuanto a la percepción del sabor: 1 indetectable, 2 débil, 3 moderada, 4 fuerte, 5 muy fuerte.

3.4 OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE PERIFÉRICA

Se recolectaron muestras de sangre periférica en tubos con anticoagulante EDTA-K3 (Concentración 1.8 mg de EDTA anhidro por mL de sangre). Es importante recalcar que la toma de muestras contó con el consentimiento informado previo a la recolección de la sangre periférica, en el que los participantes de la investigación aceptaron colaborar al momento de firmar el documento (Anexo 3).

3.5 EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO A PARTIR DE SANGRE PERIFÉRICA

Una vez obtenidas las muestras de sangre periférica de la población, se procedió a extraer el ADN genómico mediante el protocolo y kit comercial PureLink™ Genomic DNA (Invitrogen™, California).

Para empezar, se precalentó el bloque térmico AccuBlock™ Digital Cry Block (Labnet, USA) a una temperatura de 55° C. A continuación, se colocó un volumen de 200 µL de muestra de sangre periférica de cada individuo en un microtubo estéril de 1,5 mL y se añadieron 20 µL de Proteinasa K (Invitrogen™, California) y 20 µL de RNasa A (Invitrogen™, California), provistas por el kit. Se homogenizó mediante VortexGene2 (Scientific Industries) durante 1 minuto y se dejó la muestra en incubación por 2 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se colocaron en cada tubo 200 µL de Genomic Lysis Binding Buffer, provisto por el kit, y se mezcló brevemente con el vórtex hasta obtener una muestra homogénea. Cada tubo se colocó en el bloque térmico a

55° C durante 10 minutos para acelerar el proceso de digestión y desnaturalización de proteínas y lípidos. Completados los 10 minutos, se procedió a retirar los tubos del bloque térmico y se añadieron 200 µL de etanol 96-100% al lisado. Se obtuvo una solución homogénea mediante vórtex durante 5 segundos. A continuación, se recolectó el volumen total generado (aproximadamente 640 µL) y se traspasó a una columna de purificación PureLink™, provista por el kit. Cada tubo fue rotulado de acuerdo al código de cada individuo según la base de datos. Las columnas fueron centrifugadas a 10.000 g por 1 minuto a temperatura ambiente. Posteriormente, se procedió a desechar el tubo de colección con el líquido remanente y se colocó la columna de purificación en un nuevo y estéril tubo de colección. A cada columna de purificación se añadieron 500 µL de Wash Buffer 1, provisto por el kit y preparado con base de etanol grado analítico, y se centrifugó la columna a 10.000 g durante 1 minuto a temperatura ambiente. Se descartó el tubo de colección y se colocó la columna de purificación en un nuevo y estéril tubo de colección. Nuevamente, a cada columna de purificación se añadieron 500 µL de Wash Buffer 2, provisto por el kit y preparado con base de etanol grado analítico, y se centrifugó a máxima velocidad durante 3 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se desechó el tubo de colección, y se colocó la columna de purificación en un nuevo microtubo estéril de 1,5 mL. A continuación, se añadieron 50 µL de buffer de elusión PureLink™, provisto por el kit, en la zona central de la membrana interna de la columna de purificación y se dejó incubar durante 1 minuto a temperatura ambiente. Cada columna se centrifugó a máxima velocidad durante 3 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, se descartó la columna de purificación y se conservó y rotuló cada microtubo de 1,5 mL que contenía el ADN genómico purificado. Las muestras de ADN fueron guardadas inmediatamente a -20° C para evitar la degradación molecular.

3.6 ANÁLISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO DE ADN

3.6.1 Análisis cualitativo

Para determinar la calidad de ADN de cada una de las muestras, se realizaron diferentes pruebas de electroforesis horizontal mediante geles de agarosa al 1%, disueltas en TBE 1X (TRIS, ácido bórico y EDTA) con Bromuro de Etidio (1 μ L por cada 20 mL de gel), para poder visualizar los diferentes pesos de las moléculas. Como solución precipitante se utilizó Azul de Bromofenol (Promega, USA), a razón de 1 μ L de solución de carga por cada 4 μ L de muestra de ADN. Todas las muestras extraídas fueron sometidas a una carga continua de 120 Voltios durante 25 minutos. Se obtuvieron los tamaños moleculares específicos de todas las moléculas de ADN mediante el marcador Low DNA Mass Ladder (Invitrogen™, California), los cuales fueron visualizados bajo un transiluminador con luz ultravioleta ImageQuant 300 (General Electric, Fairfield, SC).

3.6.2 Análisis cuantitativo

Para determinar las diferentes concentraciones (ng/ μ L) y pureza de las muestras de ADN se utilizó el espectrofotómetro Nanodrop 2000® (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts). Posterior a la medición de las concentraciones, se realizaron diluciones de todas las muestras madres, con H₂O Milli-Q Autoclavada, a un volumen final de 20 μ L y una concentración de ácidos nucleicos de 30 ng/ μ L, la misma que fue comprobada con una nueva medición.

3.7 DETERMINACIÓN DE LOS GENOTIPOS

Los tres polimorfismos analizados, rs713598, rs1726866 y rs10246939, fueron estudiados mediante la técnica de PCR de punto final, con cebadores específicos y secuenciación tipo Sanger con electroforesis capilar. Así mismo,

la correcta amplificación de las regiones de interés fue corroborada mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 2%, como se mencionó anteriormente en el apartado 3.6.1. Posterior a la correcta amplificación de los fragmentos, se procedió a realizar diferentes secuenciaciones tipo Sanger con electroforesis capilar para determinar los tres polimorfismos en cada una de las amplificaciones de las muestras.

3.7.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La técnica de la reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR por sus siglas en inglés (*Polymerase chain reaction*), es utilizada debido a su alta discriminación y fiabilidad en cada amplificación. Así mismo, esta técnica además de realizar múltiples copias de una determinada región, permite evaluar fragmentos que contengan uno o más polimorfismos de nucleótidos simples, conocido como SNP's por sus siglas en inglés (*Single Nucleotide Polymorphism*), debido a la acción de replicación de la enzima específica ADN polimerasa sobre las hebras del ADN (Watson *et al.*, 2008; Bartlett y Stirling, 2003, pp. 3-6).

El ADN que se obtuvo a partir de las muestras de sangre periféricas, se utilizó como templado para la amplificación de los fragmentos del gen *TAS2R38* que contenían los polimorfismos rs713598, rs1726866 y rs10246939.

3.7.2 Diseño de cebadores específicos para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Para el estudio de los tres polimorfismos, rs713598, rs1726866 y rs10246939, se diseñaron tres tipos de cebadores que limitaban y amplificaban diferentes zonas de interés (Tabla 6). Se utilizó la herramienta de diseño de cebadores de National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) según la secuencia del gen *TAS2R38* (OMIM: 607751).

Tabla 6. Cebadores diseñados para la amplificación del gen *TAS2R38*.

Cebadores	Secuencia
<i>TAS2R38</i> 1-FW	5'-ATGTTGACTCTAACTCGCACCG-3'
<i>TAS2R38</i> 1-RV	5'-GCACAGTGTCCGGGAATCTG-3'
<i>TAS2R38</i> DSA1-FW	5'-TCCGCACTGTGTCCTATGAA-3'
<i>TAS2R38</i> DSA2-RV	5'-CCAGAGCAGAATGGTCATCA-3'
<i>TAS2R38</i> DSANE2-FW	5'-TCCAAGCTCATCCGTTTCTC-3'
<i>TAS2R38</i> DSANE1-RV	5'-GAGGTTGGCTTGGTTTGC-3'

Los tres juegos de cebadores fueron utilizados en diferentes ensayos de PCR para establecer la amplificación de la zona de interés y la generación de una sola zona de amplificación que incluían los tres polimorfismos rs713598, rs1726866 y rs10246939. Finalmente se seleccionó dos juegos de pares de cebadores que amplificaban dos fragmentos junto con los tres polimorfismos anteriormente mencionados (Tabla 7).

Tabla 7. Cebadores específicos para la amplificación de los fragmentos de aproximadamente 321 pb. y 588 pb. del gen *TAS2R38*.

Cebadores	Secuencia	Fragmento	Polimorfismo
<i>TAS2R38</i> .1-FW	5'-ATGTTGACTCTAACTCGCACCG-3'	321 pb.	rs713598
<i>TAS2R38</i> .DSANE1-RV	5'-GAGGTTGGCTTGGTTTGC-3'		
<i>TAS2R38</i> .DSANE2-FW	5'-TCCAAGCTCATCCGTTTCTC-3'	588 pb.	rs1726866/rs10246939
<i>TAS2R38</i> .DSA2-RV	5'-CCAGAGCAGAATGGTCATCA-3'		

3.7.3 Reacción de PCR de punto final para el polimorfismo rs713598 (145 C>G) del gen *TAS2R38*

Se procedió a realizar la reacción de PCR para la amplificación del fragmento de 321 pb. del gen *TAS2R38*, que amplificaba el polimorfismo rs713598. Este procedimiento se lo realizó dentro de un cuarto aislado bajo una cámara de flujo laminar, con el fin de mantener un ambiente sin contaminación. Para la amplificación del fragmento, se ajustó a un volumen final de reacción de 25 µL por cada muestra, la cual estuvo compuesta por: 16,75 µL de H₂O Milli-Q, 2,5 µL de 10X Green GoTaq[®] Reaction Buffer (Promega, USA), 1 µL de MgCl₂ (50mM), 0,5 µL de dNTP's (dideoxinucleótidos trifosfato a 10 mM cada uno), 1

μL del cebador FW 5'-ATGTTGACTCTAACTCGCACCG-3' (10 μM), 1 μL de cebador Rv 5'-GAGGTTGGCTTGGTTTGC-3' (10 μM), 0.25 μL de *Taq* DNA Polimerasa (5 U/ μL) (Invitrogen™, California) y 2 μL de templado de ADN (30 ng/ μL).

3.7.3.1 Estandarización en la T_m de los cebadores en la reacción de PCR

Se realizó una estandarización en la T_m de los cebadores FW 5'-ATGTTGACTCTAACTCGCACCG-3' y Rv 5'-GAGGTTGGCTTGGTTTGC-3', bajo un gradiente de temperatura en el termociclador MultiGene™ OptiMax Thermal Cycler 115V (Labnet, USA).

La reacción fue llevada a cabo bajo las siguientes condiciones: denaturación inicial de 4 minutos a 94°C; seguido de 32 ciclos conformados por 30 segundos a 94°C y 30 segundos a 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61 y 62°C para que se anillen los cebadores; 45 segundos a 72°C para la extensión del fragmento; y una elongación final de 7 minutos a 72°C.

La comprobación de la amplificación del fragmento de 321 pb. del gen *TAS2R38* a diferentes temperaturas de melting, se realizó mediante una electroforesis horizontal en gel de agarosa al 2%. Se utilizó el marcador, anteriormente mencionado, sin embargo, no se utilizó Azul de Bromofenol (Promega, USA), debido a que el buffer Green GoTaq® (Promega, USA), contiene dos colorantes (azul y amarillo) que se separan durante la electroforesis y un compuesto que aumenta la densidad de la muestra, permitiendo así la carga directa de los amplicones en el gel (<https://www.promega.com/>). La migración de los amplicones se realizó a 120 Voltios durante 25 minutos y la diferente intensidad en las bandas amplificadas se observaron con la ayuda de un transiluminador con luz ultravioleta ImageQuant 300 (General Electric, Fairfield, SC).

3.7.3.2 Amplificación del polimorfismo rs713598 (145 C>G) del gen *TAS2R38*

A partir de los parámetros obtenidos en la estandarización, la reacción final que se utilizó para amplificar todas las muestras fue llevada a cabo bajo las siguientes condiciones: denaturación inicial de 4 minutos a 94°C; 32 ciclos conformados por 30 segundos a 94°C y 30 segundos a 56°C; 45 segundos a 72°C; y una elongación final de 7 minutos a 72°C.

3.7.4 Reacción de PCR de punto final para los polimorfismos rs1726866 (785 C>T) y rs10246939 (886 G>A) del gen *TAS2R38*

Se procedió a realizar la reacción de PCR para la amplificación del fragmento de 588 pb. del gen *TAS2R38*, que amplificaba los polimorfismos rs1726866 y rs10246939. Se trabajó bajo las mismas condiciones de esterilidad mencionadas en la sección 3.7.3, y para la amplificación del fragmento se ajustó a un volumen final de reacción de 25 µL por cada muestra, la cual estuvo compuesta por: 16,75 µL de H₂O Milli-Q, 2,5 µL de 5X Green GoTaq[®] Reaction Buffer (Promega, USA), 1 µL de MgCl₂ (50mM), 0,5 µL de dNTP's (dideoxinucleótidos trifosfato a 10 mM cada uno), 1 µL del cebador FW 5'-TCCAAGCTCATCCGTTTCTC-3' (10 µM), 1 µL de cebador Rv 5'-CCAGAGCAGAATGGTCATCA-3' (10 µM), 0.25 µL de *Taq* DNA Polimerasa (5 U/µL) (Invitrogen[™], California) y 2 µL de templado de ADN (30 ng/µL).

3.7.4.1 Estandarización en la T_m de los cebadores en la reacción de PCR

Se realizó una estandarización en la T_m de los cebadores FW 5'-TCCAAGCTCATCCGTTTCTC-3' y Rv 5'-CCAGAGCAGAATGGTCATCA-3', bajo un gradiente de temperatura en el termociclador MultiGene[™] OptiMax Thermal Cycler 115V (Labnet, USA).

La reacción fue llevada a cabo bajo las siguientes condiciones: denaturación inicial de 5 minutos a 95°C; seguido de 32 ciclos conformados por 30 segundos a 94°C y 30 segundos a 55,5; 56,5; 57,5; 58,5; 59,5; 60,5; 61,5 y 62,5°C para que se anillen los cebadores; 45 segundos a 72°C para la extensión del fragmento; y una elongación final de 10 minutos a 72°C.

La comprobación de la amplificación del fragmento de 588 pb. del gen *TAS2R38* a diferentes temperaturas de melting, se realizó mediante una electroforesis horizontal bajo las mismas condiciones descritas en el apartado 3.7.3.1.

3.7.4.2 Amplificación de los polimorfismos rs1726866 (785 C>T) y rs10246939 (886 G>A) del gen *TAS2R38*

A partir de los parámetros obtenidos en la estandarización, la reacción final que se utilizó para amplificar todas las muestras fue llevada a cabo bajo las siguientes condiciones: denaturación inicial de 5 minutos a 95°C; 32 ciclos conformados por 30 segundos a 94°C y 30 segundos a 57,5°C; 45 segundos a 72°C; y una elongación final de 10 minutos a 72°C.

Las amplificaciones de los fragmentos de 588 y 321 pb. del gen *TAS2R38*, fueron comprobadas mediante una electroforesis horizontal en gel de agarosa al 2% y observadas en un transiluminador con luz ultravioleta ImageQuant 300 (General Electric, Fairfield, SC).

3.8 SECUENCIACIÓN TIPO SANGER CON ELECTROFORESIS CAPILAR

3.8.1 Purificación de los productos de PCR por Ampure®

Una vez confirmada la correcta amplificación de los fragmentos de 321 y 588 pb. del gen *TAS2R38*, se procedió a purificar cada fragmento con el método de purificación Agencourt AMPure® XP (Beckman Coulter, California).

Como paso inicial, se equilibró el AMPure® a temperatura ambiente y se homogenizó mediante vórtex. A continuación, en tubos de PCR estériles de 0,2 mL, se colocaron 15 µL de AMPure® y 10 µL de producto de PCR. Las muestras fueron mezcladas mediante vórtex e incubadas durante 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se colocó cada tubo en una placa magnética y se dejó en reposo durante 5 minutos hasta observar la formación de un anillo. Transcurrido este tiempo, se procedió a aspirar el líquido cuidadosamente sin tocar el anillo en las paredes de cada tubo y evitando retirar los tubos de la placa magnética. Se adicionó a cada tubo 200 µL de etanol grado 70% fresco y se incubó durante 30 segundos. Se procedió a eliminar el etanol por inversión sobre un papel absorbente manteniendo los tubos en la placa magnética. Se repitió el lavado con etanol grado 70%, la incubación durante 30 segundos y su descarte. Evitando retirar los tubos de la placa magnética, se eliminaron los remanentes de etanol en el fondo de cada tubo, y se dejó secar los tubos en la incubadora a 37°C durante 15 minutos. Una vez transcurrido el tiempo establecido, se retiraron los tubos de la placa magnética y se agregaron 30 µL de H₂O Milli-Q. Se procedió a re-suspender las muestras mediante vórtex hasta observar que el líquido se tornara color marrón. Los tubos fueron colocados nuevamente en la placa magnética e incubados durante 30 segundos a temperatura ambiente. Finalmente, se extrajo de cada tubo el líquido sin tocar el anillo formado en las paredes y se colocó en nuevos tubos de PCR estériles de 0,2 mL. Los amplificados de ADN purificados fueron almacenados a -20°C.

3.8.2 Reacción en cadena de la polimerasa de secuencia

Una vez purificado el fragmento de PCR de 321 pb. del gen *TAS2R38*, se procedió a realizar una PCR de secuencia para el polimorfismo rs713598. Se ajustó a un volumen final de reacción de 6 µL por cada muestra, la cual estuvo compuesta por: 1,5 µL de H₂O Milli-Q; 0,5 µL de BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems™, USA) utilizado para fragmentos cortos; 0,9 µL de BigDye® Terminator v1.1/3.1 Sequencing Buffer (5x) (Applied

Biosystems™, USA); 1,6 µL del cebador FW 5'-ATGTTGACTCTAACTCGCACCG-3' (1 µM) y 1,5 µL de PCR purificado.

Así mismo, después de la purificación del fragmento de PCR de 588 pb. del gen *TAS2R38*, se procedió a realizar una PCR de secuencia para los polimorfismos rs1726866 y rs10246939. Se ajustó a un volumen final de reacción de 6 µL por cada muestra, la cual estuvo compuesta por: 1,5 µL de H₂O Milli-Q; 0,5 µL de BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems™, USA) utilizado para fragmentos largos; 0,9 µL de BigDye® Terminator v1.1/3.1 Sequencing Buffer (5x) (Applied Biosystems™, USA); 1,6 µL del cebador FW 5'-TCCAAGCTCATCCGTTTCTC-3' (1 µM) y 1,5 µL de PCR purificado.

La reacción final que se utilizó para la PCR de secuencia fue llevada a cabo en el termociclador SureCycler 8800 (Agilent Technologies, USA) bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 96°C por 3 minutos; seguido de 25 ciclos conformados por una segunda desnaturalización a 96°C por 10 segundos, hibridación a 50,5°C por 5 segundos y elongación a 60°C por 4 minutos.

3.8.3 Purificación de PCR de secuencia por Cleanseq®

Los nuevos fragmentos amplificados por la PCR de secuencia fueron purificados con el método de purificación Agencourt CleanSEQ® (Beckman Coulter, California).

Previamente, se equilibró el CleanSEQ® a temperatura ambiente y se homogenizó mediante vórtex. En tubos de PCR estériles de 0,2 mL, se colocaron 2 µL de CleanSEQ®, 16,2 µL de etanol grado 85% fresco y 6 µL de PCR de secuencia. Las muestras fueron mezcladas mediante vórtex y colocadas en una placa magnética en reposo durante 3 minutos hasta observar la formación de un anillo. Una vez transcurrido este tiempo, se procedió a aspirar el líquido cuidadosamente sin tocar el anillo en las paredes de cada

tubo sin retirar los tubos de la placa magnética. Se adicionó a cada tubo 100 μL de etanol grado 85% fresco y se incubó durante 30 segundos. Se procedió a eliminar el etanol por inversión sobre un papel absorbente manteniendo los tubos en la placa magnética. Se repitió el lavado con etanol grado 85%, la incubación durante 30 segundos y su descarte. Evitando retirar los tubos de la placa magnética, se eliminaron los remanentes de etanol en el fondo de cada tubo, y se dejó secar los tubos en la incubadora a 37°C durante 15 minutos. Una vez transcurrido el tiempo establecido se retiraron los tubos de la placa magnética, se agregaron 20 μL de H₂O Milli-Q a cada una, y se re-suspendieron las muestras mediante vórtex. Posteriormente, se colocaron los tubos en la placa magnética y en el menor tiempo posible se tomaron 20 μL de cada producto. Esta cantidad se colocó en un nuevo plato de carga de secuenciación para su lectura.

3.8.4 Secuenciación de ADN mediante electroforesis capilar

La electroforesis capilar de los fragmentos se realizó en el equipo The Applied Biosystems® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Texas). El software utilizado para leer las secuencias fue el ABI PRISM® Data Collection V3.0 (Applied Biosystems, Texas). Para correr el fragmento de 321 pb. se utilizó el programa RAPIDSEC36-BD3-POP7-INY1200, mientras que el fragmento de 588 pb. fue corrido por el programa Mitochondrial. Las secuencias fueron analizadas a través del Sequencing Analysis Software 5.3.1 (Applied Biosystems, Texas). Finalmente, el alineamiento de las secuencias de cada polimorfismo se realizó en GeneBank.

3.9 CONSTRUCCIÓN DE HAPLOTIPOS

A partir del modelo de haplotipos creado por Kim *et al.* (2003, pp. 1221-1225), se construyó el haplotipo de cada individuo mediante los resultados de la secuenciación. Como se puede observar en la Tabla 8, a partir de la determinación del aminoácido Prolina (Pro) en la posición aminoacídica 49,

Alanina (Ala) en la posición aminoacídica 262 y Valina (Val) en la posición aminoacídica 296, se construyó el haplotipo PAV. De igual manera, la presencia de los aminoácidos Alanina (Ala) en la posición aminoacídica 49, Valina (Val) en la posición aminoacídica 262 e Isoleucina (Ile) en la posición aminoacídica 296, dio como resultado el haplotipo AVI. El conjunto de aminoácidos Alanina (Ala) en la posición aminoacídica 49, Alanina (Ala) en la posición aminoacídica 262 y Valina (Val) en la posición aminoacídica 296, formaron el haplotipo AAV. Finalmente el haplotipo PVI se construyó a partir de la presencia de los aminoácidos Prolina (Pro) en la posición aminoacídica 49, Valina (Val) en la posición aminoacídica 262 e Isoleucina (Ile) en la posición aminoacídica 296.

Tabla 8. Modelo de haplotipos del gen *TAS2R38* (Tomado y adaptado de: Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225).

SNP rs713598		SNP rs1726866		SNP rs10246939	Haplotipo
Pro49Ala		Ala262Val		Val296Ile	
Prolina (P)	+	Alanina (A)	+	Valina (V)	PAV
Alanina (A)	+	Valina (V)	+	Isoleucina (I)	AVI
Alanina (A)	+	Alanina (A)	+	Valina (V)	AAV
Prolina (P)	+	Valina (V)	+	Isoleucina (I)	PVI

3.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información recolectada en la encuesta biomédica fue recopilada en una base de datos. Se calcularon las frecuencias de las edades, género, hábitos y evaluación sensorial de los individuos con el benzoato de sodio. Tras la determinación genotípica de los individuos estudiados, se procedió a calcular las frecuencias genotípicas de la población estudiada. Las frecuencias se obtuvieron dividiendo el número de individuos con cada genotipo (homocigoto dominante, heterocigoto y homocigoto recesivo) para el número total de individuos. La suma de las frecuencias genotípicas para determinar el equilibrio en la población estudiada debe ser igual a 1,0.

Para determinar si existen diferencias significativas entre la asociación de la percepción del sabor amargo, en diferentes concentraciones de benzoato de sodio, y los polimorfismos y haplotipos encontrados, se realizó un análisis estadístico mediante la prueba exacta de Fisher con el software SPSS statistics 22.0 (IBM, USA) bajo licencia académica. En el análisis se utilizó el método estadístico de tablas cruzadas y se calculó la prueba exacta de Fisher, debido a que los resultados presentaron frecuencias esperadas menores que 5.

4. RESULTADOS

4.1 ENCUESTA BIOMÉDICA

El presente estudio analizó un total de 110 muestras biológicas procedentes de individuos ubicados en el cantón Quito. Todas las encuestas biomédicas realizadas en el grupo de estudio fueron analizadas en una base de datos. Para esta investigación se tomó en cuenta la edad de los individuos, antecedentes familiares, enfermedades, ingesta de fármacos o drogas, consumo de café, alcohol y tabaco. La clasificación molecular se realizó en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Las Américas.

4.1.1 Edad y sexo

De un total de 110 individuos estudiados, el 59,09% de los individuos eran de sexo femenino, mientras que el 40,91% eran de sexo masculino. La estratificación y análisis por edad de la población total mostró que la edad media fue de 19 años, cuyo rango varió entre 17 a 62 años. El 55,5% de los individuos tenían entre 17 y 19 años de edad, mientras que el 44,5% de los individuos tenían una edad superior a la edad media (Tabla 9).

Tabla 9. Frecuencia en la edad y sexo de los individuos

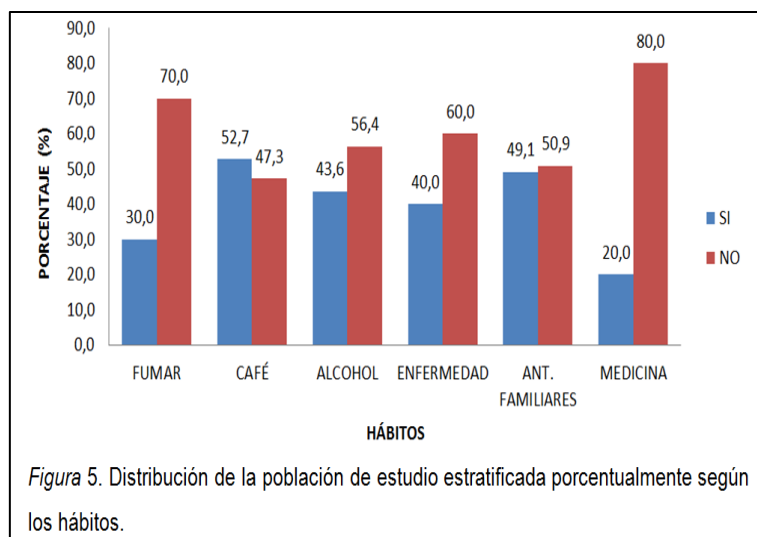
Edad	Mujeres	%	Hombres	%	N	%
17-19	38	58,5	23	46,9	61	55,5
≥20	27	41,5	22	44,9	49	44,5

4.1.2 Hábitos

Se recogieron los resultados de las encuestas biomédicas en la Tabla 10, donde se puede observar que más de la mitad de los individuos encuestados no consumen tabaco y ni medicinas. Sin embargo, aproximadamente la mitad de los individuos consume café y alcohol, y poseen una enfermedad o antecedente de enfermedades familiares (*Figura 5*).

Tabla 10. Frecuencia de los hábitos de los individuos

Característica	Fumar		Café		Alcohol		Enfermedad		A.F		Medicina	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
NO	77	70	52	47,3	62	56,4	66	60	46	41,8	88	80
SI	33	30	58	52,7	48	43,6	44	40	64	58,2	22	20



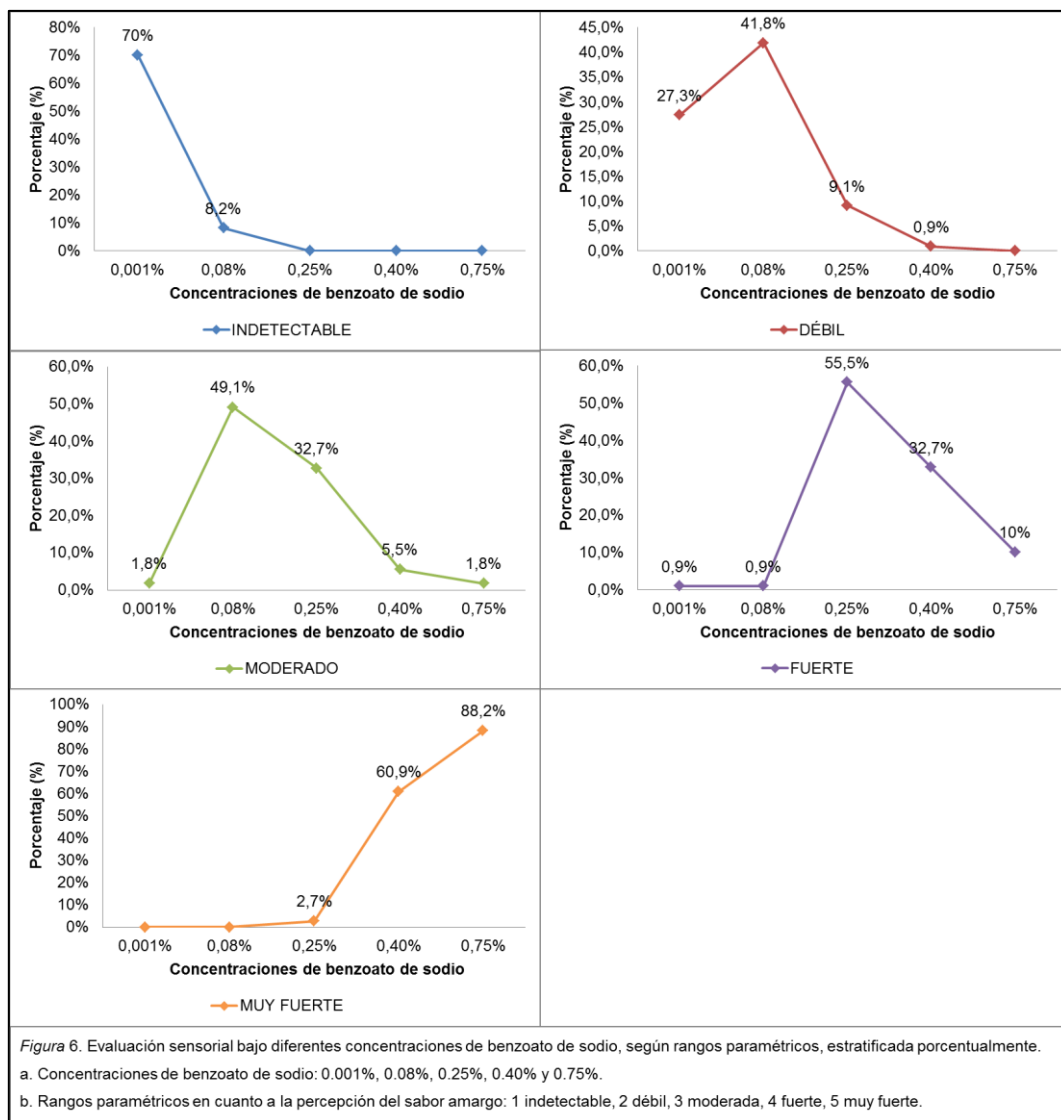
4.2 EVALUACIÓN SENSORIAL CON BENZOATO DE SODIO

Como se mencionó previamente, en la evaluación sensorial con benzoato de sodio, se estratificó porcentualmente el rango paramétrico: indetectable, débil, moderado, fuerte y muy fuerte, según la percepción del sabor amargo de los individuos en cada concentración de benzoato de sodio. Como se puede observar en la *Figura 6*, existió una lógica en cada rango de percepción del sabor amargo a una determinada concentración. Así mismo, se observó que alrededor del 70% no percibió el sabor amargo del benzoato de sodio al 0,001%, mientras que el 30% logró percibir el sabor. A medida que se incrementaba la concentración, la frecuencia en la percepción del sabor fue aumentando. En la concentración de 0,08%; el 8,2% de los individuos no percibió el sabor amargo, mientras que el 41,8% tuvo una percepción débil, el 49,1% una percepción moderada, y el 0,9% una percepción fuerte. A partir de las frecuencias, se puede establecer que la dosis umbral, a la cual la mayoría

de los individuos logró percibir el sabor amargo en el compuesto benzoato de sodio, es a una concentración de 0,08%. De igual manera, se observó que en la concentración 0,40% de benzoato de sodio, el 33% de individuos percibieron el compuesto con un sabor amargo fuerte, y el 61% de individuos con un sabor muy fuerte. Por otra parte, en la concentración 0,75% de benzoato de sodio, el 10% de individuos percibieron un sabor amargo fuerte y que el 88% percibieron un sabor amargo muy fuerte (Tabla 11).

Tabla 11. Frecuencia en la evaluación sensorial de benzoato de sodio

Evaluación Sensorial	0,001%		0,08%		0,25%		0,40%		0,75%	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%
Rangos de percepción										
Indetectable	77	70	9	8,2	0	0	0	0	0	0
Débil	30	27	46	42	10	9,1	1	0,9	0	0
Moderado	2	1,8	54	49	36	33	6	5,5	2	1,8
Fuerte	1	0,9	1	0,9	61	56	36	33	11	10
Muy fuerte	0	0	0	0	3	2,7	67	61	97	88



4.3 EXTRACCIÓN DEL ADN GENÓMICO

Mediante la aplicación del protocolo para la extracción de ácidos nucleicos a partir de sangre periférica previamente descrito en el apartado de metodología, se obtuvo un total de 110 muestras de ADN de individuos ubicados en el cantón Quito.

4.3.1 Evaluación de la concentración del ADN

Al realizar el análisis cualitativo de las muestras de ADN que fueron obtenidas a partir de sangre periférica, se observó que el ADN no se encontraba

fragmentado y la intensidad de la banda se relacionaba con la concentración del material genético.

En el análisis cuantitativo (Anexo 4), se midió las concentraciones iniciales y finales de cada muestra de ADN mediante el uso del NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts). Se obtuvo una concentración promedio de 54,03 ng/μL, siendo la concentración más baja 19,4 ng/μL y la más alta 97,3 ng/μL.

4.4 DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO

4.4.1 Amplificación de los fragmentos de interés del gen *TAS2R38*

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), bajo las condiciones y reactivos descritas previamente en el apartado de metodología, dio como resultado la amplificación de dos fragmentos de aproximadamente 321 pb. y 588 pb. como se puede observar en las *Figuras 7 y 8*.

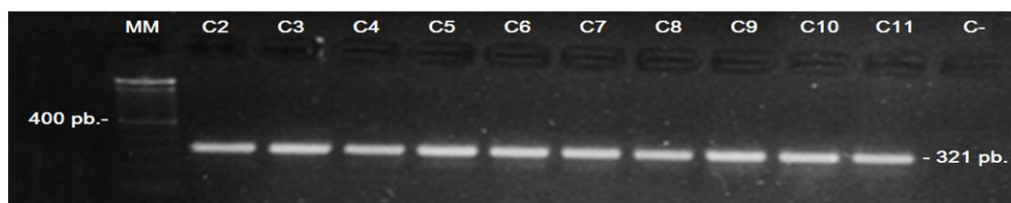
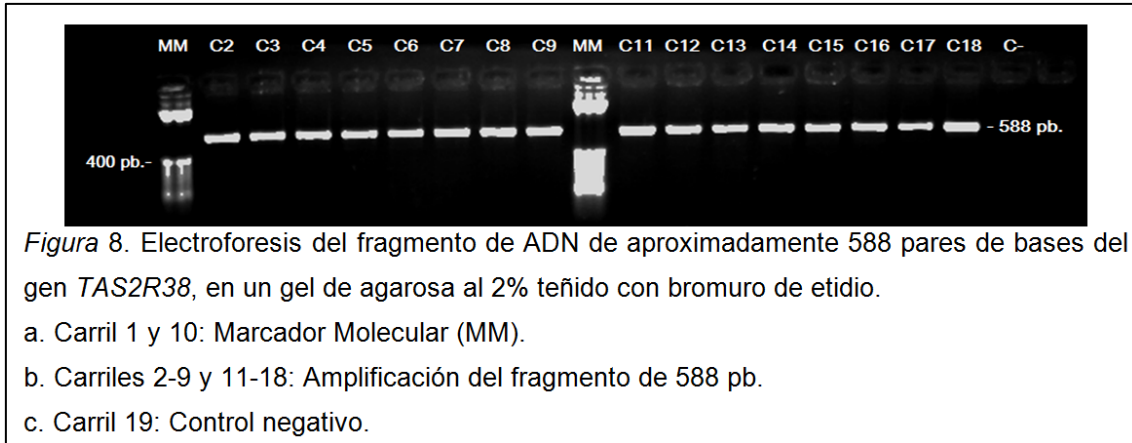


Figura 7. Electroforesis del fragmento de ADN de aproximadamente 321 pares de bases del gen *TAS2R38*, en un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio.

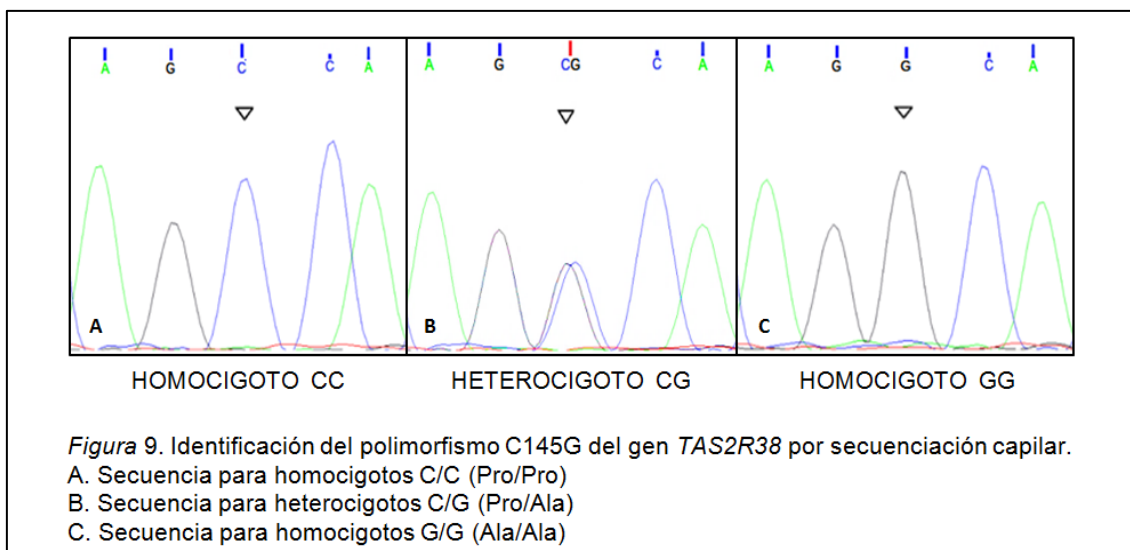
- Carril 1: Marcador Molecular (MM).
- Carriles 2-11: Amplificación del fragmento de 321 pb.
- Carril 12: Control negativo.



4.5 SECUENCIACIÓN TIPO SANGER CON ELECTROFORESIS CAPILAR

4.5.1 Análisis genético de la variante C145G

Tres tipos de resultados se identificaron mediante el software descrito en el apartado de metodología. En la *Figura 9*, en el primer cuadrante se puede observar la presencia de individuos homocigotos normales (CC), los cuales presentaron una curva azul en la posición del nucleótido 145. En el segundo cuadrante se observó la presencia de individuos heterocigotos (CG), los cuales presentaron una curva azul y negra superpuesta en la posición del nucleótido 145. Finalmente, en el tercer cuadrante, se observó la presencia de individuos homocigotos mutantes (GG), los cuales presentaron una curva negra en la posición del nucleótido 145.

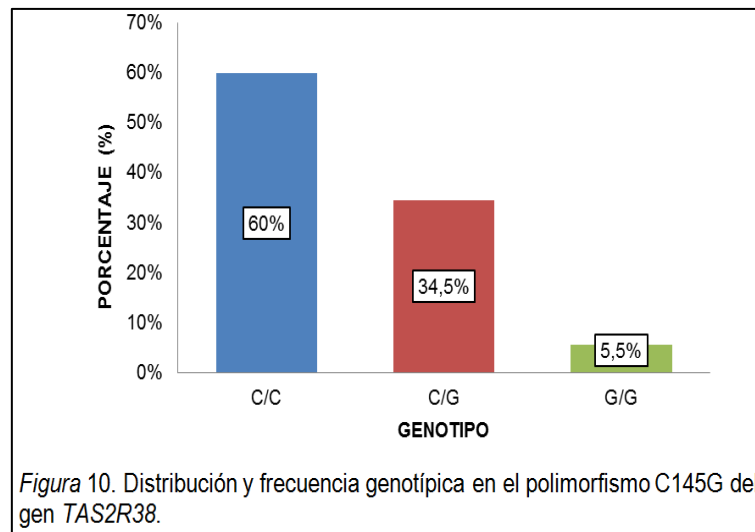


4.5.1.1 Frecuencias genotípicas

En la Tabla 12 y en la *Figura 10*, se pueden observar las diferentes distribuciones de frecuencias genotípicas encontradas en la variante C145G del gen *TAS2R38*. A partir de la secuenciación capilar, se encontró una frecuencia genotípica de 60% en homocigotos normales (CC), 34,5% en heterocigotos (CG) y 5,5% en homocigotos mutantes (GG).

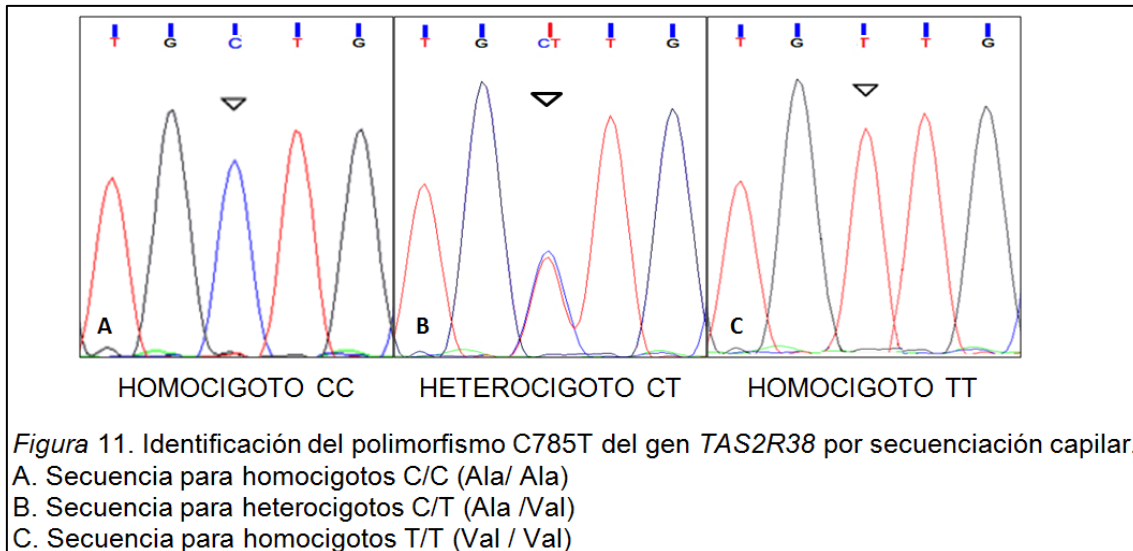
Tabla 12. Distribución y frecuencias genotípicas de los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen *TAS2R38*.

Genotipo	SNP rs713598			SNP rs1726866			SNP rs10246939		
	C145G	Frec.	%	C785T	Frec.	%	G886A	Frec.	%
Homocigoto Dominante	C/C	66	60	C/C	69	62,7	G/G	66	60
Heterocigoto	C/G	38	34,5	C/T	36	32,7	A/G	39	35,5
Homocigoto Recesivo	G/G	6	5,5	T/T	5	4,5	A/A	5	4,5



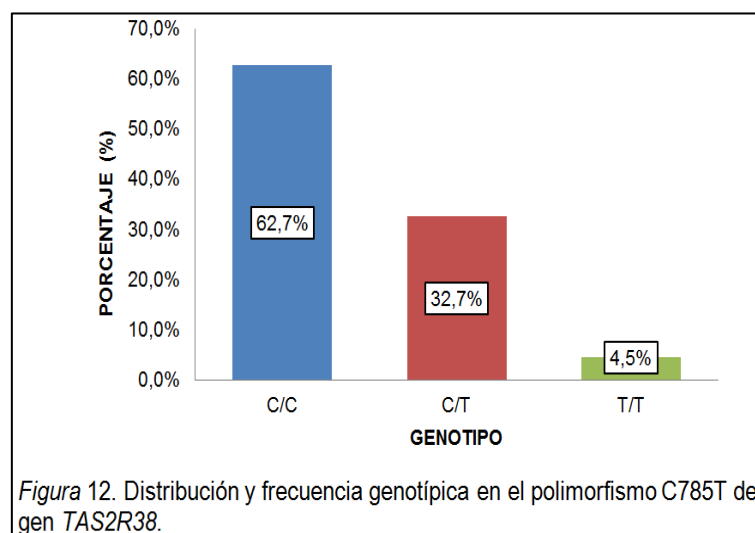
4.5.2 Análisis genético de la variante C785T

De igual manera, mediante el software de secuenciación, se observaron tres tipos de resultados. En la *Figura 11*, en el primer cuadrante se puede observar la presencia de individuos homocigotos normales (CC), los cuales presentaron una curva azul en la posición del nucleótido 785. En el segundo cuadrante, se puede observar la presencia de individuos heterocigotos (CT), los cuales presentaron una curva azul y roja superpuesta en la posición del nucleótido 785. Finalmente, en el tercer cuadrante, se puede observar la presencia de individuos homocigotos mutantes (TT), los cuales presentaron una curva roja en la posición del nucleótido 785.



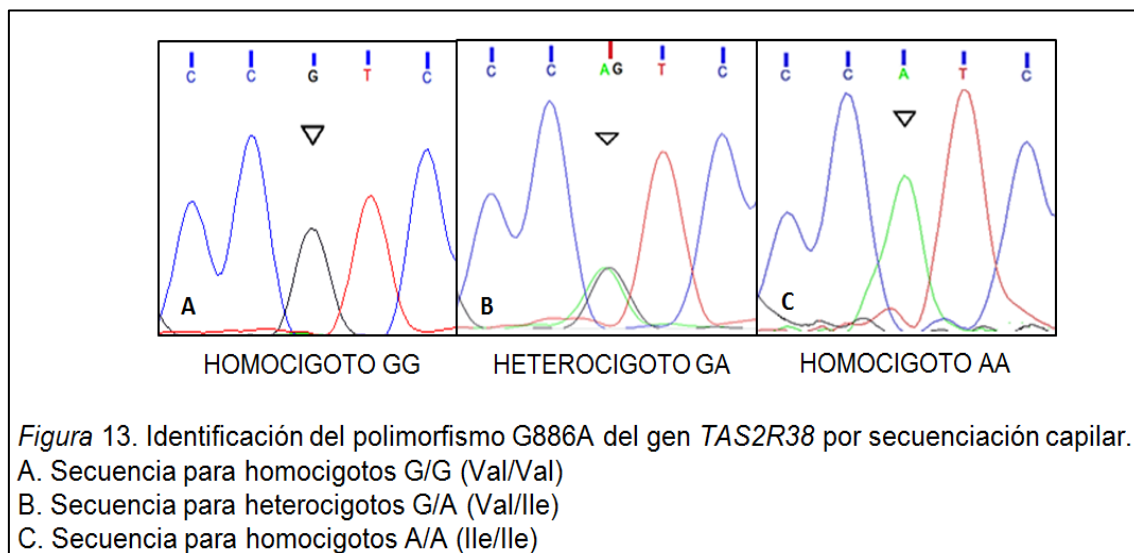
4.5.2.1 Frecuencias genotípicas

En la Tabla 12 y en la *Figura 12*, se pueden observar las diferentes distribuciones de frecuencias genotípicas encontradas en la variante C785T del gen *TAS2R38*. A partir de la secuenciación capilar, se encontró una frecuencia genotípica de 62,7% en homocigotos normales (CC), 32,7% en heterocigotos (CT) y 4,5% en homocigotos mutantes (TT).



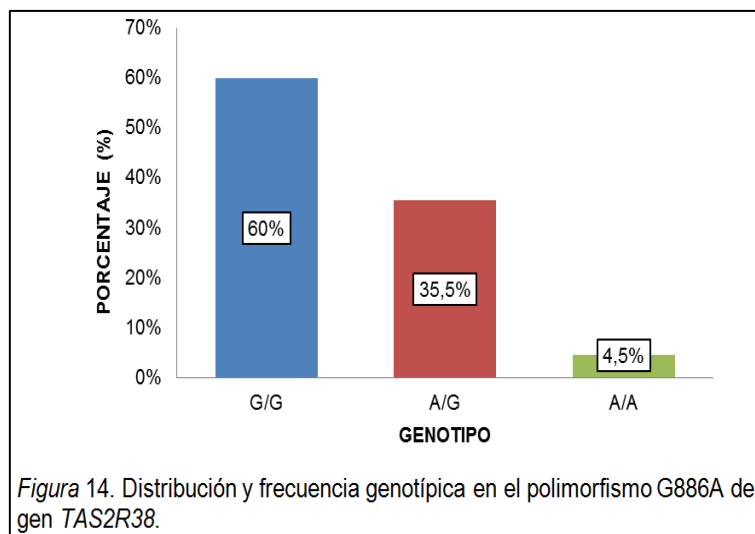
4.5.3 Análisis genético de la variante G886A

En el análisis genético de la variante G886A, se observaron tres tipos de resultados en la secuenciación. En la *Figura 13*, en el primer cuadrante se puede observar la presencia de individuos homocigotos normales (GG), los cuales presentaron una curva negra en la posición del nucleótido 886. En el segundo cuadrante se puede observar la presencia de individuos heterocigotos (GA), los cuales presentaron una curva negra y verde sobrepuesta en la posición del nucleótido 886. Finalmente en el tercer cuadrante, se puede observar la presencia de individuos homocigotos mutantes (AA), los cuales presentaron una curva verde en la posición del nucleótido 886.



4.5.3.1 Frecuencias genotípicas

En la Tabla 12 y en la *Figura 14*, se pueden observar las diferentes distribuciones de frecuencias genotípicas encontradas en la variante G886A del gen *TAS2R38*. A partir de la secuenciación capilar, se encontró una frecuencia genotípica de 60% en homocigotos normales (GG), 35,5% en heterocigotos (GA) y 4,5% en homocigotos mutantes (AA).

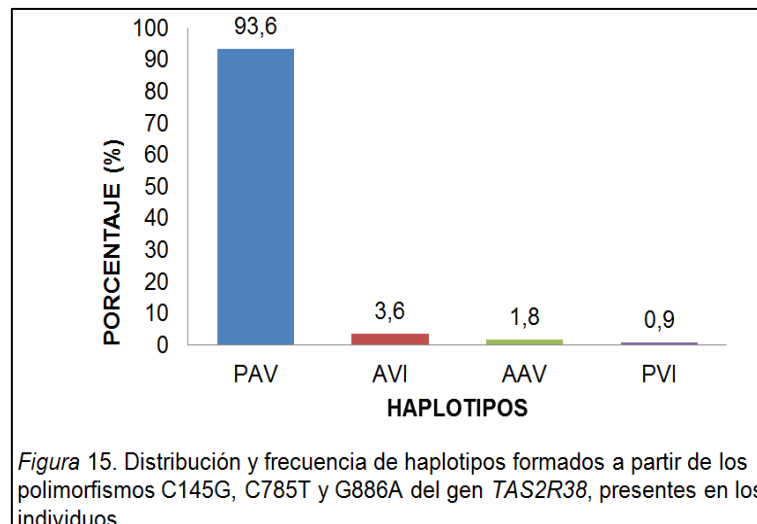


4.6 ANÁLISIS DE HAPLOTIPOS

A partir de los resultados de secuenciación y el análisis aminoacídico, se construyeron los haplotipos de la población estudiada según el modelo creado por Kim *et al.* (2003, pp. 1221-1225), el cual se describe previamente en el apartado de metodología. Mediante la evaluación de los polimorfismos C145G, C785T y G886A presentes en la población, se determinaron 4 haplotipos: PAV, AVI, AAV y PVI (Tabla 13). En la *Figura 15*, se puede observar que existió una frecuencia mayoritaria del haplotipo PAV con el 93,6%, y una frecuencia minoritaria de 3,6%; 1,8% y 0,9% de los haplotipos AVI, AAV y PVI, respectivamente.

Tabla 13. Frecuencias de los haplotipos formados a partir de los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen *TAS2R38*, presentes en los individuos.

Haplotipos	Frecuencia	Porcentaje
PAV (Pro-Ala-Val)	103	93,6
AVI (Ala-Val-Iso)	4	3,6
AAV (Ala-Ala-Val)	2	1,8
PVI (Pro-Val-Iso)	1	0,9
Total	110	100



4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

4.7.1 Asociación de los hábitos con los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen *TAS2R38*

En la asociación de los hábitos con el polimorfismo C145G, se observó que existió mayor frecuencia (60,0%) de todos los hábitos en el genotipo CC y menor frecuencia (5,5%) en el genotipo GG (Tabla 14). De igual manera, se puede observar que no existió diferencia significativa ($p > 0,05$) en la asociación de los hábitos con el polimorfismo C145G, sino solamente en el consumo de alcohol ($p = 0,02$).

Tabla 14. Asociación de los hábitos con el polimorfismo C145G del gen *TAS2R38*

Hábitos		SNP rs713598						Estadística	
		C/C		C/G		G/G		Fisher	Valor <i>P</i>
		N	%	N	%	N	%		
Género	F	40	61,50%	23	35,40%	2	3,10%	1,718	0,447
	M	26	57,80%	15	33,30%	4	8,90%		
Fumar	NO	43	55,80%	30	39,00%	4	5,20%	2,322	0,342
	SI	23	69,70%	8	24,20%	2	6,10%		
Café	NO	31	59,60%	18	34,60%	3	5,80%	0,122	1
	SI	35	60,30%	20	34,50%	3	5,20%		
Alcohol	NO	34	54,80%	27	43,50%	1	1,60%	7,589	0,02
	SI	32	66,70%	11	22,90%	5	10,40%		
Enfermedad	NO	43	65,20%	20	30,30%	3	4,50%	1,956	0,377
	SI	23	52,30%	18	40,00%	3	6,80%		
Ant. Familiares	NO	28	60,90%	16	34,80%	2	4,30%	0,222	1
	SI	38	59,40%	22	34,40%	4	6,30%		
Medicina	NO	53	60,20%	30	34,10%	5	5,70%	0,154	1
	SI	13	59,10%	8	36,40%	1	4,50%		

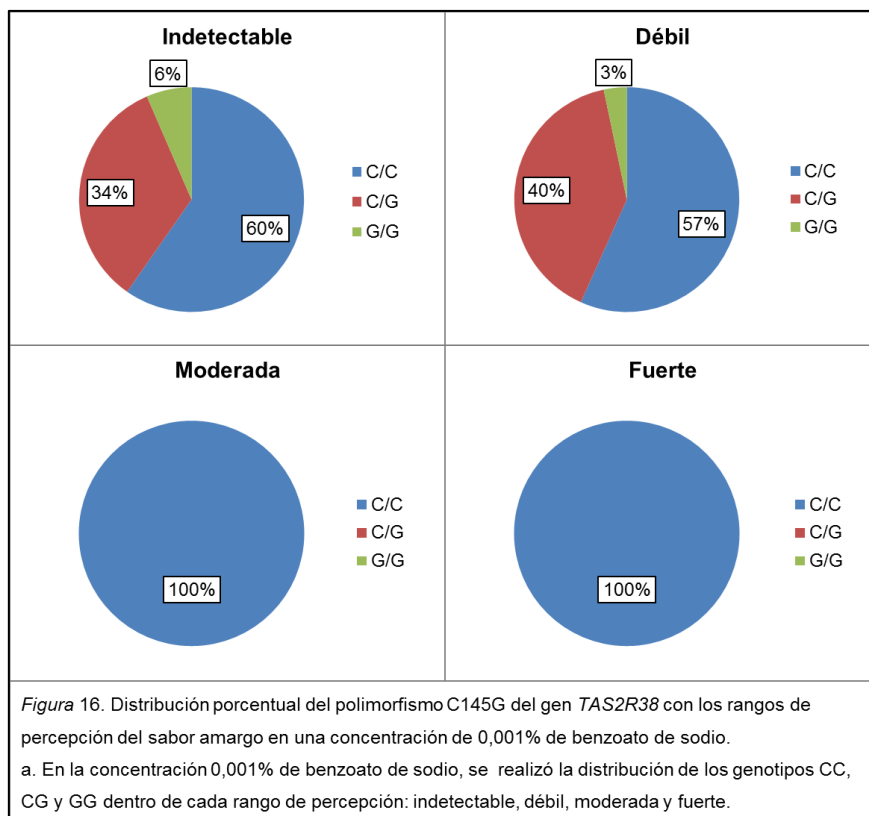
En el análisis de las frecuencias de cada hábito en relación a los genotipos del polimorfismo C785T, se encontró que estos se asociaron en mayor frecuencia (62,7%) en el genotipo CC y menor frecuencia (4,5%) en el genotipo TT. Así mismo, en el análisis de las frecuencias de los hábitos con el polimorfismo G886A existió mayor frecuencia (62,3%) en el genotipo GG y menor frecuencia (3,9%) en el genotipo AA. Sin embargo, ambos análisis presentaron valores no significativos ($p > 0,05$). Los valores descritos en su totalidad (Anexo 5 y 6) se pueden observar en la sección de Anexos.

4.7.2 Asociación de los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo

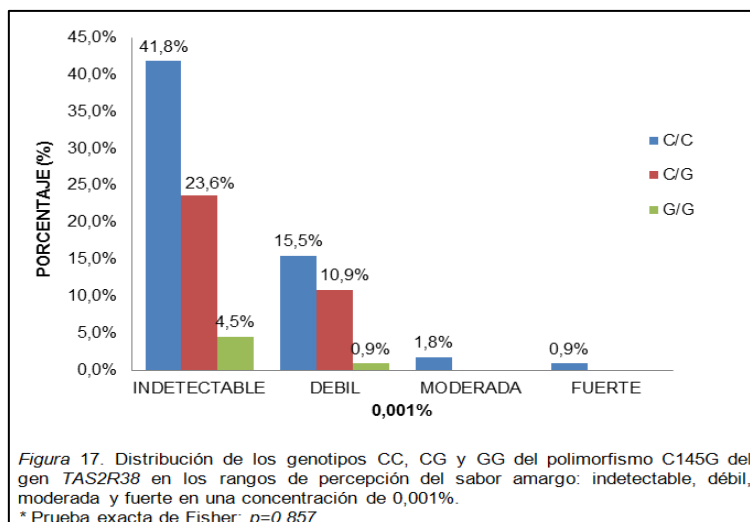
4.7.2.1 Asociación del polimorfismo C145G del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,001% de benzoato de sodio

En la *Figura 16* se puede observar que a una concentración de 0,001% de benzoato de sodio, los individuos clasificaron la percepción del sabor amargo como indetectable, débil, moderada y fuerte.

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,001%, con los genotipos del polimorfismo C145G. En el rango indetectable, se obtuvo una n=77, en donde se puede observar una frecuencia de 59,7% (n=46) en el genotipo CC; 33,8% (n=26) en el genotipo CG y 6,5% (n=5) en el genotipo GG. En el rango débil, con una n=30, se puede observar una frecuencia de 56,7% (n=17) en el genotipo CC; 40,0% (n=12) en el genotipo CG y 3,3% (n=1) en el genotipo GG. Finalmente, se observó una n=2 en el rango moderado y una n=1 en el rango fuerte, con una frecuencia del 100,0% del genotipo CC en los dos rangos. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 7.



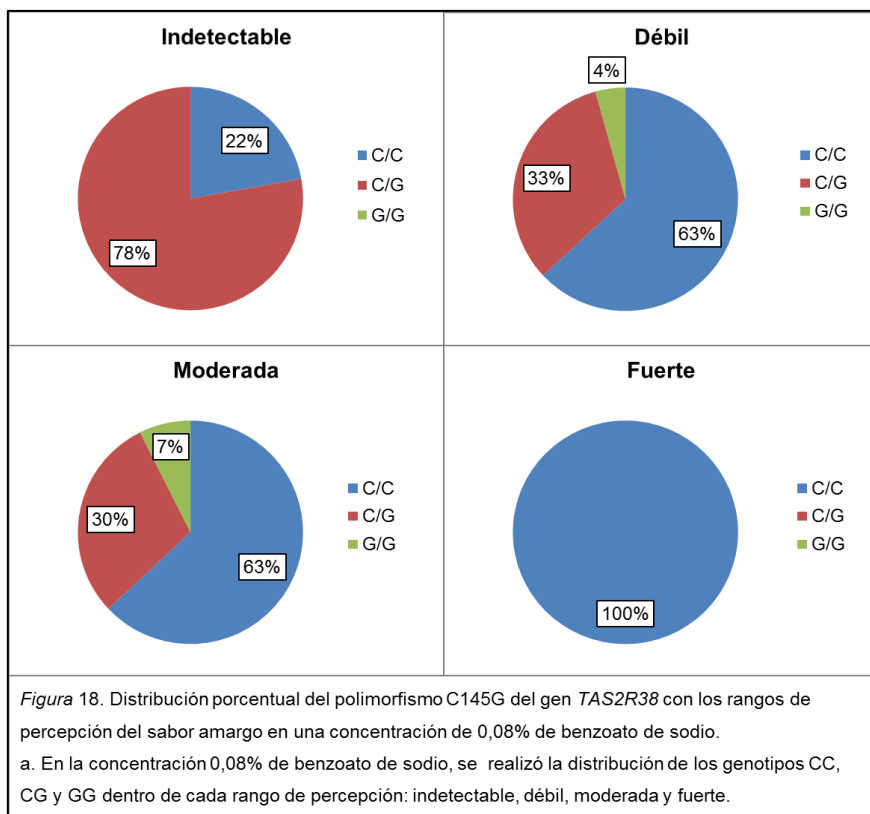
En la *Figura 17* se puede observar que la frecuencia del genotipo CC, del total de 110 individuos, en el rango indetectable es 41,8%, débil 15,5%; moderada 1,8% y fuerte 0,9%. Así mismo, la frecuencia del genotipo CG, del total, en el rango indetectable es 23,6%, débil 10,9% y sin frecuencias en los otros rangos. Finalmente la frecuencia del genotipo GG, del total, en el rango indetectable es 4,5%, débil 0,9%; moderada y fuerte 0%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.857$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.



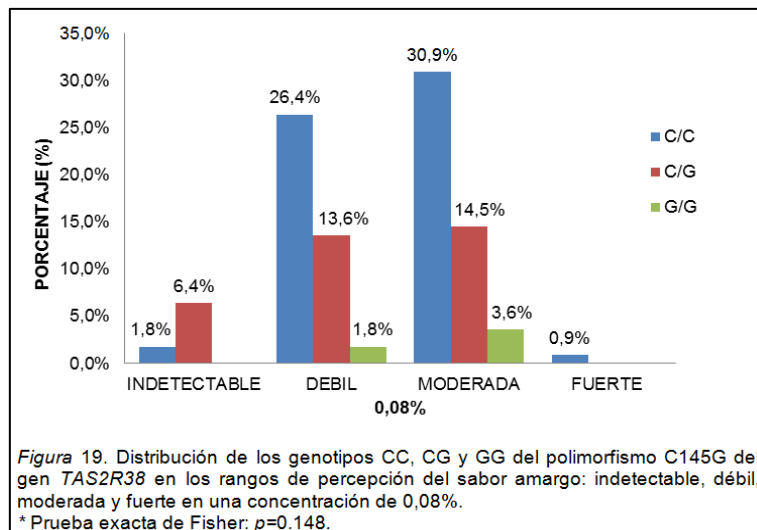
4.7.2.2 Asociación del polimorfismo C145G del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,08% de benzoato de sodio

En la *Figura 18* se puede observar que a una concentración de 0,08% de benzoato de sodio, los individuos clasificaron la percepción del sabor amargo como indetectable, débil, moderada y fuerte.

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,08%, con los genotipos del polimorfismo C145G. En el rango indetectable, con un $n=9$, se puede observar una frecuencia de 22,2% ($n=2$) en el genotipo CC; 77,8% ($n=7$) en el genotipo CG y 0% en el genotipo GG. En el rango débil, con un $n=46$, se puede observar una frecuencia de 63,0% ($n=29$) en el genotipo CC; 32,6% ($n=15$) en el genotipo CG y 4,3% ($n=2$) en el genotipo GG. En el rango moderado, con una $n=54$, existió una frecuencia de 63,0% ($n=34$) en el genotipo CC; 29,6% ($n=16$) en el genotipo CG y 7,4% ($n=4$) en el genotipo GG. Finalmente, se observó una frecuencia del 100,0% del genotipo CC en el rango fuerte con una $n=1$. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 8.



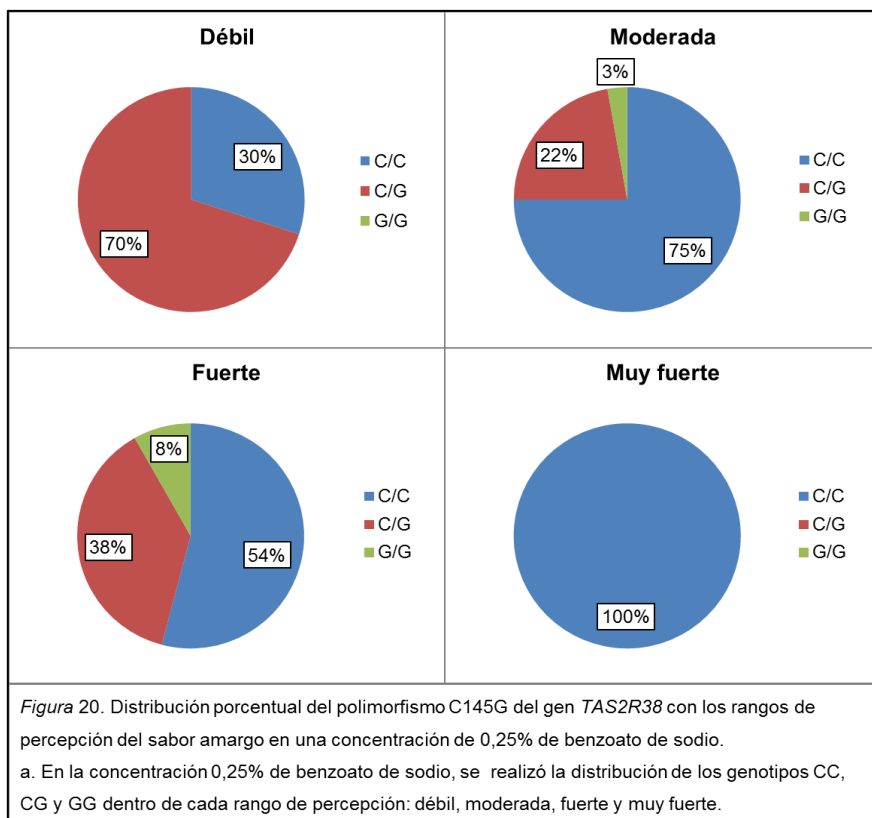
En la *Figura 19* se puede observar que la frecuencia del genotipo CC, del total de 110 individuos, en el rango indetectable es 1,8%, débil 26,4%; moderada 30,9% y fuerte 0,9%. Así mismo, la frecuencia del genotipo CG, del total, en el rango indetectable es 6,4%, débil 13,6%; moderada 14,5% y sin frecuencia en el rango fuerte. Finalmente la frecuencia del genotipo GG, del total, en los rangos indetectable y fuerte es 0%, mientras que en débil y moderada son 1,8% y 3,6%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.148$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.



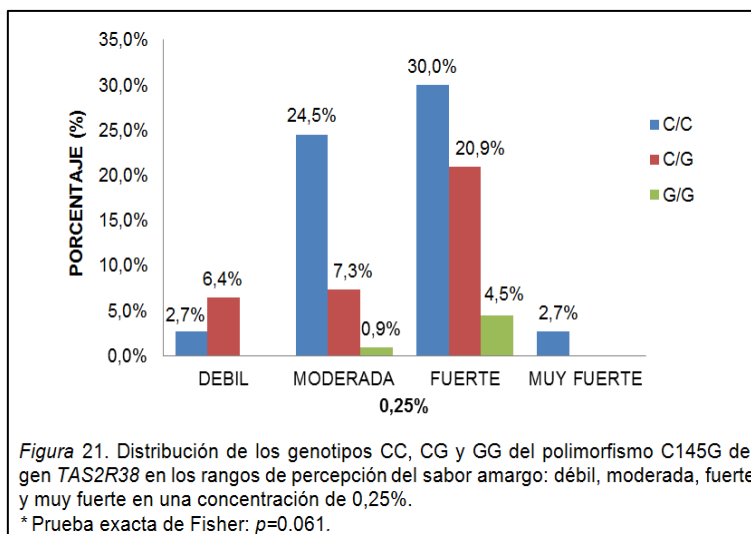
4.7.2.3 Asociación del polimorfismo C145G del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,25% de benzoato de sodio

En la *Figura 20* se puede observar que a una concentración de 0,25% de benzoato de sodio, los individuos clasificaron la percepción del sabor amargo como débil, moderada, fuerte y muy fuerte.

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,25%, con los genotipos del polimorfismo C145G. En el rango débil, con una $n=10$, se puede observar una frecuencia de 30,0% ($n=3$) en el genotipo CC; 70,0% ($n=7$) en el genotipo CG y 0% en el genotipo GG. En el rango moderado, con una $n=36$, se puede observar una frecuencia de 75,0% ($n=27$) en el genotipo CC; 22,2% ($n=8$) en el genotipo CG y 2,8% ($n=1$) en el genotipo GG. En el rango fuerte, con una $n=61$, existió una frecuencia de 54,1% ($n=33$) en el genotipo CC; 37,7% ($n=23$) en el genotipo CG y 8,2% ($n=5$) en el genotipo GG. Finalmente, se observó una frecuencia del 100,0% del genotipo CC en el rango muy fuerte con una $n=3$. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 9.



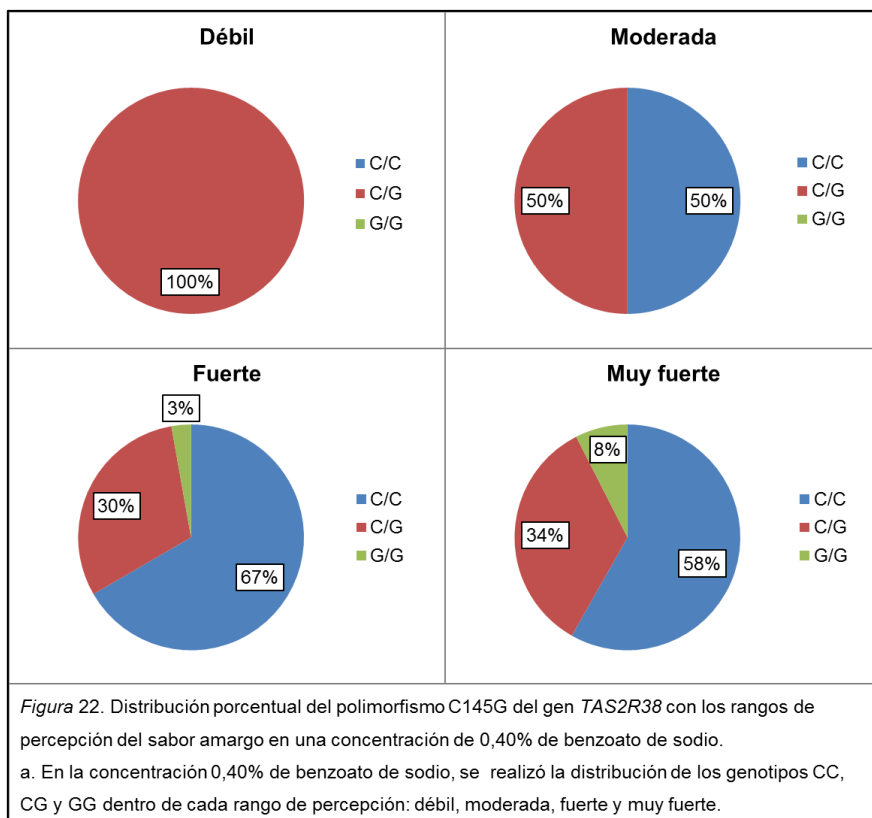
En la *Figura 21* se puede observar que la frecuencia del genotipo CC, del total de 110 individuos, en el rango débil es 2,7%, moderado 24,5%; fuerte 30,0% y muy fuerte 2,7%. Así mismo, la frecuencia del genotipo CG, del total, en el rango débil es 6,4%; moderada 7,3%; fuerte 20,9% y sin frecuencia en el rango muy fuerte. Finalmente la frecuencia del genotipo GG, del total, en los rangos débil y muy fuerte es 0%, mientras que en moderada y fuerte son 0,9% y 4,5%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.061$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.



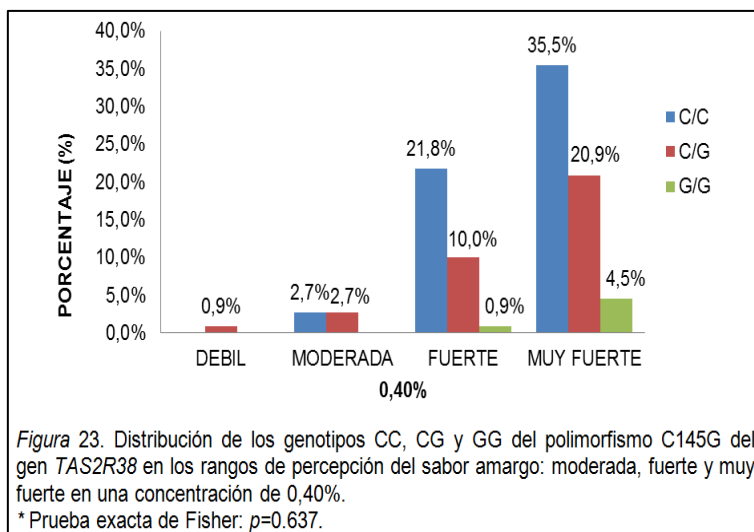
4.7.2.4 Asociación del polimorfismo C145G del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,40% de benzoato de sodio

En la *Figura 22* se puede observar que a una concentración de 0,40% de benzoato de sodio, los individuos clasificaron la percepción del sabor amargo como débil, moderada, fuerte y muy fuerte.

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,40%, con los genotipos del polimorfismo C145G. En el rango débil, con una $n=1$, se puede observar una frecuencia de 0% en los genotipos CC y GG, y una frecuencia del 100,0% en el genotipo CG. En el rango moderado, con una $n=6$, se puede observar una frecuencia de 50,0% ($n=3$) en el genotipo CC; 50,0% ($n=3$) en el genotipo CG y 0% en el genotipo GG. En el rango fuerte, con una $n=36$, existió una frecuencia de 66,7% ($n=24$) en el genotipo CC; 30,6% ($n=11$) en el genotipo CG y 2,8% ($n=1$) en el genotipo GG. Finalmente, en el rango muy fuerte, con un $n=67$, se observó una frecuencia de 58,2% ($n=39$) en el genotipo CC; 34,4% ($n=23$) en el genotipo CG y 7,5% ($n=5$) en el genotipo GG. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 10.



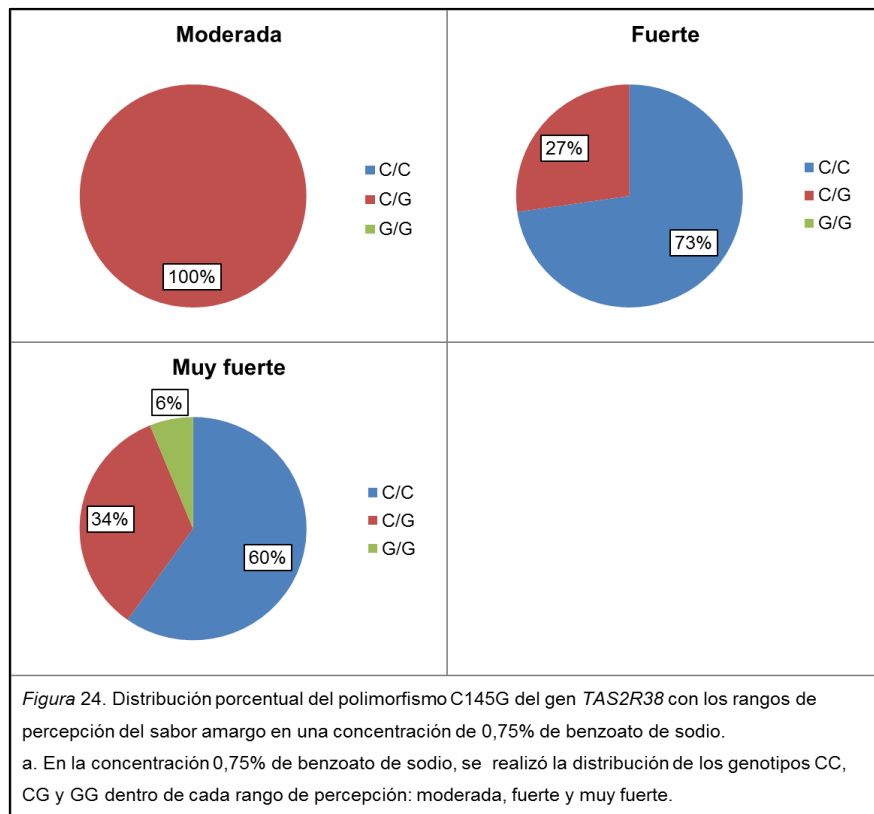
En la *Figura 23* se puede observar que la frecuencia del genotipo CC, del total de 110 individuos, en el rango débil es 0%, moderado 2,7%; fuerte 21,8% y muy fuerte 35,5%. Así mismo, la frecuencia del genotipo CG, del total, en el rango débil es 0,9%; moderada 2,7%; fuerte 10,0% y 20,9% en el rango muy fuerte. Finalmente la frecuencia del genotipo GG, del total, en los rangos débil y moderado es 0%, mientras que en fuerte y muy fuerte son 0,9% y 4,5%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.637$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.



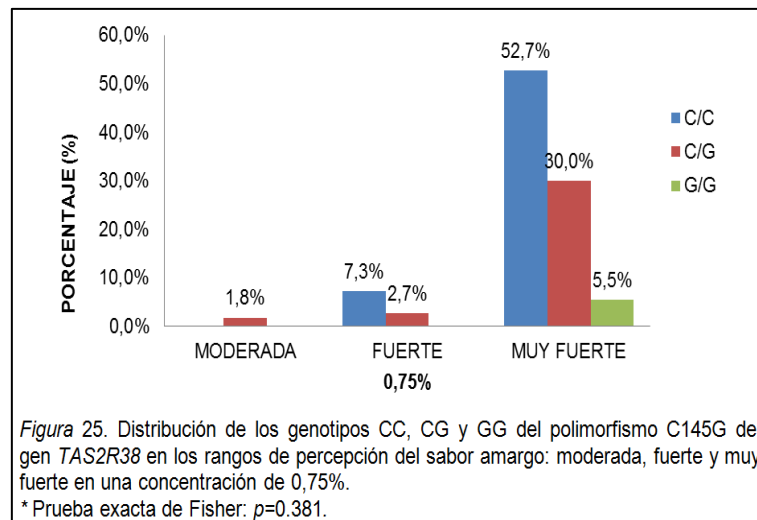
4.7.2.5 Asociación del polimorfismo C145G del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,75% de benzoato de sodio

En la *Figura 24* se puede observar que a una concentración de 0,75% de benzoato de sodio, los individuos clasificaron la percepción del sabor amargo como moderado, fuerte y muy fuerte.

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,75%, con los genotipos del polimorfismo C145G. En el rango moderado, con una $n=2$, se puede observar una frecuencia de 0% en el genotipo CC; 100,0% en el genotipo CG y 0% en el genotipo GG. En el rango fuerte, con una $n=11$, existió una frecuencia de 72,7% ($n=8$) en el genotipo CC; 27,3% ($n=3$) en el genotipo CG y 0% en el genotipo GG. Finalmente, en el rango muy fuerte, con una $n=97$, se observó una frecuencia de 59,8% ($n=58$) en el genotipo CC; 34,0% ($n=33$) en el genotipo CG y 6,2% ($n=6$) en el genotipo GG. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 11.

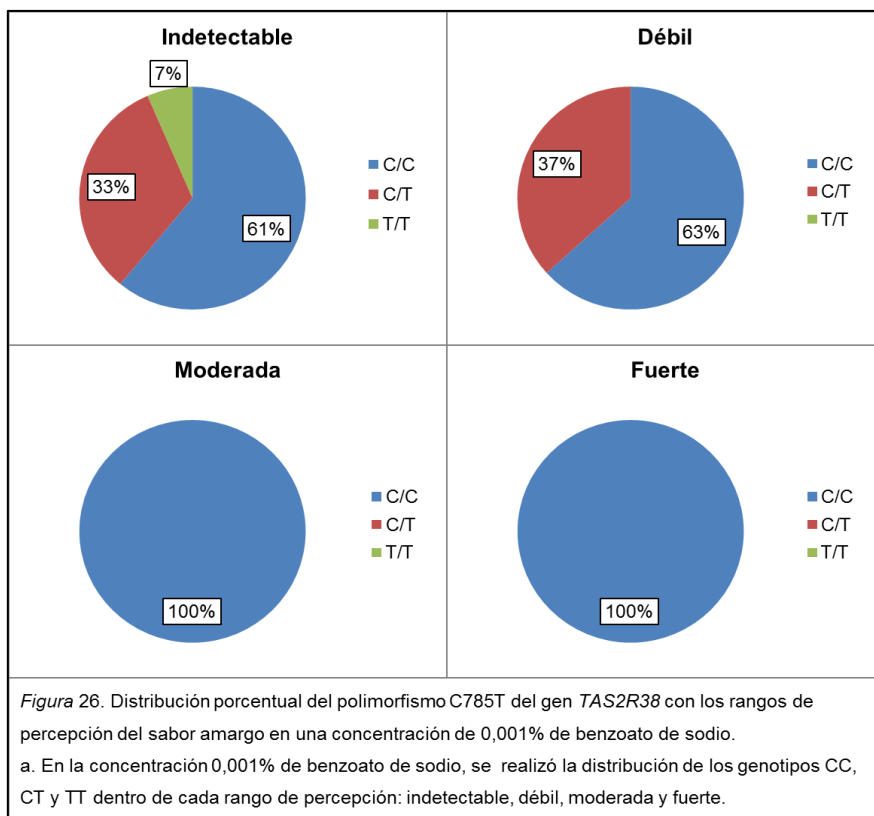


En la *Figura 25* se puede observar que la frecuencia del genotipo CC, del total de 110 individuos, en el rango moderado es 0%; fuerte 7,3% y muy fuerte 52,7%. Así mismo, la frecuencia del genotipo CG, del total, en el rango moderada 1,8%; fuerte 2,7% y 30,0% en el rango muy fuerte. Finalmente en el genotipo GG, del total, no existieron frecuencias en los rangos moderado y fuerte, mientras que en el rango muy fuerte es 5,5%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.381$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

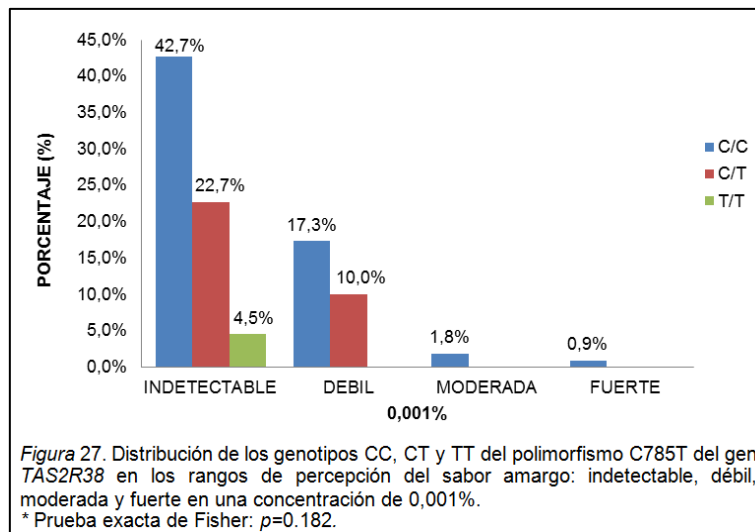


4.7.2.6 Asociación del polimorfismo C785T del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,001% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,001%, con los genotipos del polimorfismo C785T (Figura 26). En el rango indetectable, con un $n=77$, se puede observar una frecuencia de 61,0% ($n=47$) en el genotipo CC; 32,5% ($n=25$) en el genotipo CT y 6,5% ($n=5$) en el genotipo TT. En el rango débil, con un $n=30$, se puede observar una frecuencia de 63,3% ($n=19$) en el genotipo CC; 36,7% ($n=11$) en el genotipo CT y 0% en el genotipo TT. Finalmente, se observó una $n=2$ en el rango moderado y una $n=1$ en el rango fuerte, con una frecuencia del 100,0% del genotipo CC en los dos rangos. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 12.

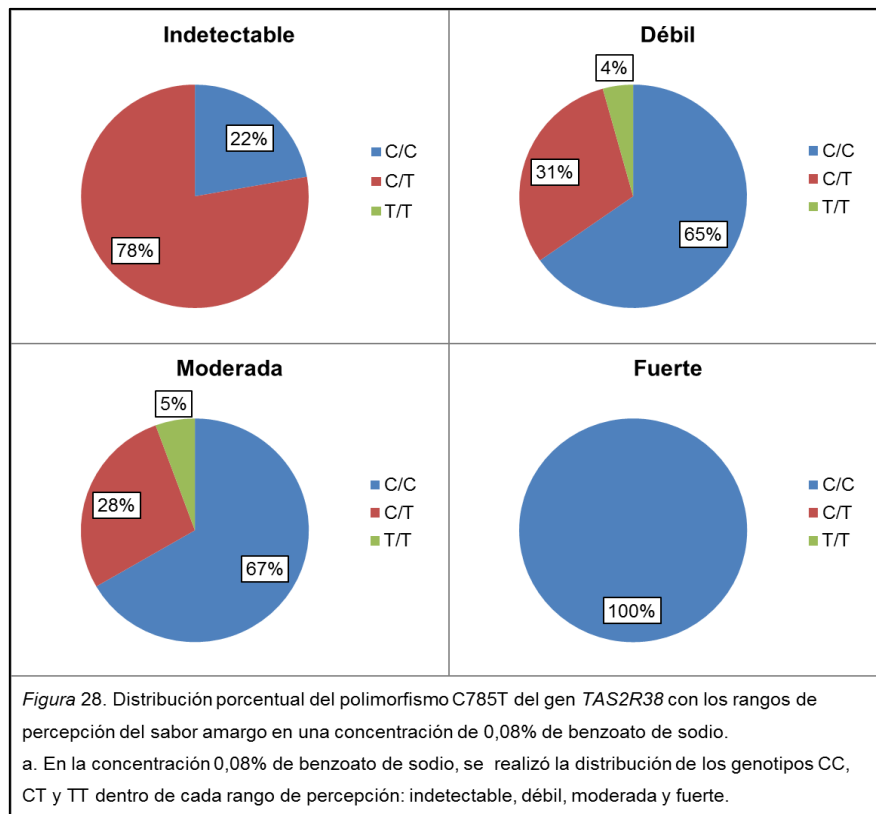


En la *Figura 27* se puede observar que la frecuencia del genotipo CC, del total de 110 individuos, en el rango indetectable es 42,7%, débil 17,3%; moderada 1,8% y fuerte 0,9%. Así mismo, la frecuencia del genotipo CT, del total, en el rango indetectable es 22,7%, débil 10,0% y sin frecuencias en los otros rangos. Finalmente, se puede solamente observar la frecuencia de 4,5% del genotipo TT del total en el rango indetectable. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.182$ demostrando que no existió significancia en esta asociación.

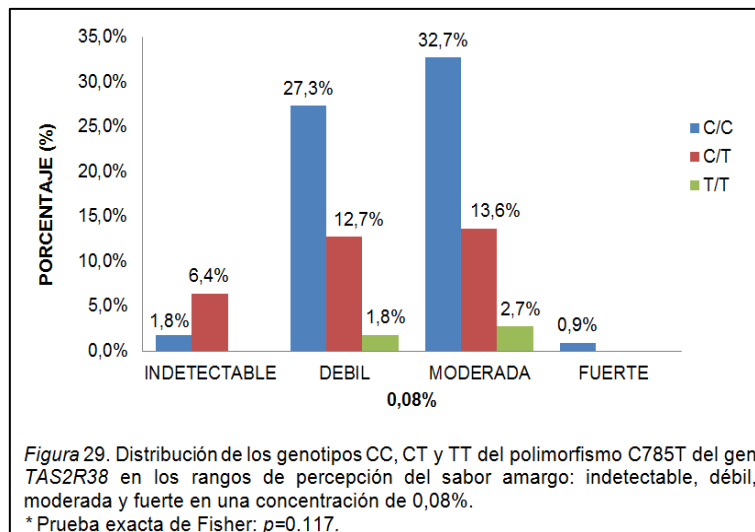


4.7.2.7 Asociación del polimorfismo C785T del gen TAS2R38 con la concentración de 0,08% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,08%, con los genotipos del polimorfismo C785T (Figura 28). En el rango indetectable, con una $n=9$, se puede observar una frecuencia de 22,2% ($n=2$) en el genotipo CC; 77,8% ($n=7$) en el genotipo CT y 0% en el genotipo TT. En el rango débil, con una $n=46$, se puede observar una frecuencia de 65,2% ($n=30$) en el genotipo CC; 30,4% ($n=14$) en el genotipo CT y 4,3% ($n=2$) en el genotipo TT. En el rango moderado, con una $n=54$, existió una frecuencia de 66,7% ($n=36$) en el genotipo CC; 27,8% ($n=15$) en el genotipo CT y 5,6% ($n=3$) en el genotipo TT. Finalmente, se observó una frecuencia del 100,0% del genotipo CC en el rango fuerte con una $n=1$. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 13.

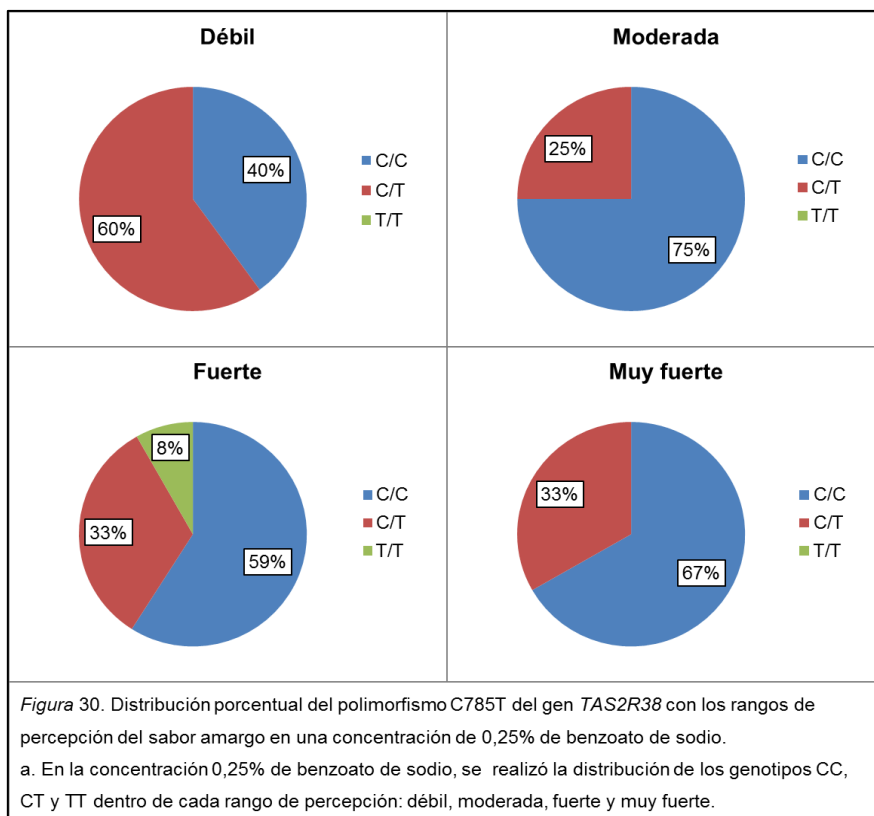


En la *Figura 29* se puede observar que la frecuencia del genotipo CC, del total de 110 individuos, en el rango indetectable es 1,8%, débil 27,3%; moderada 32,7% y fuerte 0,9%. Así mismo, la frecuencia del genotipo CT, del total, en el rango indetectable es 6,4%, débil 12,7%; moderada 13,6% y sin frecuencia en el rango fuerte. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del genotipo TT, del total, en los rangos indetectable y fuerte, mientras que en débil y moderada son 1,8% y 2,7%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.117$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

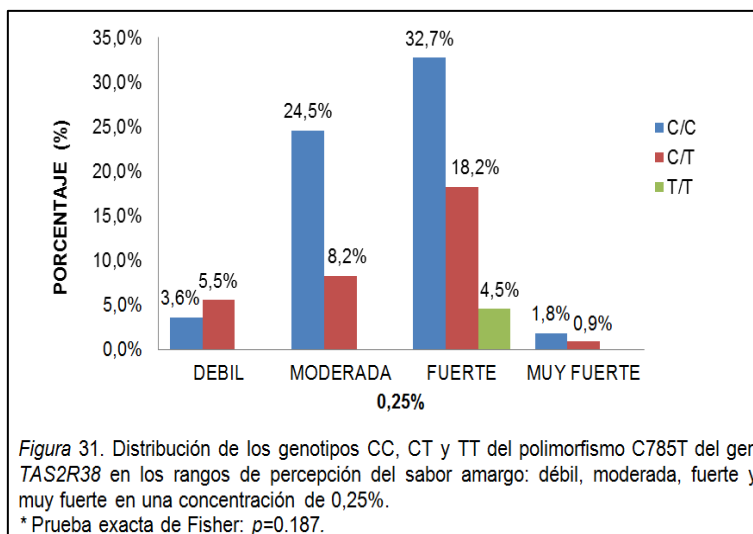


4.7.2.8 Asociación del polimorfismo C785T del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,25% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,25%, con los genotipos del polimorfismo C785T (Figura 30). En el rango débil, con una $n=10$, se puede observar una frecuencia de 40,0% ($n=4$) en el genotipo CC; 60,0% ($n=6$) en el genotipo CT y 0% en el genotipo TT. En el rango moderado, con una $n=36$, se puede observar una frecuencia de 75,0% ($n=27$) en el genotipo CC; 25,0% ($n=9$) en el genotipo CT y 0% en el genotipo TT. En el rango fuerte, con una $n=61$, existió una frecuencia de 59,0% ($n=36$) en el genotipo CC; 32,8% ($n=20$) en el genotipo CT y 8,2% ($n=5$) en el genotipo TT. Finalmente, en el rango muy fuerte, con una $n=3$, se observó una frecuencia de 66,7% ($n=2$) del genotipo CC; 33,3% ($n=1$) en el genotipo CT y 0% en el genotipo TT. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 14.

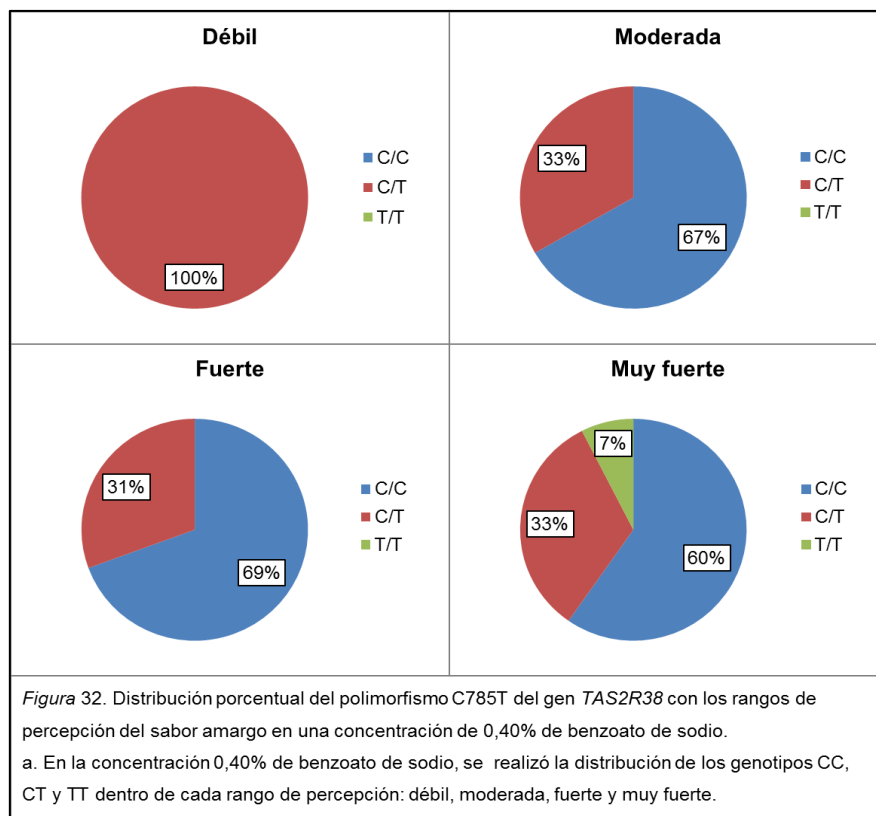


En la *Figura 31* se puede observar que la frecuencia del genotipo CC, del total de 110 individuos, en el rango débil es 3,6%, moderado 24,5%; fuerte 32,7% y muy fuerte 1,8%. Así mismo, la frecuencia del genotipo CG, del total, en el rango débil es 5,5%; moderada 8,2%; fuerte 18,2% y 0,9% en el rango muy fuerte. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del genotipo TT, del total, en los rangos débil, moderado y muy fuerte, mientras que en fuerte es 4,5%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.187$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

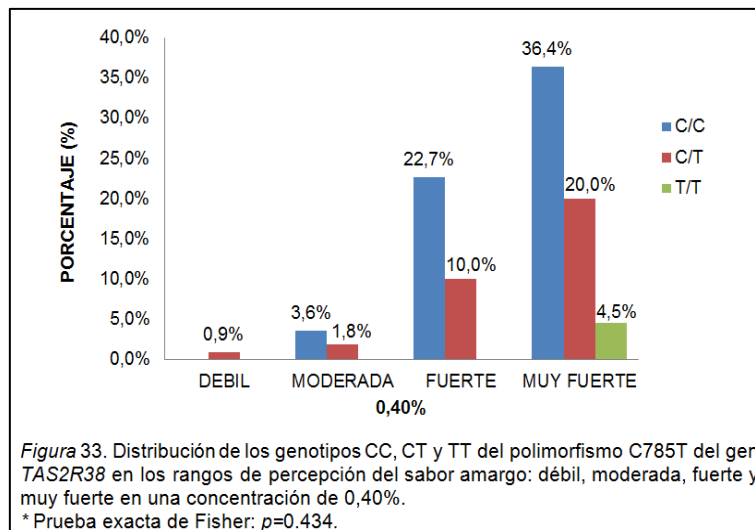


4.7.2.9 Asociación del polimorfismo C785T del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,40% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,40%, con los genotipos del polimorfismo C785T (Figura 32). En el rango débil, con una $n=1$, se puede observar una frecuencia de 0% en los genotipos CC y TT, y una frecuencia del 100,0% en el genotipo CT. En el rango moderado, con una $n=6$, se puede observar una frecuencia de 66,7% ($n=4$) en el genotipo CC; 33,3% ($n=2$) en el genotipo CT y 0% en el genotipo TT. En el rango fuerte, con una $n=36$, existió una frecuencia de 69,4% ($n=25$) en el genotipo CC; 30,6% ($n=11$) en el genotipo CT y 0% en el genotipo GG. Finalmente, se observó en el rango muy fuerte con una $n=67$, una frecuencia de 59,7% ($n=40$) en el genotipo CC; 32,8% ($n=22$) en el genotipo CT y 7,5% ($n=5$) en el genotipo TT. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 15.

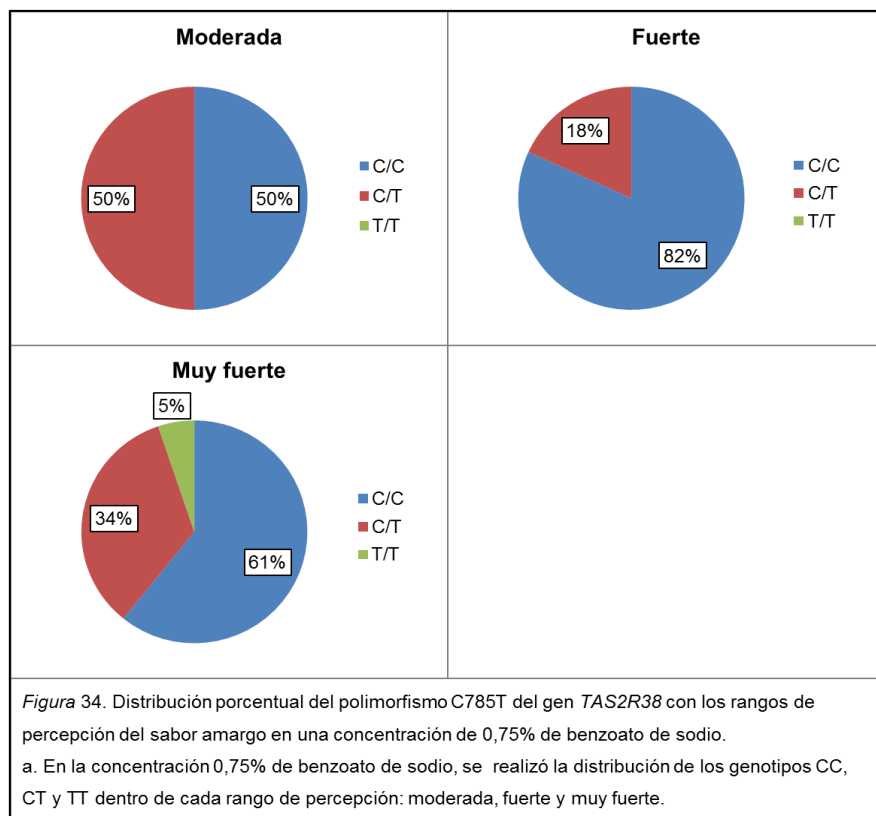


En la *Figura 33* se puede observar que la frecuencia del genotipo CC, del total de 110 individuos, en el rango débil es 0%, moderado 3,6%; fuerte 22,7% y muy fuerte 36,4%. Así mismo, la frecuencia del genotipo CG, del total, en el rango débil es 0,9%; moderada 1,8%; fuerte 10,0% y 20,0% en el rango muy fuerte. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del genotipo TT del total en los rangos débil, moderado y fuerte, pero si una frecuencia de 4,5% en muy fuerte. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.434$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

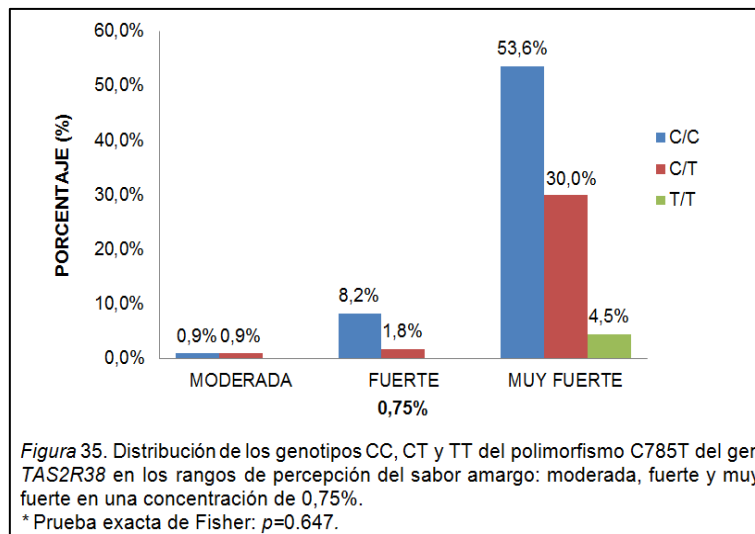


4.7.2.10 Asociación del polimorfismo C785T del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,75% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,75%, con los genotipos del polimorfismo C785T (Figura 34). En el rango moderado, con una $n=2$, se puede observar una frecuencia de 50,0% ($n=1$) en el genotipo CC; 50,0% ($n=1$) en el genotipo CT y 0% en el genotipo TT. En el rango fuerte, con una $n=11$, existió una frecuencia de 81,8% ($n=9$) en el genotipo CC; 18,2% ($n=2$) en el genotipo CT y 0% en el genotipo TT. Finalmente, en el rango muy fuerte con una $n=97$, se observó una frecuencia de 60,8% ($n=59$) en el genotipo CC; 34,0% ($n=33$) en el genotipo CT y 5,2% ($n=5$) en el genotipo TT. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 16.

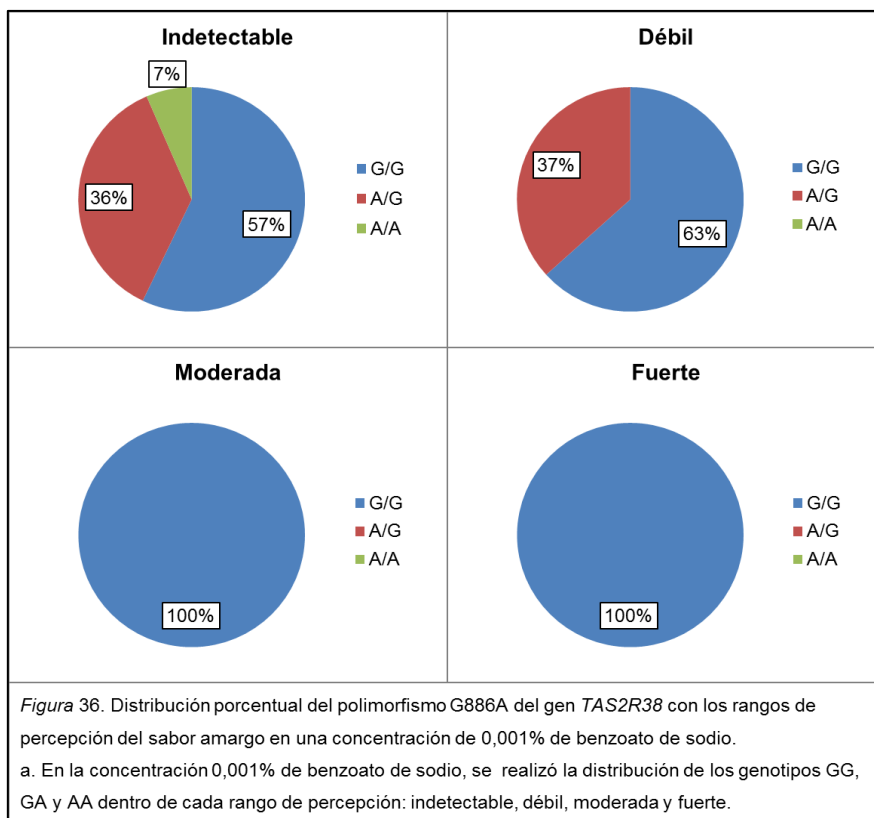


En la *Figura 35* se puede observar que la frecuencia del genotipo CC, del total de 110 individuos, en el rango moderado es 0,9%; fuerte 8,2% y muy fuerte 53,6%. Así mismo, la frecuencia del genotipo CG, del total, en el rango moderada 0,9%; fuerte 1,8% y 30,0% en el rango muy fuerte. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del genotipo TT, del total, en los rangos moderado y fuerte, mientras que en el rango muy fuerte es 4,5%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.647$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

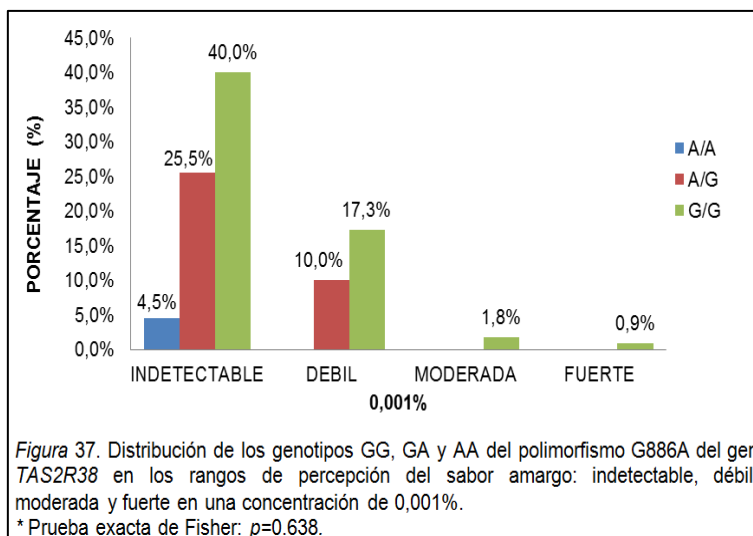


4.7.2.11 Asociación del polimorfismo G886A del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,001% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,001%, con los genotipos del polimorfismo G886A (*Figura 36*). En el rango indetectable, con una $n=77$ se puede observar una frecuencia de 57,1% ($n=44$) en el genotipo GG; 36,4% ($n=28$) en el genotipo AG y 6,5% ($n=5$) en el genotipo AA. En el rango débil, con una $n=30$, se puede observar una frecuencia de 63,3% ($n=19$) en el genotipo GG; 36,7% ($n=11$) en el genotipo AG y 0% en el genotipo AA. Finalmente, se observó una frecuencia del 100,0% del genotipo GG en los rangos moderado y fuerte con una $n=2$ y $n=1$, respectivamente. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 17.

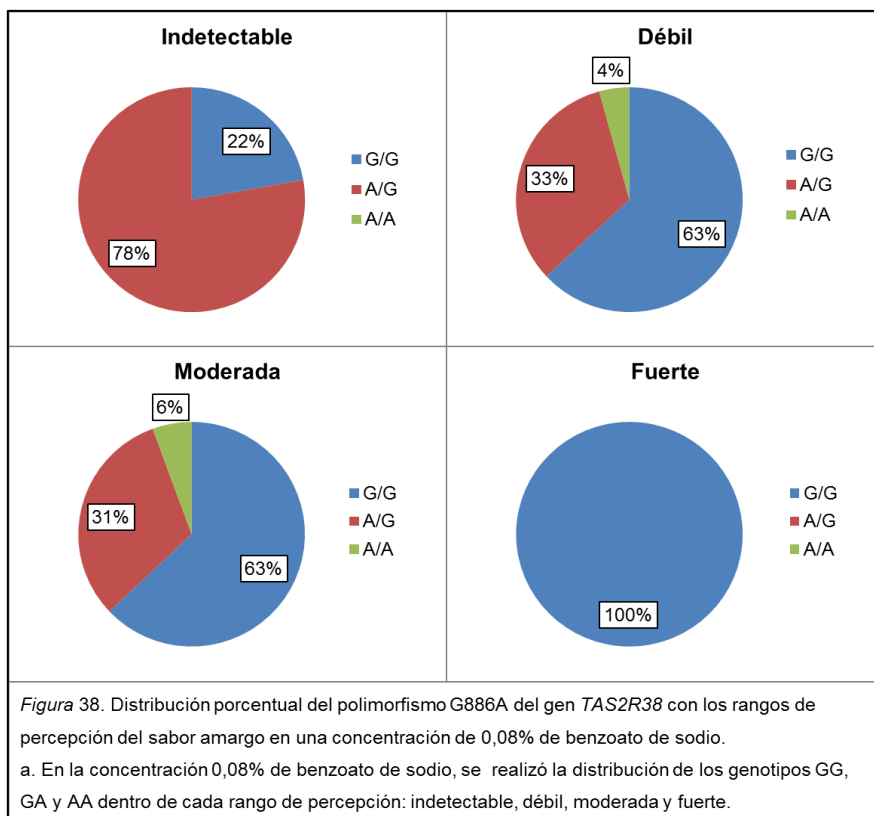


En la *Figura 37* se puede observar que la frecuencia del genotipo GG, del total de 110 individuos, en el rango indetectable es 40,0%, débil 17,3%; moderada 1,8% y fuerte 0,9%. Así mismo, la frecuencia del genotipo AG, del total, en el rango indetectable es 25,5%, débil 10,0% y sin frecuencias en los otros rangos. Finalmente, se puede solamente observar la frecuencia de 4,5% del genotipo AA del total en el rango indetectable. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.638$ demostrando que no existió significancia en esta asociación.

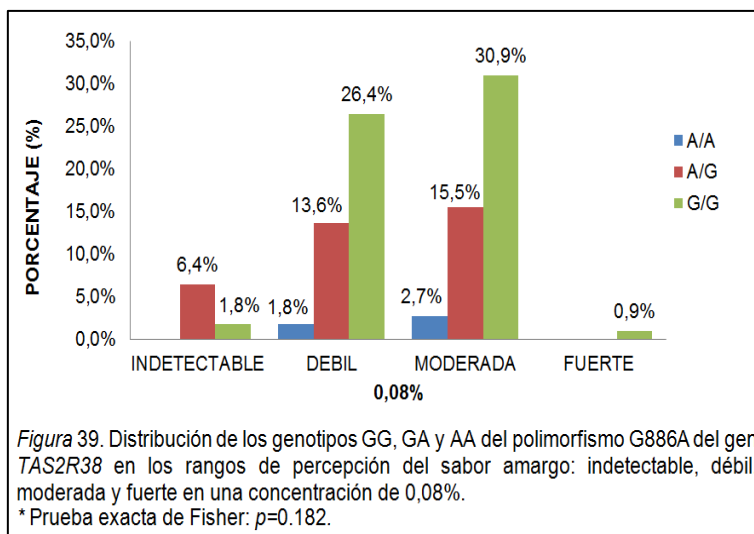


4.7.2.12 Asociación del polimorfismo G886A del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,08% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,08%, con los genotipos del polimorfismo G886A (*Figura 38*). En el rango indetectable, con una $n=9$, se puede observar una frecuencia de 22,2% ($n=2$) en el genotipo GG; 77,8% ($n=7$) en el genotipo AG y 0% en el genotipo AA. En el rango débil, con una $n=46$, se puede observar una frecuencia de 63,0% ($n=29$) en el genotipo GG; 32,6% ($n=15$) en el genotipo AG y 4,3% ($n=2$) en el genotipo AA. En el rango moderado, con una $n=54$, existió una frecuencia de 63,0% ($n=34$) en el genotipo GG; 31,5% ($n=17$) en el genotipo AG y 5,6% ($n=3$) en el genotipo AA. Finalmente, se observó una frecuencia del 100,0% del genotipo GG en el rango fuerte con una $n=1$. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 18.

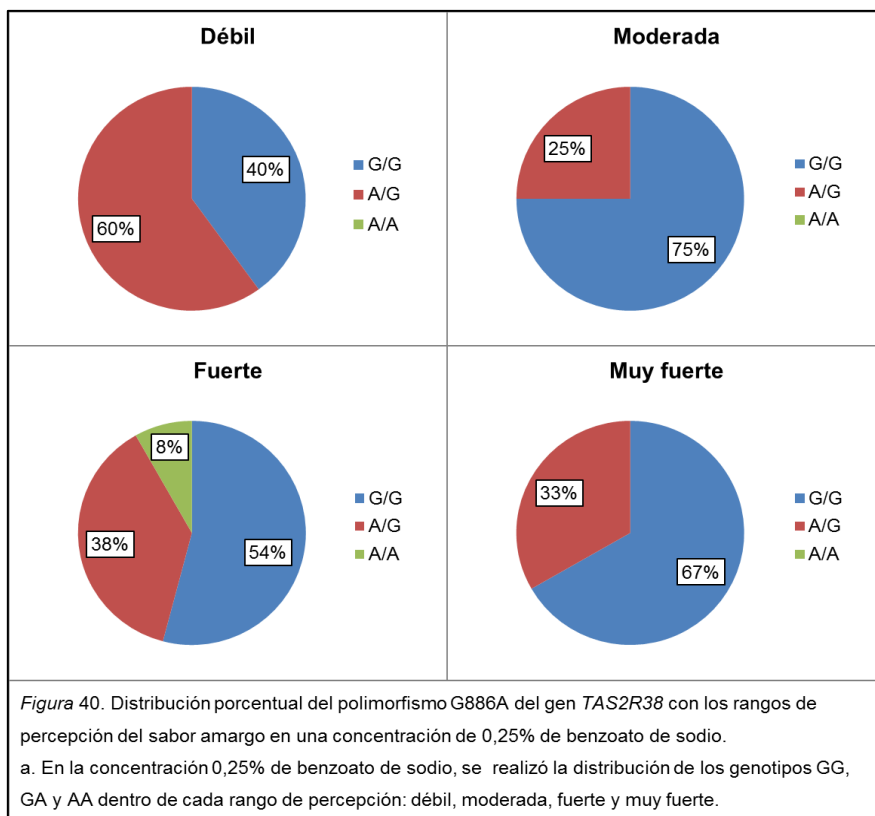


En la *Figura 39* se puede observar que la frecuencia del genotipo GG, del total de 110 individuos, en el rango indetectable es 1,8%, débil 26,4%; moderada 30,9% y fuerte 0,9%. Así mismo, la frecuencia del genotipo AG, del total, en el rango indetectable es 6,4%, débil 13,6%; moderada 15,5% y sin frecuencia en el rango fuerte. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del genotipo AA, del total, en los rangos indetectable y fuerte, mientras que en débil y moderada son 1,8% y 2,7%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.182$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

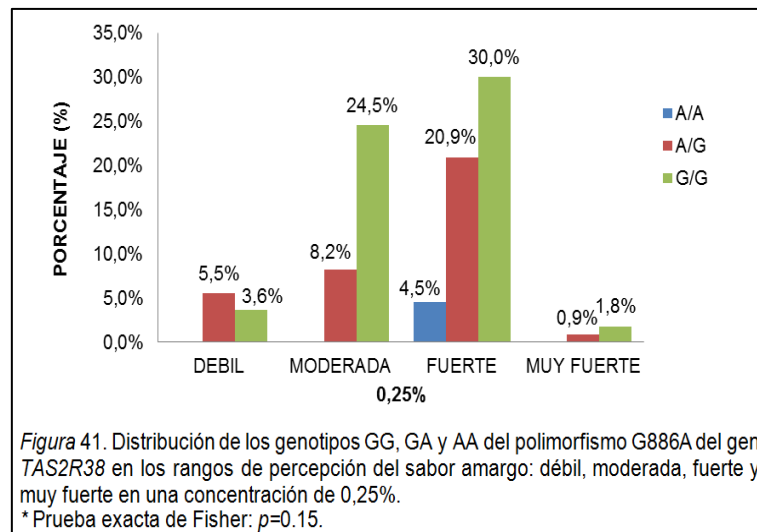


4.7.2.13 Asociación del polimorfismo G886A del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,25% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,25%, con los genotipos del polimorfismo G886A (*Figura 40*). En el rango débil, con una $n=10$, se puede observar una frecuencia de 40,0% ($n=4$) en el genotipo GG; 60,0% ($n=6$) en el genotipo AG y 0% en el genotipo AA. En el rango moderado, con una $n=36$, se puede observar una frecuencia de 75,0% ($n=27$) en el genotipo GG; 25,0% ($n=9$) en el genotipo AG y 0% en el genotipo AA. En el rango fuerte, con una $n=61$, existió una frecuencia de 54,1% ($n=33$) en el genotipo GG; 37,7% ($n=23$) en el genotipo AG y 8,2% ($n=5$) en el genotipo AA. Finalmente, en el rango muy fuerte, con una $n=3$, se observó una frecuencia de 66,7% ($n=2$) del genotipo GG; 33,3% ($n=1$) en el genotipo AG y 0% en el genotipo AA. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 19.

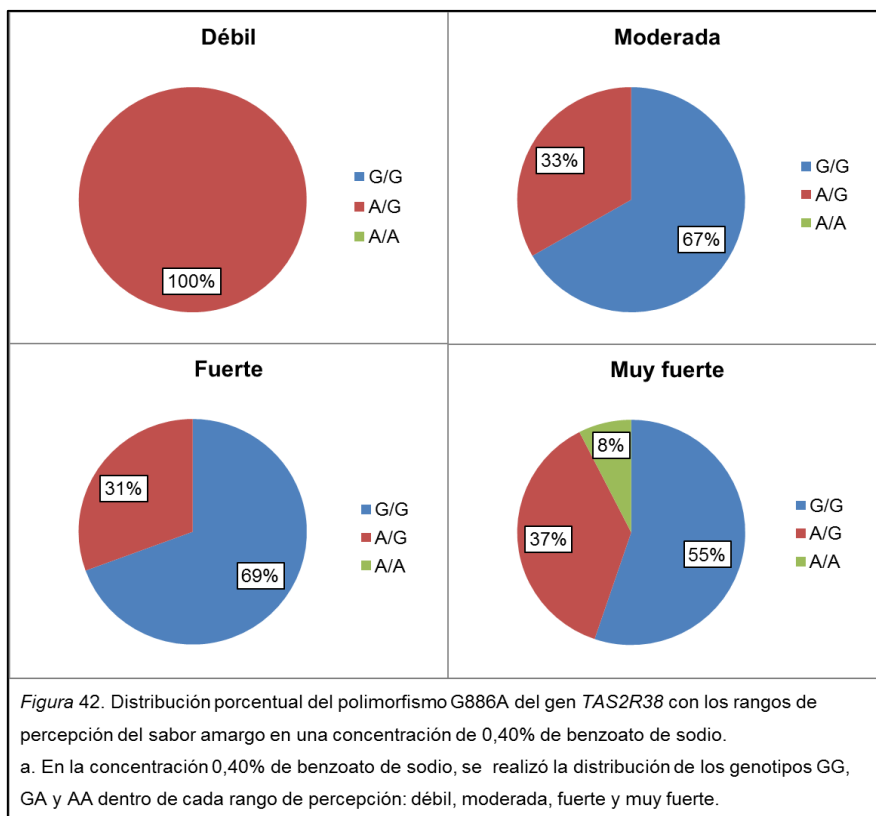


En la *Figura 41* se puede observar que la frecuencia del genotipo GG, del total de 110 individuos, en el rango débil es 3,6%, moderado 24,5%; fuerte 30,0% y muy fuerte 1,8%. Así mismo, la frecuencia del genotipo AG, del total, en el rango débil es 5,5%; moderada 8,2%; fuerte 20,9% y 0,9% en el rango muy fuerte. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del genotipo AA, del total, en los rangos débil, moderado y muy fuerte, mientras que en fuerte es 4,5%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.15$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

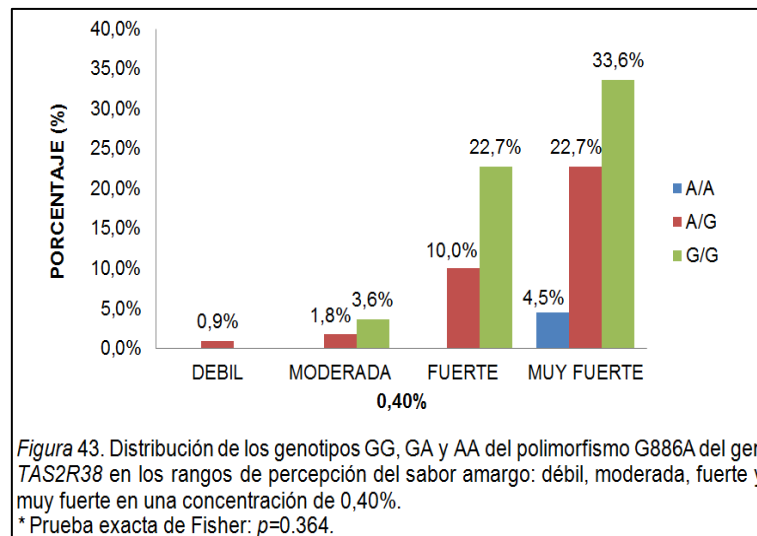


4.7.2.14 Asociación del polimorfismo G886A del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,40% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,40%, con los genotipos del polimorfismo G886A (*Figura 42*). En el rango débil, con una $n=1$, se puede observar una frecuencia de 0% en los genotipos GG y AA, y una frecuencia del 100,0% en el genotipo AG. En el rango moderado, con una $n=6$, se puede observar una frecuencia de 66,7% ($n=4$) en el genotipo GG; 33,3% ($n=2$) en el genotipo AG y 0% en el genotipo AA. En el rango fuerte, con una $n=36$, existió una frecuencia de 69,4% ($n=25$) en el genotipo GG; 30,6% ($n=11$) en el genotipo AG y 0% en el genotipo AA. Finalmente, en el rango muy fuerte, con una $n=67$, se observó una frecuencia de 55,2% ($n=37$) en el genotipo GG; 37,3% ($n=25$) en el genotipo AG y 7,5% ($n=5$) en el genotipo AA. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 20.

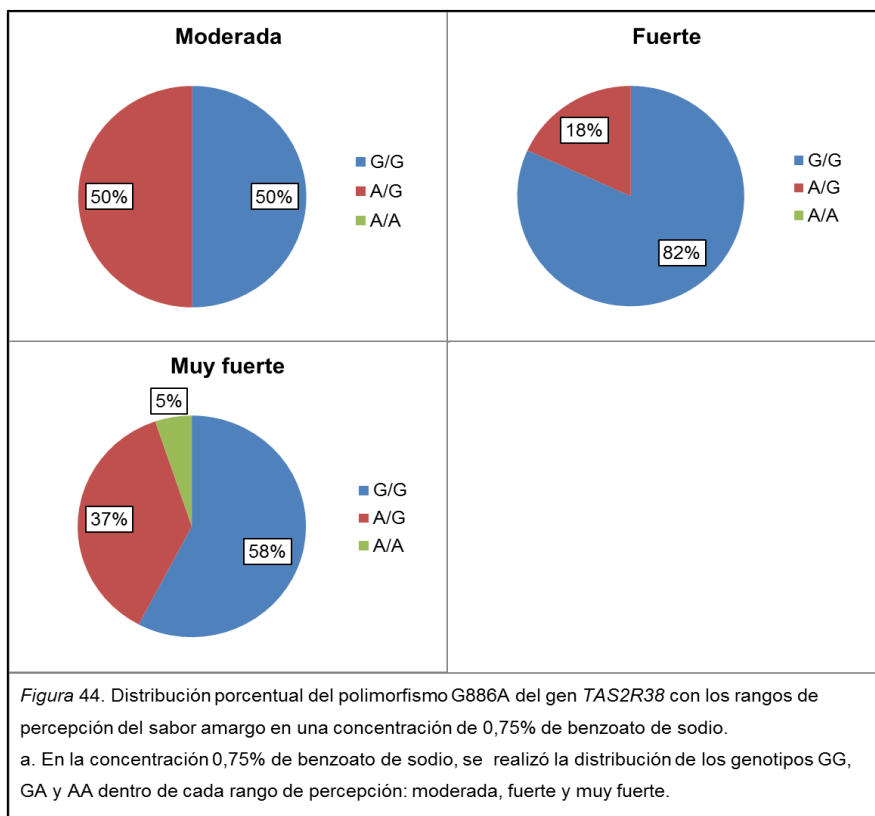


En la *Figura 43* se puede observar que la frecuencia del genotipo GG, del total de 110 individuos, en el rango débil es 0%, moderado 3,6%; fuerte 22,7% y muy fuerte 33,6%. Así mismo, la frecuencia del genotipo AG, del total, en el rango débil es 0,9%; moderada 1,8%; fuerte 10,0% y 22,7% en el rango muy fuerte. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del genotipo AA, del total, en los rangos débil, moderado y fuerte, pero si una frecuencia de 4,5% en muy fuerte. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.364$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

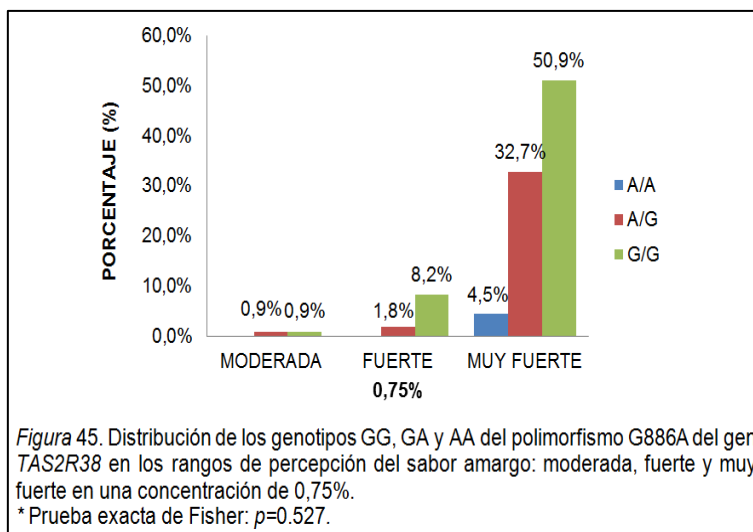


4.7.2.15 Asociación del polimorfismo G886A del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,75% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción en la concentración 0,75%, con los genotipos del polimorfismo G886A (Figura 44). En el rango moderado, con una $n=2$, se puede observar una frecuencia de 50,0% ($n=1$) en el genotipo GG; 50,0% ($n=1$) en el genotipo AG y 0% en el genotipo AA. En el rango fuerte, con una $n=11$, existió una frecuencia de 81,8% ($n=9$) en el genotipo GG; 18,2% ($n=2$) en el genotipo AG y 0% en el genotipo AA. Finalmente, en el rango muy fuerte, con una $n=97$, se observó una frecuencia de 57,7% ($n=56$) en el genotipo GG; 37,1% ($n=36$) en el genotipo AG y 5,2% ($n=5$) en el genotipo AA. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 21.



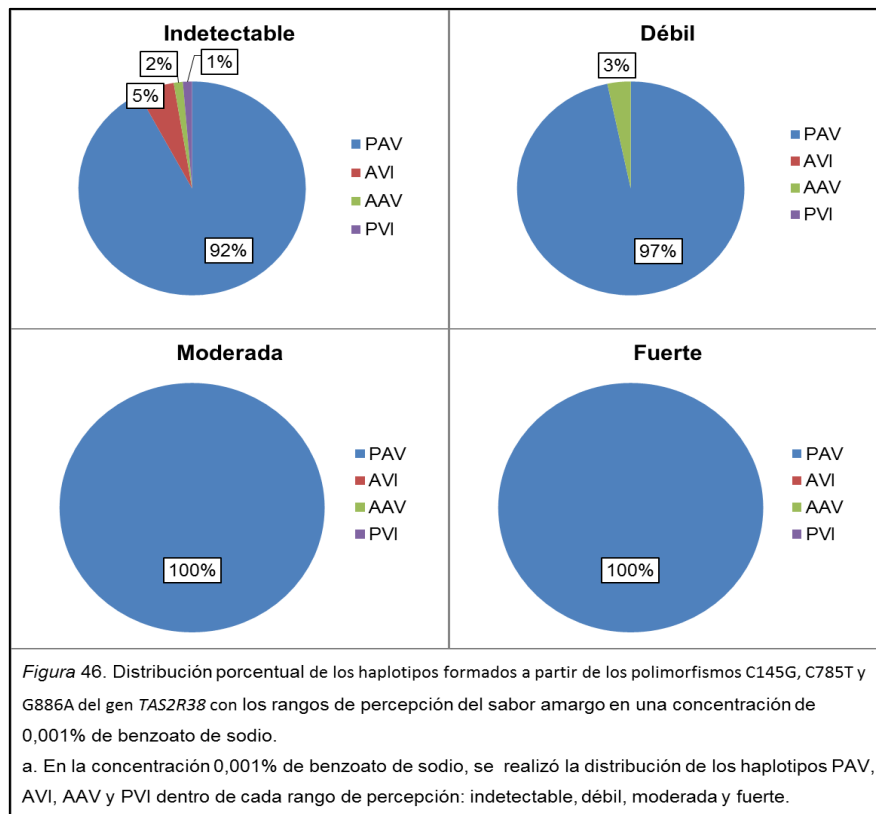
En la *Figura 45* se puede observar que la frecuencia del genotipo GG, del total de 110 individuos, en el rango moderado es 0,9%; fuerte 8,2% y muy fuerte 50,9%. Así mismo, la frecuencia del genotipo AG, del total, en el rango moderada 0,9%; fuerte 1,8% y 32,7% en el rango muy fuerte. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del genotipo AA, del total, en los rangos moderado y fuerte, mientras que en el rango muy fuerte es 4,5%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.527$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.



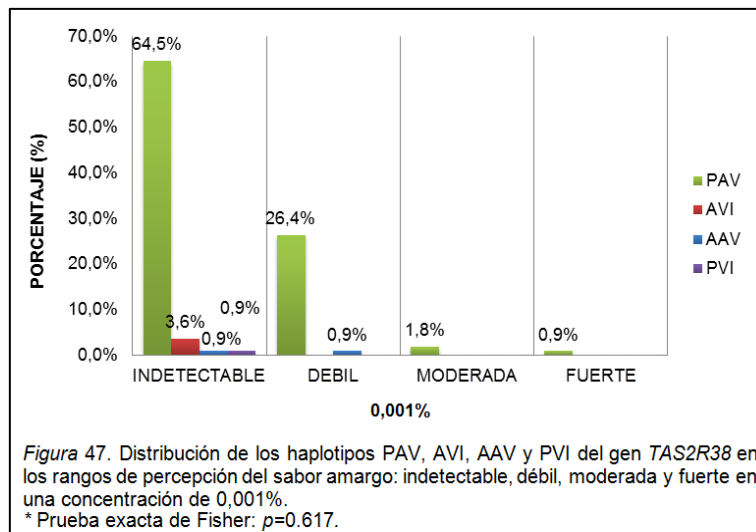
4.7.3 Asociación de los haplotipos del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo

4.7.3.1 Asociación de los haplotipos del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,001% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción, en la concentración 0,001%, con los haplotipos AAV, AVI, PAV y PVI (*Figura 46*). Se puede observar que en el rango indetectable, con una $n=77$, existió una frecuencia de 1,3% ($n=1$) del haplotipo AAV; 5,2% ($n=4$) del AVI; 92,2% ($n=71$) del PAV y 1,3% ($n=1$) del PVI. En el rango débil, con una $n=30$, se puede observar una frecuencia de 3,3% ($n=1$) del haplotipo AAV, 96,7% ($n=29$) del PAV y 0% de AVI y PVI. En el rango moderado, no existieron frecuencias en los haplotipos AAV, AVI y PVI, pero si una frecuencia del 100,0% ($n=2$) en el haplotipo PAV. Finalmente, en el rango fuerte, con una $n=1$, existió una frecuencia de 100,0% en el haplotipo PAV. En una concentración de 0,001% de benzoato de sodio, existe una mayor variabilidad de haplotipos en el rango indetectable, mientras que existe mayoría o únicamente el haplotipo PAV en los demás rangos. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 22.

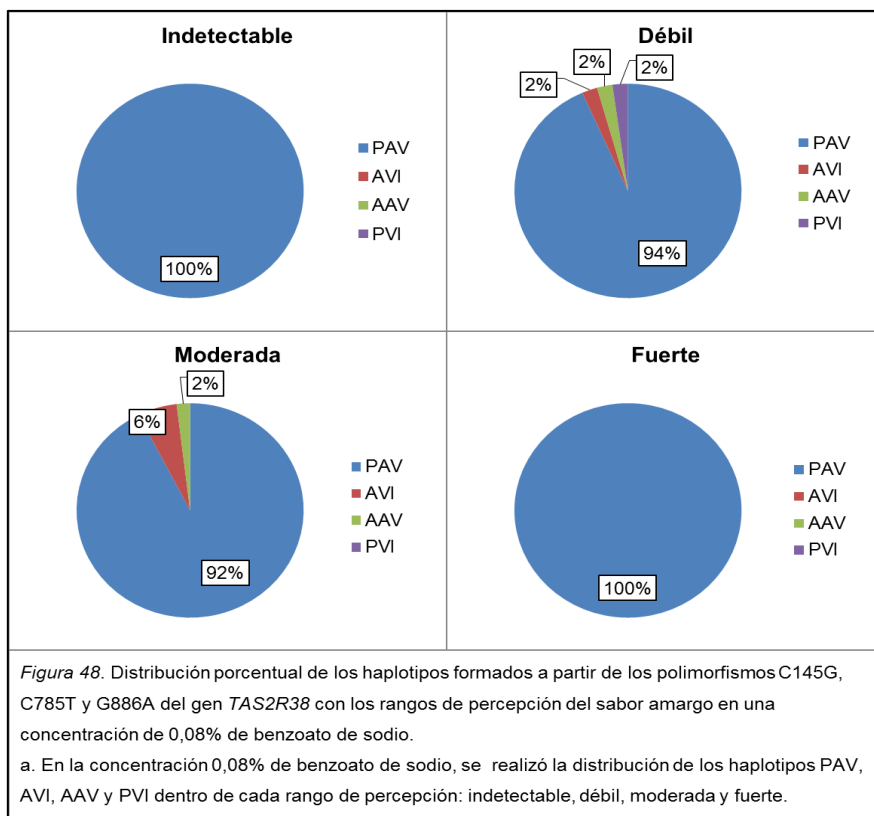


En la *Figura 47* se puede observar que la frecuencia del haplotipo AAV, del total de 110 individuos, en los rangos moderado y fuerte es 0%, mientras que en los rangos indetectable y débil es 0,9%. Así mismo, la frecuencia del haplotipo AVI, del total, en el rango indetectable es 3,6% y sin frecuencia en los demás rangos. La frecuencia del haplotipo PAV, del total, en el rango indetectable es 64,5%; débil 26,4%; moderado 1,8% y fuerte 0,9%. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del haplotipo PVI, del total, en los rangos débil, moderado y fuerte, mientras que existió una frecuencia de 0,9% en el rango indetectable. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.617$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

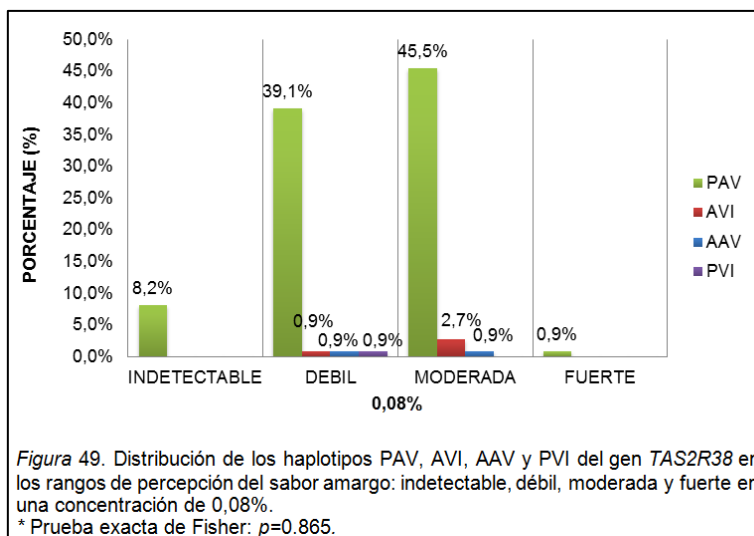


4.7.3.2 Asociación de los haplotipos del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,08% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción, en la concentración 0,08%, con los haplotipos AAV, AVI, PAV y PVI (*Figura 48*). Se puede observar que en el rango indetectable, con una $n=9$, la frecuencia del haplotipo PAV es el 100%. En el rango débil, con una $n=46$, se puede observar una frecuencia igual de 2,2% en los haplotipos AAV, AVI y PVI y una frecuencia de 93,5% ($n=43$) en el haplotipo PAV. En el rango moderado, con una $n=54$, se puede observar una frecuencia de 1,9% ($n=1$) en el haplotipo AAV; 5,6% ($n=3$) en AVI; 92,6% ($n=50$) en PAV y sin frecuencia en el haplotipo PVI. Finalmente, en el rango fuerte, con una $n=1$, existió una frecuencia de 100,0% en el haplotipo PAV. En una concentración de 0,08% de benzoato de sodio, existe una mayor variabilidad de haplotipos en los rangos débil y moderada, mientras que existe solamente el haplotipo PAV en los rangos indetectable y fuerte. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 23.

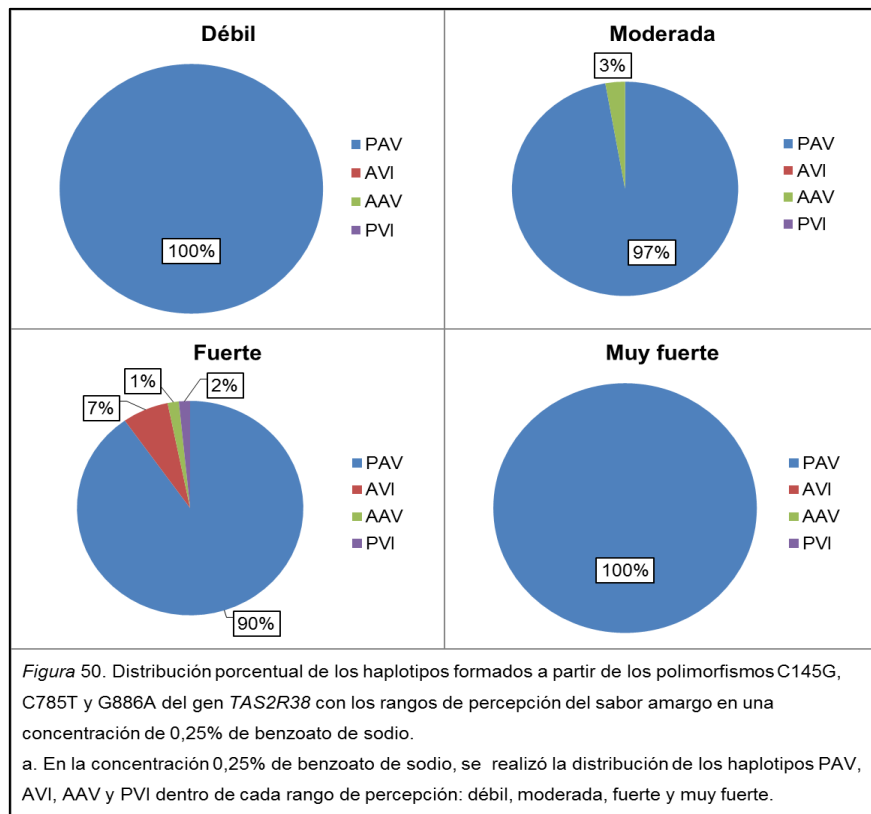


En la *Figura 49* se puede observar que la frecuencia del haplotipo AAV, del total de 110 individuos, en los rangos indetectable y fuerte es 0%, mientras que en los rangos débil y moderado es 0,9%. Así mismo, la frecuencia del haplotipo AVI, del total, en los rangos indetectable y fuerte es 0%, en débil es 0,9% y moderado es 2,7%. La frecuencia del haplotipo PAV, del total, en el rango indetectable es 8,2%; débil 39,1%; moderado 45,5% y fuerte 0,9%. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del haplotipo PVI, del total, en los rangos indetectable, moderado y fuerte, mientras que existió una frecuencia de 0,9% en el rango débil. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.865$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

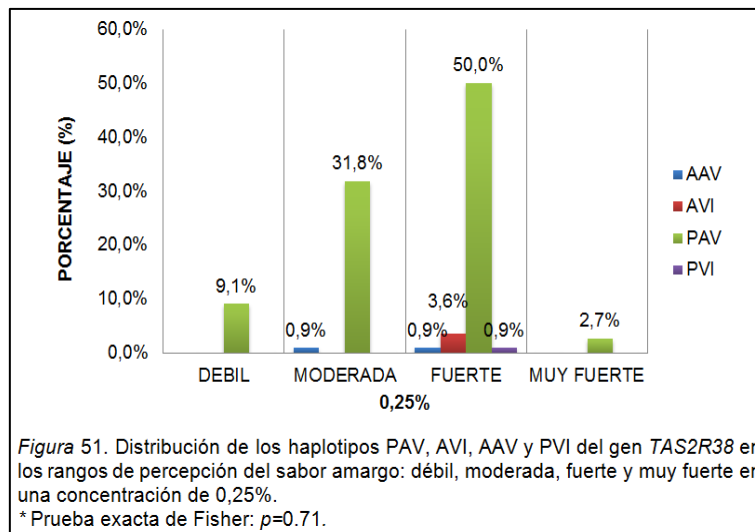


4.7.3.3 Asociación de los haplotipos del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,25% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción, en la concentración 0,25%, con los haplotipos AAV, AVI, PAV y PVI (*Figura 50*). En el rango débil, con una $n=10$, se puede observar una frecuencia de 100,0% en el haplotipo PAV. En el rango moderado, con una $n=36$, se puede observar una frecuencia de 2,8% ($n=1$) en el haplotipo AAV; 97,2% ($n=35$) en PAV y sin frecuencia en los haplotipos AVI y PVI. En el rango fuerte, con una $n=61$, existió una frecuencia de 1,6% ($n=1$) en el haplotipo AAV; 6,6% ($n=4$) en AVI; 90,2% ($n=55$) en PAV y 1,6% ($n=1$) en el haplotipo PVI. Finalmente, en el rango muy fuerte, con una $n=3$, se observó una frecuencia de 100,0% en el haplotipo PAV. En una concentración de 0,25% de benzoato de sodio, existe una mayor variabilidad de haplotipos en el rango fuerte, mientras que existe mayoría o únicamente el haplotipo PAV en los rangos débil, moderada y muy fuerte. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 24.

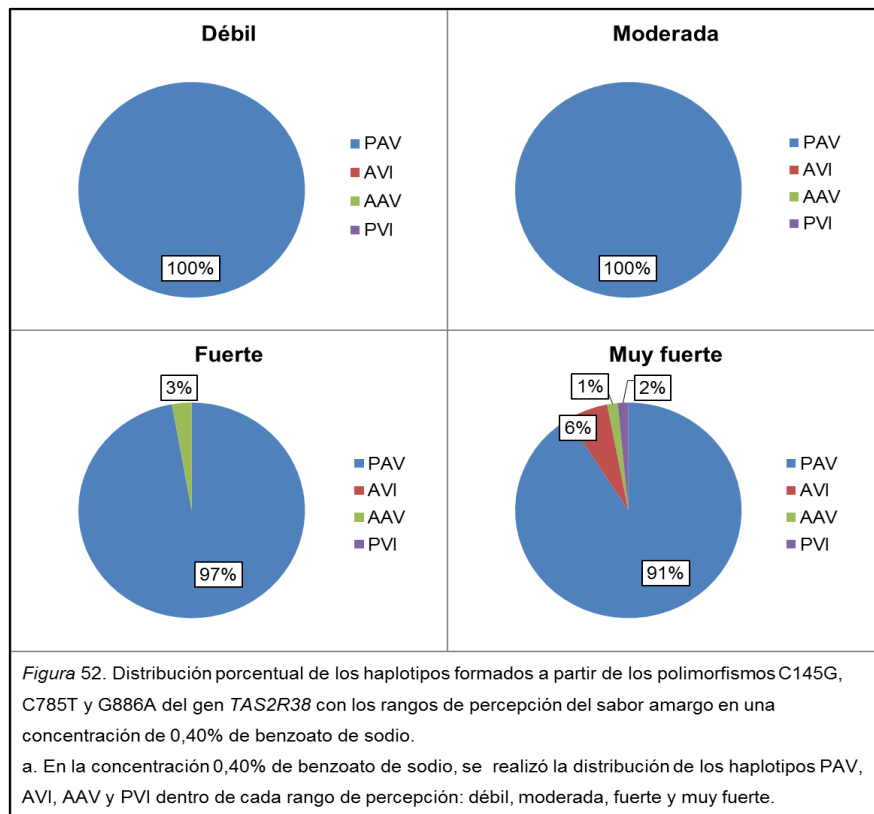


En la *Figura 51* se puede observar que la frecuencia del haplotipo AAV, del total de 110 individuos, en el rango débil es 0%; moderado es 0,9%; fuerte 0,9% y muy fuerte 0%. Así mismo, la frecuencia del haplotipo AVI, del total, en el rango débil es 0%; moderado es 0%; fuerte 3,6% y 0% en el rango muy fuerte. La frecuencia del haplotipo PAV, del total, en el rango débil es 9,1%; moderado es 31,8%; fuerte 50,0% y 2,7% en muy fuerte. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del haplotipo PVI, del total, en los rangos débil, moderado y muy fuerte, mientras que en el rango fuerte es 0,9%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.71$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

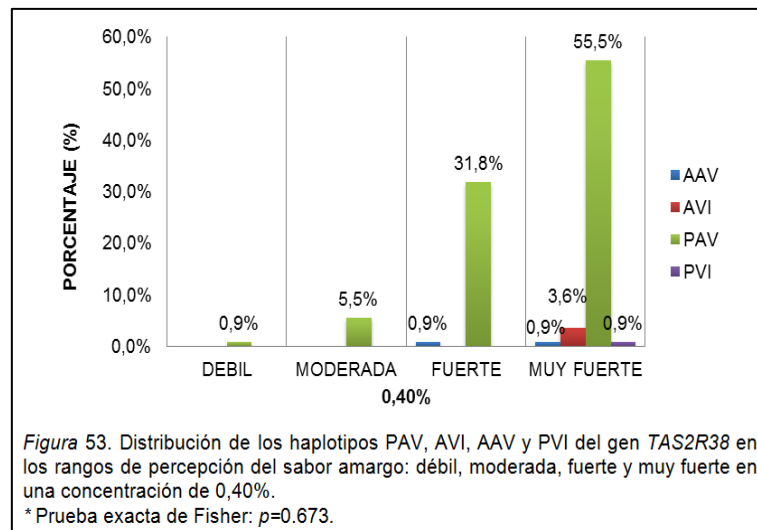


4.7.3.4 Asociación de los haplotipos del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,40% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción, en la concentración 0,40%, con los haplotipos AAV, AVI, PAV y PVI (Figura 52). En el rango débil, con una $n=1$, se puede observar una frecuencia de 100,0% en el haplotipo PAV. En el rango moderado, con una $n=6$, se puede observar una frecuencia de 100,0% en el haplotipo PAV. En el rango fuerte, con una $n=36$, existió una frecuencia de 2,8% ($n=1$) en el haplotipo AAV; 97,2% ($n=35$) en el haplotipo PAV y sin frecuencia en los haplotipos AVI y PVI. Finalmente, en el rango muy fuerte, con una $n=67$, se observó una frecuencia 1,5% ($n=1$) en el haplotipo AAV; 6,0% ($n=4$) en AVI; 91,0% ($n=61$) en PAV y 1,5% ($n=1$) en PVI. En una concentración de 0,40% de benzoato de sodio, existe una mayor variabilidad de haplotipos en el rango muy fuerte, mientras que existe mayoría o únicamente el haplotipo PAV en los rangos débil, moderado y fuerte. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 25.

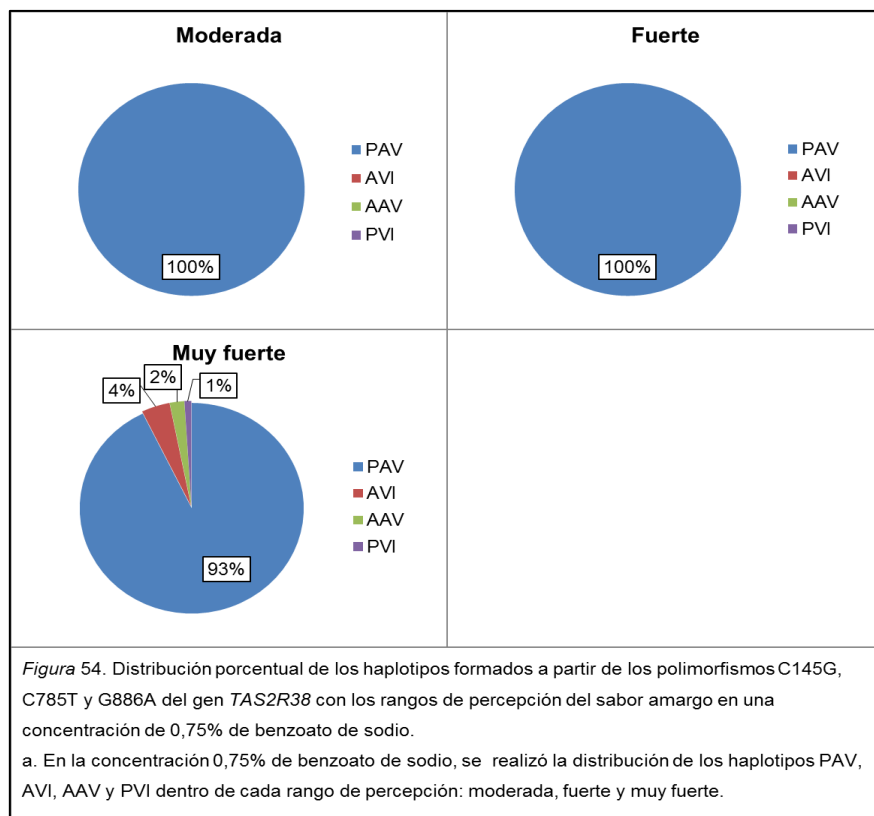


En la *Figura 53* se puede observar que la frecuencia del haplotipo AAV, del total de 110 individuos, en el rango débil es 0%; moderado es 0%; fuerte 0,9% y muy fuerte 0,9%. Así mismo, la frecuencia del haplotipo AVI, del total, en el rango débil es 0%; moderado es 0%; fuerte 0% y 3,6% en el rango muy fuerte. La frecuencia del haplotipo PAV, del total, en el rango débil es 0,9%; moderado es 5,5%; fuerte 31,8% y 55,5% en muy fuerte. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del haplotipo PVI, del total, en los rangos débil, moderado y fuerte, mientras que en el rango muy fuerte es 0,9%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=0.673$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.

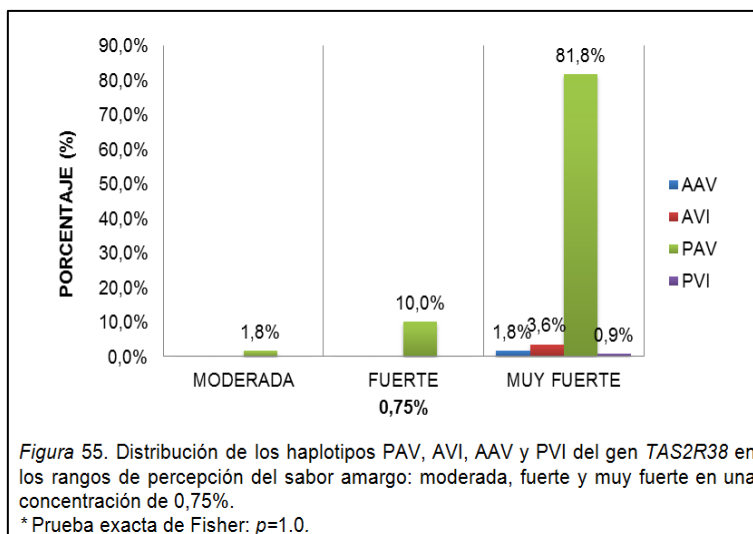


4.7.3.5 Asociación de los haplotipos del gen *TAS2R38* con la concentración de 0,75% de benzoato de sodio

Se realizó una asociación de los rangos de percepción, en la concentración 0,75%, con los haplotipos AAV, AVI, PAV y PVI (*Figura 54*). En el rango moderado, con una $n=2$, se puede observar una frecuencia de 100,0% en el haplotipo PAV. En el rango fuerte, con una $n=11$, existió una frecuencia de 100,0% en el haplotipo PAV. Finalmente, en el rango muy fuerte, con una $n=97$, se observó una frecuencia de 2,1% ($n=2$) en el haplotipo AAV; 4,1% ($n=4$) en AVI; 92,8% ($n=90$) en PAV y 1,0% ($n=1$) en el haplotipo PVI. En una concentración de 0,75% de benzoato de sodio, existe una mayor variabilidad de haplotipos en el rango muy fuerte, mientras que existe únicamente el haplotipo PAV en los rangos débil y moderado. Los valores y frecuencias de la asociación se encuentran descritos en su totalidad en el Anexo 26.



En la *Figura 55* se puede observar que la frecuencia del haplotipo AAV, del total de 110 individuos, en el rango moderado es 0%; fuerte 0% y muy fuerte 1,8%. Así mismo, la frecuencia del haplotipo AVI, del total, en el rango moderado es 0%; fuerte 0% y 3,6% en el rango muy fuerte. La frecuencia del haplotipo PAV, del total, en el rango moderado es 1,8%; fuerte 10,0% y 81,8% en muy fuerte. Finalmente se puede observar que no existieron frecuencias del haplotipo PVI, del total, en los rangos moderado y fuerte, mientras que en el rango muy fuerte es 0,9%. Se obtuvo un valor de F Fisher $p=1,0$, demostrando que no existió significancia en esta asociación.



4.7.4 Percepción del sabor amargo, en concentraciones de 0,001%-0,08%-0,25%-0,40%-0,75% de benzoato de sodio, según el género

En la evaluación sensorial bajo diferentes concentraciones de benzoato de sodio, los individuos clasificaron la percepción del sabor amargo según rangos paramétricos (Indetectable, débil, moderado, fuerte y muy fuerte. Los resultados de la evaluación sensorial fueron estratificados según el género de los individuos (Female-Male).

En la *Figura 56* se puede observar que existe una mayor percepción del sabor amargo del sexo femenino que del sexo masculino. Como se puede observar en la Tabla 15, solamente en la concentración de 0,001% de benzoato de sodio, se observó una diferencia significativa ($P=0,040$) de la percepción del sabor amargo entre mujeres y hombres. En esta concentración, en el rango indetectable, se observó una frecuencia femenina de 36,4% y masculina 33,6%. En el rango débil se observó una frecuencia femenina de 20,9% y masculina 6,4%. En el rango moderado, se observó una frecuencia femenina y masculina de 0,9%. En el rango fuerte, se observó solamente una frecuencia femenina de 0,9%.

En la concentración de 0,08% de benzoato de sodio, en el rango indetectable, se observó una frecuencia femenina de 5,5% y masculina 2,7%. En el rango débil se observó una frecuencia femenina y masculina de 20,9%. En el rango

moderado, se observó una frecuencia femenina de 31,8% y masculina 17,3%. En el rango fuerte, se observó solamente una frecuencia femenina de 0,9%.

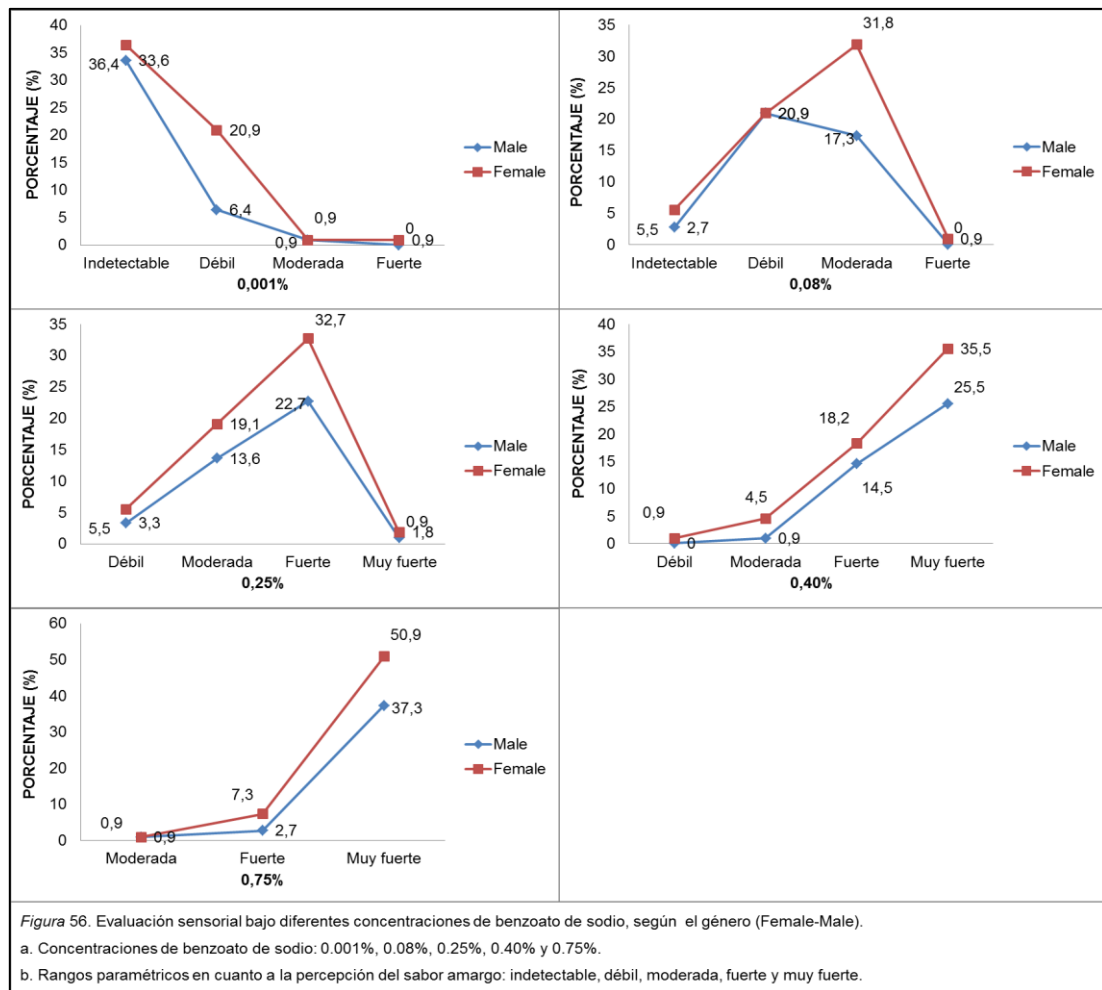
En la concentración 0,25% de benzoato de sodio, en el rango débil, se observó una frecuencia femenina de 5,5% y masculina 3,3%. En el rango moderado se observó una frecuencia femenina de 19,1% y masculina 13,6%. En el rango fuerte, se observó una frecuencia femenina de 32,7% y masculina 22,7%. En el rango muy fuerte, se observó una frecuencia femenina de 1,8% y masculina 0,9%.

En la concentración 0,40% de benzoato de sodio, en el rango débil, se observó solamente una frecuencia femenina de 0,9%. En el rango moderado se observó una frecuencia femenina de 4,5% y masculina 0,9%. En el rango fuerte, se observó una frecuencia femenina de 18,2% y masculina 14,5%. En el rango muy fuerte, se observó una frecuencia femenina de 35,5% y masculina 25,5%.

Finalmente, en la concentración 0,75% de benzoato de sodio, en el rango moderado se observó una frecuencia femenina y masculina de 0,9%. En el rango fuerte, se observó una frecuencia femenina de 7,3% y masculina 2,7%. En el rango muy fuerte, se observó una frecuencia femenina de 50,9% y masculina 37,3%.

Tabla 15. Asociación de los rangos de percepción del sabor amargo, en diferentes concentraciones de benzoato de sodio, con el género.

Concentraciones	Sexo				Total		Estadística		
	F	%	M	%	N	%	F Fisher	P	
0,001%	Indetectable	40	36,4	37	33,6	77	70	6,454	0,040
	Débil	23	20,9	7	6,4	30	27,3		
	Moderada	1	0,9	1	0,9	2	1,8		
	Fuerte	1	0,9	0	0	1	0,9		
0,08%	Indetectable	6	5,5	3	2,7	9	8,2	3,115	0,349
	Débil	23	20,9	23	20,9	46	41,8		
	Moderada	35	31,8	19	17,3	54	49,1		
	Fuerte	1	0,9	0	0	1	0,9		
0,25%	Débil	6	5,5	4	3,3	10	9,1	0,260	1,000
	Moderada	21	19,1	15	13,6	36	32,7		
	Fuerte	36	32,7	25	22,7	61	55,5		
	Muy fuerte	2	1,8	1	0,9	3	2,7		
0,40%	Débil	1	0,9	0	0	1	0,9	2,140	0,601
	Moderada	5	4,5	1	0,9	6	5,5		
	Fuerte	20	18,2	16	14,5	36	32,7		
	Muy fuerte	39	35,5	28	25,5	67	60,9		
0,75%	Moderada	1	0,9	1	0,9	2	1,8	1,179	0,682
	Fuerte	8	7,3	3	2,7	11	10		
	Muy fuerte	56	50,9	41	37,3	97	88,2		



4.7.5 Asociación de la percepción del sabor amargo, en concentraciones de 0,001%-0,08%-0,25%-0,40%-0,75% de benzoato de sodio, con los hábitos

Se realizó la asociación de cada hábito (Fumar, Café, Alcohol, Enfermedades, Antecedentes familiares de cáncer y medicinas) con la percepción del sabor amargo, en diferentes concentraciones de benzoato de sodio (0,001%-0,08%-0,25%-0,40%-0,75%).

En una concentración de 0,001% de benzoato de sodio, se observaron diferencias significativas en el consumo de tabaco ($P=0.033$) y consumo de alcohol ($P=0.013$) asociados a la percepción del sabor amargo. No existieron diferencias significativas en el consumo de café, enfermedades, antecedentes familiares ni medicinas ($p>0,05$) (Tabla 16).

Tabla 16. Asociación de la percepción del sabor amargo, en la concentración 0,001%, con diferentes hábitos

Concent.	Fuma		Café		Alcohol		Enferm.		Ant. Fam.		Medicinas	
	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
0,001%	0,3	0,7	0,5	0,5	0,4	0,6	0,40	0,60	0,60	0,40	0,20	0,80
P	0,033		0,079		0,013		0,949		0,433		0,584	

En la concentración de 0,08% de benzoato de sodio, se observaron diferencias significativas en el consumo de alcohol ($P=0.012$), presencia de alguna enfermedad ($P=0.033$) y antecedentes familiares de cáncer ($P=0.009$) asociados a la percepción del sabor amargo. No existieron diferencias significativas en el consumo de tabaco, café y medicinas ($p>0,05$) (Tabla 17).

Tabla 17. Asociación de la percepción del sabor amargo, en la concentración 0,08%, con diferentes hábitos

Concent.	Fuma		Café		Alcohol		Enferm.		Ant. Fam.		Medicinas	
	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
0,08%	0,3	0,7	0,5	0,5	0,4	0,6	0,4	0,6	0,6	0,4	0,2	0,8
P	0,173		0,607		0,012		0,033		0,009		0,733	

En la concentración de 0,25% de benzoato de sodio, se observaron diferencias significativas en el consumo de alcohol ($P=0.047$) y antecedentes familiares de cáncer ($P=0.017$) asociados a la percepción del sabor amargo. No existieron diferencias significativas en el consumo de tabaco, café, medicamentos y enfermedades ($p>0,05$) (Tabla 18).

Tabla 18. Asociación de la percepción del sabor amargo, en la concentración 0,25%, con diferentes hábitos

Concent.	Fuma		Café		Alcohol		Enferm.		Ant. Fam.		Medicinas	
	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
0,25%	0,3	0,7	0,5	0,5	0,4	0,6	0,4	0,6	0,6	0,4	0,2	0,8
P	0,274		0,853		0,047		0,255		0,017		0,157	

En las concentraciones 0,40% y 0,75% de benzoato de sodio, no se observaron diferencias significativas en la asociación de los hábitos con la percepción del sabor amargo ($p>0,05$) (Tabla 19 y 20).

Tabla 19. Asociación de la percepción del sabor amargo, en la concentración 0,40%, con diferentes hábitos

Concent.	Fuma		Café		Alcohol		Enferm.		Ant. Fam.		Medicinas	
	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
0,40%	0,3	0,7	0,5	0,5	0,4	0,6	0,4	0,6	0,6	0,4	0,2	0,8
P	0,208		0,323		0,661		0,215		0,108		0,185	

Tabla 20. Asociación de la percepción del sabor amargo, en la concentración 0,75%, con diferentes hábitos

Concent.	Fuma		Café		Alcohol		Enferm.		Ant. Fam.		Medicinas	
	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
0,75%	0,3	0,7	0,5	0,5	0,4	0,6	0,4	0,6	0,6	0,4	0,2	0,8
P	0,165		0,602		0,458		0,508		0,095		0,138	

5. DISCUSIÓN

Las poblaciones concentran diversas variantes del gen *TAS2R38* que les confiere diferentes rangos de susceptibilidad al sabor amargo (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225). La presencia de personas “catadoras” y “no catadoras” del sabor amargo, ha sido el factor que determina el indicio de la existencia de una gran diferencia en la genética poblacional (Anexo 1). En los últimos años se ha incrementado el estudio genético de esta característica gustativa en poblaciones de Europa, Asia y Norte América (Guo y Reed, 2001, pp. 111-142). En Ecuador, Sunderland y Ryman (1968, pp. 339-344) fueron los únicos en registrar datos fenotípicos sobre la percepción poblacional del sabor amargo con el compuesto feniltiocarbamida. Sin embargo, no se han registrado datos sobre la genética poblacional del Ecuador asociados a los polimorfismos del gen *TAS2R38*. Debido a este vacío genético, esta investigación resulta interesante ya que estudió la presencia de polimorfismos gustativos asociados a la percepción del sabor amargo en individuos del cantón Quito. Además contribuye con información científica que permitirá conocer el comportamiento genético de la población ecuatoriana en cuanto a la percepción gustativa.

Evaluación sensorial con benzoato de sodio

Como se mencionó anteriormente, el análisis fenotípico de la percepción del sabor amargo fue clasificado en rangos paramétricos establecidos. Acorde a Zhao, Kirkmeyer y Tepper (2003, pp. 625-633) y Tepper *et al.* (2008, pp. 2289-2295), estos rangos fueron categorizados en los subgrupos genotípicos: súper catador (Fuerte y muy fuerte), catador moderado (Débil y moderado) y no catador (Indetectable).

En los datos presentados, los individuos del cantón Quito demostraron una distribución mayoritaria de no catadores (70%) del sabor amargo del benzoato de sodio al 0,001%. En una concentración de 0,08%; se encontró una mayor distribución de catadores moderados (90,9%). En una concentración de 0,25% de benzoato de sodio, se encontró un equilibrio en la distribución de catadores moderados (41.8%), pero mayoritaria en súper catadores (58,2%). En las

concentraciones 0,40% y 0,75%; se observó una mayor distribución de súper catadores (93,6% y 98,2%). A partir de las frecuencias, se puede determinar que en Ecuador, el número de catadores, tanto súper catadores como catadores moderados, es mayor al número de no catadores. Datos fenotípicos similares fueron registrados por Sunderland y Ryman (1968, pp. 339-344), al realizar una evaluación sensorial con diferentes soluciones de feniltiocarbamida (PTC) en la población Shuar (n=327) ubicada en la selva del Ecuador. En los datos fenotípicos de la población ecuatoriana, se encontró que a una concentración 0,325 g/L, existe una distribución del 97,9% de individuos catadores del sabor amargo.

Por otro lado, en el sur de Italia (n=540) se realizó una evaluación sensorial con propiltiouracilo (PROP) (50 $\mu\text{mol/L}$), en donde se registró una mayor distribución de individuos no catadores del sabor amargo (38,5%) y menor en catadores moderados (40,3%) y súper catadores (21,2%) (Tepper *et al.*, 2008, pp. 2289-2295), a diferencia del número elevado de catadores y bajo en no catadores del sabor amargo que fueron registrados en Ecuador. De igual manera, Zhao, Kirkmeyer y Tepper (2003, pp. 625-633) mediante una evaluación sensorial con propiltiouracilo (0,032; 0,32 y 3,2 mM) registraron en una población (n=62; Caucásicos, asiáticos, Negros e hispanos) una distribución del 32% de individuos no catadores del sabor amargo, 40% catadores moderados y 28% súper catadores, y, en una población (n=62; Caucásicos) una distribución de 21% de no catadores, 44% catadores moderados y 35% súper catadores. Al igual que Tepper y sus colaboradores, se observó una frecuencia mayor de individuos no catadores en comparación a la baja frecuencia de no catadores en Ecuador.

Análisis genotípico de las variantes C145G, C785T y G886A

La presencia de polimorfismos y los cambios de aminoácidos en las proteínas G, pueden afectar la función de los receptores acoplados a las proteínas G (GPCRs) de varias maneras. En el gen TAS2R38, existe el cambio C/G en el nucleótido 145 que genera una alteración aminoacídica prolina/alanina en la posición 49 y reside en el primer lazo (“loop”) intracelular entre los dominios

transmembrana 1 y 2. En el mismo gen, se encuentra el cambio C/T en el nucleótido 785 que genera una alteración aminoacídica alanina/valina en la posición 262 y se encuentra en el sexto dominio transmembrana. Así mismo, se encuentra el cambio G/A en el nucleótido 886 que genera un cambio entre los aminoácidos valina/isoleucina en la posición 296 y reside en el séptimo dominio transmembrana. Se ha demostrado que las sustituciones en las posiciones 49 y 262 alteran significativamente la función bioquímica de la proteína G e interfieren en la activación de los receptores, mientras que la sustitución en la posición 296 modifica la función de la proteína de manera más sutil (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; Biarnés *et al.*, 2010). A partir de esto, se demostró que existe una diferencia funcional en el gen *TAS2R38* de un individuo catador en comparación a un individuo no catador (Bufe *et al.*, 2005, pp. 322-327).

En esta investigación se analizaron 110 muestras de individuos del cantón Quito y se encontró que en el polimorfismo C145G, existe una distribución del 60% de individuos homocigotos C/C; 34,5% individuos heterocigotos C/G y 5,5% individuos homocigotos G/G. En el polimorfismo C785T se encontró una distribución del 62,7% de individuos homocigotos C/C; 32,7% de individuos heterocigotos C/T y 4,5% de individuos homocigotos TT. Finalmente en el polimorfismo G886A, se encontró una distribución de homocigotos GG del 60%, heterocigotos GA 35,5% y homocigotos AA 4,5%. Los tres polimorfismos del gen *TAS2R38* han sido identificados en estudios previos y se han registrado que las poblaciones caucásicas, de África y Asia, tienen una distribución de 54% del alelo C145, 59% del alelo C785 y 45% del alelo G886 (Behrens, Gunn, Ramos, Meyerhof y Wooding, 2013, pp. 475-784). Así mismo, Kim y colaboradores registraron en poblaciones europeas y asiáticas, una frecuencia de 36% del alelo C145, 38% del alelo C785 y 38% del alelo G886 (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225). A partir de las frecuencias observadas en la literatura y en esta investigación, es posible determinar que existe una menor frecuencia de alelos de un no catador (homocigotos recesivos). Acorde a Wooding *et al.* (2004, pp. 637-646) se podría esperar una mayor diversidad de

alelos no catadores, si estos fueran alelos rotos (*“broken alleles”*) que expresan el patrón de herencia dominante de un catador.

Análisis de los haplotipos

La combinación de los tres polimorfismos P49A, A262V y V296I del gen *TAS2R38*, da lugar a cinco haplotipos comunes relacionados al estado de percepción del sabor amargo. Existe una variedad de factores, como la subdivisión de la población y el equilibrio en la selección natural, que pueden dar lugar a la presencia, ausencia o abundancia de dos o más haplotipos en poblaciones de alrededor del mundo (Wooding *et al.*, 2004, pp. 637-646). En las poblaciones de Europa, Asia y Norte América, se han observado que los dos haplotipos más comunes son PAV, formado a partir de una prolina-alanina-valina, y AVI, formado de una alanina-valina-isoleucina. De igual manera, en estas poblaciones se han identificado tres haplotipos más: AAV, AAI y PVI (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225). A pesar de que en Ecuador no existan registros sobre los haplotipos presentes en la población ecuatoriana, esta investigación logró registrar cuatro haplotipos en los individuos del cantón Quito (n=110): PAV, AVI, AAV y PVI.

Mediante los resultados de secuenciación y la construcción de los haplotipos, se logró determinar que existe una extensa distribución del haplotipo PAV en la población estudiada (93,6%) y una baja distribución de los haplotipos AVI (3,6%), AAV (1,8%) y PVI (0,9%). De igual manera, se observó que los individuos del cantón Quito no presentan el haplotipo AAI. Kim *et al.* (2003, pp. 1221-1225) y Timpson *et al.* (2005, pp. 1005-1011) basaron sus estudios de haplotipos del gen *TAS2R38* en diferentes poblaciones del mundo, y coincidieron que en la población de Europa (n=200) existen solo tres haplotipos PAV, AVI y AAV, con una distribución de 49%, 48% y 3%, respectivamente. Por otra parte, en Asia existe solamente los haplotipos PAV y AVI, pero con diferentes distribuciones, en el Este asiático (n=54) se observa una distribución del 30% del haplotipo AVI y un 70% del haplotipo PAV, mientras que en el Oeste (n=22) se observa una distribución del 67% del haplotipo AVI y 33% de PAV. Es en la población de África (n=24) donde observaron la presencia de los

cinco haplotipos en la población, con una distribución del 50% en el haplotipo PAV, 25% en AVI, 4% AAV, 17% AAI y 4% PVI. Por último, en la población de Norte América (n=18), observaron una distribución del 100% en el haplotipo PAV.

Si se compara los resultados encontrados en estas cinco poblaciones con los resultados de la población ecuatoriana en estudio, se puede asumir que en Ecuador se presenta un porcentaje mayor del haplotipo PAV, al igual que la población norteamericana y un porcentaje menor, no observado en otras poblaciones, del haplotipo AVI. De igual manera, solamente en la población africana y ecuatoriana se observó un porcentaje del haplotipo PVI. Al igual que las poblaciones de Europa y Asia, la población estudiada no presentó una distribución en el haplotipo AAI. Así mismo, Tepper *et al.* (2008, pp. 2289-2295) lograron identificar los haplotipos presentes en la población de Italia (n=540), con una distribución del 66,7% en el haplotipo PAV; 28,3% en AVI y 5% en AAV. A comparación con los resultados de esta investigación, la población italiana no presenta el haplotipo PVI, pero presenta un elevado porcentaje del haplotipo PAV al igual que la población ecuatoriana.

Asociación de los genotipos con la percepción del sabor amargo

En la correlación fenotipo-genotipo, se asociaron los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen *TAS2R38* con cada concentración de benzoato de sodio y se observó el mismo modelo en todos los rangos. Es decir, en la menor concentración de benzoato de sodio (0,001%), en los rangos indetectable y débil, se observó la presencia de homocigotos dominantes: CC (C145G), CC (C785T) y GG (G886A), heterocigotos: CG (C145G), CT (C785T) y GA (G886A) y homocigotos recesivos GG (C145G), TT (C785T) y AA (G886A), mientras que en el rango fuerte se observó solamente la presencia de homocigotos dominantes, CC (C145G), CC (C785T) y GG (G886A). Sin embargo, en la mayor concentración de benzoato de sodio (0,75%), en los rangos moderado y fuerte se observó una distribución de homocigotos dominantes y heterocigotos CG (C145G) y CT (C785T), mientras que en el rango muy fuerte se observó la distribución de homocigotos dominantes: CC

(C145G), CC (C785T) y GG (G886A), heterocigotos: CG (C145G), CT (C785T) y GA (G886A) y homocigotos recesivos GG (C145G), TT (C785T) y AA (G886A). A partir de estos hallazgos es posible deducir que a bajas concentraciones de benzoato de sodio, los homocigotos recesivos no son capaces de percibir el sabor amargo a diferencia de los homocigotos dominantes. Por tal razón, los homocigotos recesivos necesitan concentraciones elevadas de benzoato de sodio para percibir el sabor amargo. A pesar de no encontrar significancia en los resultados, esta deducción está en concordancia con los hallazgos de Kim *et al.* (2003, pp. 1221-1225) y Biarnés *et al.* (2010) en donde determinaron que los cambios C/G, C/T y G/A alteran la función bioquímica de la proteína G e interfieren en la activación de los receptores, generando una disminución en la percepción del sabor amargo en concentraciones muy bajas. Un estudio basado en el polimorfismo C145G, logró establecer que individuos homocigotos dominantes CC poseen una elevada sensibilidad al sabor amargo, mientras que individuos heterocigotos CG tienen una percepción moderada e individuos homocigotos recesivos GG presentan una percepción nula del sabor (Khataan, Stewart, Brenner, Cornelis y El-Sohemy, 2009, pp. 251-256).

Asociación de los haplotipos con la percepción del sabor amargo

Varios estudios se basaron en encontrar la correlación que existe entre la percepción del sabor amargo en función a los haplotipos. A partir de esto, se logró demostrar que el haplotipo PAV está asociado a homocigotos dominantes que poseen una gran sensibilidad al sabor amargo (súper catadores). Por el contrario, se demostró que los homocigotos recesivos, que presentan el haplotipo AVI, poseen una baja o nula sensibilidad a este sabor (no catadores) (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225; Bufe *et al.*, 2005, pp. 322-327; Behrens *et al.*, 2013, pp. 475-784; Kim y Drayna., 2004, pp. 275-280; Garneau *et al.*, 2014, pp. 33). De igual manera, encontraron un número relativamente grande de individuos heterocigotos con sensibilidad intermedia al sabor amargo (catador moderado) asociados a los haplotipos PVI, AAV y AAI. Además observaron que cierto número de individuos con alta sensibilidad, homocigotos dominantes, y

baja sensibilidad, homocigotos recesivos, están también asociados a estos haplotipos (Campbell *et al.*, 2012, pp. 1141-1153; Mennella, Pepino, Duke y Reed, 2011, pp. 161-167). A partir de estas deducciones, se ha utilizado los haplotipos del gen *TAS2R38* como fuertes predictores de la respuesta a la percepción del sabor amargo (Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225).

Con respecto a la asociación fenotipo-haplotipos de esta investigación, se observó que a concentraciones bajas de benzoato de sodio (0,001%; 0,08% y 0,25%) solamente los haplotipos PAV percibieron el sabor amargo como fuerte, mientras que los haplotipos AVI, AAV y PVI lo percibieron como indetectable, débil o moderado. Por otro lado, en las concentraciones 0,40% y 0,75% de benzoato de sodio, se observó que los cuatro haplotipos percibieron el sabor amargo como muy fuerte. A partir de estos resultados y la literatura, es posible deducir que los haplotipos PAV tienen una percepción fuerte del sabor amargo, mientras que los haplotipos AVI tienen una nula percepción del sabor. De igual manera se puede deducir que los haplotipos AAV y PVI perciben el sabor amargo moderadamente, y necesitan de concentraciones elevadas de benzoato de sodio para percibir con un rango fuerte o muy fuerte.

Asociación de las variantes genotípicas con los hábitos

Los polimorfismos de los genes que están involucrados en la percepción de los sabores, pueden influenciar la preferencia alimentara, dieta, estado nutricional, enfermedades y hábitos de una persona. Ciertos estudios, han determinado que el consumo de alcohol, nicotina y cafeína, son hábitos que tienen una contribución genética substancial. Es posible que parte de esta contribución genética esté correlacionada con las variaciones en el gen *TAS2R38* y la percepción del sabor amargo (Driscoll, Perez, Cukrowicz, Butler y Joiner, 2006, pp. 21-27). Este estudio examinó si los polimorfismos del gen *TAS2R38* podrían tener un efecto en los hábitos de la población ecuatoriana. Se asociaron los polimorfismos C145G, C785T y G886A con el consumo de tabaco, café, alcohol, medicinas y la presencia de enfermedades. En el análisis de la población estudiada, no se encontró significancia entre los tres polimorfismos con los hábitos de cada individuo ($P > 0,05$). No obstante, en la

asociación del polimorfismo C145G con el consumo de alcohol, se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,02$). Esta observación concuerda con los estudios realizados por Duffy *et al.* (2004, pp. 1629-1637), en donde lograron asociar los genotipos del gen TAS2R38 con el consumo de alcohol, y utilizarlos como predictores para el alcoholismo. De igual manera, lograron asociar los haplotipos PAV y AVI con el consumo de alcohol determinando que los individuos con el haplotipo AVI consumen mayores cantidades de alcohol que los individuos con los haplotipos PAV, AAV, AAI y PVI ($P<0,01$).

Asociación de los hábitos con la percepción del sabor amargo

La percepción de lo amargo en los alimentos, bebidas o plantas, es considerado el clásico ejemplo de la variación en la habilidad de detectar el sabor (Paz-y-Miño, 2013, pp- 22-24). Como se mencionó anteriormente, los hábitos más asociados a la percepción del sabor amargo, debido al patrón de rechazo o aceptación, es el consumo de café, tabaco y alcohol. Ciertos estudios demuestran que los catadores del sabor amargo, consumen menos tabaco, café y alcohol que los no catadores debido a una aversión sensorial inherente. Este estado gustativo en individuos catadores, confiere cierta protección a la adicción (Duffy *et al.*, 2004, pp. 1629-1637). Las variaciones en los receptores del gusto pueden ser biomarcadores útiles para determinar la predisposición al alcoholismo. El etanol, posee componentes que otorgan a esta bebida un sabor dulce y amargo. La variación en la percepción del sabor amargo está directamente asociada a la percepción del sabor amargo del etanol y al consumo de brebajes alcohólicos. Se ha determinado que individuos con una alta sensibilidad a la amargura del etanol, ingieren menos cantidades de bebidas alcohólicas y son menos propensos a sufrir alcoholismo (Bachmanov y Beauchamp, 2007, pp. 389-414). Así mismo, se han realizado estudios donde se relaciona el consumo de tabaco con la percepción del sabor amargo. Al igual que en el alcohol, una baja sensibilidad a la amargura del tabaco (no catador) conduce a un mayor consumo diario y a una predisposición a sufrir adicción a la nicotina (Enoch, Harris y Goldman, 2001, pp. 399-404).

Ciertas enfermedades han sido atribuidas a la baja sensibilidad al sabor amargo y al consumo excesivo de compuestos tóxicos amargos en la comida (García-Bailo *et al.*, 2009, pp. 69-80). La percepción de este sabor y la variación en la habilidad de detección genera una gran controversia en si es beneficioso o no. Esto se debe a que las concentraciones altas de productos amargos generan un rechazo por parte de los catadores y es crítico para evadir compuestos tóxicos. Sin embargo, esta sensibilidad excesiva produce un rechazo de alimentos amargos que son ricos en compuestos anti-tumorales y anti-oxidantes. Esto genera un potencial riesgo a desarrollar enfermedades cardiovasculares, obesidad y cáncer. En Ecuador, se ha registrado una alta incidencia de bocio y se lo ha adjudicado a la no percepción del sabor amargo junto con el alto consumo de alimentos anti-tiroideos (Paz-y-Miño, 2013, pp-22-24).

En esta investigación se asoció la percepción del sabor amargo de catadores y no catadores con diferentes hábitos. En una solución, con benzoato de sodio al 0,001%, se encontraron asociaciones estadísticamente significativas de la percepción del sabor amargo en función al consumo de tabaco ($p=0,033$) y alcohol ($p=0,013$) de los individuos estudiados. De igual manera, a una concentración de 0,08% de benzoato de sodio, se encontraron asociaciones significativas de la percepción del sabor en función al consumo de alcohol ($p=0,012$), a la presencia de enfermedades ($p=0,033$) y antecedentes familiares de cáncer ($p=0,009$). Igualmente, se encontró significancia en el consumo de alcohol ($p=0,047$) y la presencia de antecedentes familiares de cáncer ($p=0,017$), asociados a la percepción del sabor amargo del benzoato de sodio al 0,25%.

Percepción del sabor amargo según el género

La percepción del sabor amargo varía de acuerdo a la genética, además de la edad, el ambiente, los hábitos alimenticios y el metabolismo de cada individuo. Sin embargo, varios estudios han demostrado que el género y los ciclos hormonales contribuyen a la percepción de este sabor. Se ha demostrado que en la mujer existe una variación en la percepción del sabor amargo durante el

ciclo menstrual, un aumento en la etapa de embarazo, y una disminución en la menopausia (Prutkin *et al.*, 2000, pp. 161-173). Genéticamente no deberían existir diferencias en la sensibilidad al sabor amargo entre hombres y mujeres, debido a que los polimorfismos del gen *TAS2R38* no se encuentran en un cromosoma sexual. No obstante, se ha caracterizado a un mayor número de mujeres que hombres, como súper catadoras (Chang, Chung, Kim, Chung y Kho, 2006, pp. 427-432; Guo y Reed, 2001, pp. 111-142; Drewnowski, Henderson y Barratt, 2001, pp. 535-538; Kim *et al.*, 2003, pp. 1221-1225). Acorde a Reedy, Bartoshuk, Miller, Duffy y Yanagisawa (1993, pp. 618-619), la lengua de un individuo catador del sabor amargo tiene mayor cantidad de poros que la lengua de un individuo no catador del sabor. A partir de esta característica anatómica, Prutkin *et al.* (2000, pp. 161-173) lograron demostrar que existe un mayor número de mujeres catadoras que hombres, debido a que tienen mayor cantidad de papilas fungiformes y poros gustativos en la lengua. Driscoll *et al.* (2006, pp. 21-27) observó una diferencia estadísticamente significativa en la asociación de la percepción del sabor amargo (fenotipo) y el sexo, al obtener una mayor distribución de mujeres catadoras (39%) que hombres catadores (21%). De igual manera, Tepper *et al.* (2008, pp. 2289-2295) demostraron que en la población de procedencia italiana, existe una mayor frecuencia fenotípica de hombres no catadores (48,1%) a diferencia de las mujeres (32,1%); al igual que observaron que existe una diferencia significativa en la frecuencia fenotípica de súper catadores entre mujeres y hombres; 30,9% y 6,5% respectivamente. En esta investigación, se realizó una asociación entre la percepción del sabor amargo con el género. Conforme a la literatura también se observó una mayor percepción del sabor amargo en las mujeres. En la concentración más baja de benzoato de sodio (0,001%), se observó una frecuencia de 0,9% de mujeres súper catadoras y 0% de hombres súper catadores, mientras que en la concentración más alta (0,75%), se observó una frecuencia de 58,2% de mujeres súper catadoras y 40% de hombres súper catadores. Es importante recalcar que solamente en la concentración de 0,001% de benzoato de sodio, existió una diferencia significativa ($p=0,04$) en la percepción del sabor amargo entre hombres y

mujeres. A partir de esto, es posible deducir que las mujeres son más sensibles al sabor amargo en bajas concentraciones que los hombres.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 CONCLUSIONES

La población ecuatoriana posee una baja variabilidad genotípica del gen *TAS2R38*, evidenciada en la frecuencia de los polimorfismos del gen *TAS2R38* relacionados con la percepción del sabor amargo en individuos del cantón Quito con 5,5% para el polimorfismo C145G; 4,5% para el polimorfismo C785T y 4,5% para el polimorfismo G886A.

Los datos generados permitieron determinar que a una concentración de 0,08% de benzoato de sodio, los individuos del cantón Quito son capaces de percibir el sabor amargo.

La población ecuatoriana posee un número elevado de súper catadores y catadores moderados, de acuerdo a la clasificación internacional de súper catadores, catadores moderados y no catadores.

Los datos obtenidos muestran que no existe una diferencia estadísticamente significativa en la asociación de la percepción del sabor amargo del benzoato de sodio a diferentes concentraciones, de acuerdo a la distribución de los genotipos del gen *TAS2R38* en individuos del cantón Quito.

La población ecuatoriana presenta los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen *TAS2R38* con un mayor número de homocigotos dominantes o súper catadores, que poseen una alta sensibilidad al sabor amargo, lo cual denota la poca variabilidad genética de la población estudiada.

Los resultados obtenidos apoyan la hipótesis de que la presencia de los cambios aminoacídicos P49A, A262V y V296I en la proteína codificada por el gen *TAS2R38*, determina una baja percepción del sabor amargo en individuos del cantón Quito.

Este estudio proporciona una evidencia de que la percepción del sabor amargo está estrechamente relacionada al consumo de alcohol y tabaco, y a la presencia de enfermedades.

En Ecuador las mujeres tienen la habilidad de percibir el sabor amargo en concentraciones muy bajas a diferencia de los hombres, lo cual se evidencia en la diferencia estadísticamente significativa presentada en los resultados.

6.2 RECOMENDACIONES

Se recomienda plantear un estudio donde se incluyan diferentes etnias del Ecuador, para la determinación de la percepción del sabor amargo a nivel de población ecuatoriana. De igual manera, se recomienda aumentar la población para que los datos ganen robustez estadística y exista mayor variación. Además, es recomendable extender el rango de edades en la población y el número de personas participantes por cada rango de edad para poder correlacionar la percepción del sabor amargo según niños, jóvenes, adultos y personas de la tercera edad.

Finalmente, se sugiere plantear un estudio de la evaluación sensorial del sabor amargo comparado con la evaluación sensorial con otro sabor. Así mismo, es importante determinar pocas concentraciones de cada compuesto y limitar con rangos específicos la percepción del sabor amargo. Los resultados de cada evaluación sensorial y cada rango deben ser asociados solamente en tres características: súper catadores, catadores moderados y no catadores.

REFERENCIAS

- Adler, E., Hoon, M., Mueller, K., Chandrashekar, J., Ryba, N. y Zuker, C. (2000). *A Novel Family of Mammalian Taste Receptors*. Cell 100: 693-702.
- Bachmanov, A. y Beauchamp, G. (2007). *Taste receptor genes*. Annu. Rev. Nutr. 2: 389-414.
- Bachmanov, A., Bosak, N., Lin, C., Matsumoto, I., Ohmoto, M., Reed, D. y Nelson, T. (2014). *Genetics of Taste Receptors*. Current Pharmaceutical Design 20: 2669-2683.
- Bachmanov, A., Li, X., Reed, D., Ohmen, J., Li, S., Chen, Z., Tordoff, M., de Jong, P., Wu, C., West, D., Chatterjee, A., Ross, D. y Beauchamp, G. (2001). *Positional Cloning of the Mouse Saccharin Preference (Sac) Locus*. Chem. Senses 26: 925-933.
- Bartleet, J. y Stirling, D. (2003). *A short history of the polymerase chain reaction*. Methods Mol. Bio. 226: 3-6
- Behrens, M. y Meyerhof, W. (2006). *Bitter taste receptors and human bitter taste perception*. Cell. Mol. Life. Sci. 63: 1501-1509.
- Behrens, M. y Meyerhof, W. (2009). *Mammalian bitter taste perception*. Results Probl. Cell. Differ. 47: 203-220.
- Behrens, M., Gunn, H., Ramos, P., Meyerhof, W. y Wooding, S. (2013). *Genetic, Functional, and Phenotypic Diversity in TAS2R38 -Mediated Bitter Taste Perception*. Chem. Senses: 475-784.
- Biarnés, X., Marchiori, A., Giorgetti, A., Lanzara, C., Gasparini, P., Carloni, P., Born, S., Brockhoff A., Behrens, M. y Meyerhof, W. (2010). *Insights into the binding of Phenyltiocarbamide (PTC) agonist to its target human TAS2R38 bitter receptor*. PLoS One 5: e12394.
- Boxer, E. y Garneau, N. (2015). *Rare haplotypes of the gene TAS2R38 confer bitter taste sensitivity in humans*. SpringerPlus 4: 505.
- Bufe, B., Breslin, P., Kuhn, C., Reed, D., Tharp, C., Slack, J., Kim, U-K., Drayna, D. y Meyerhof W. (2005). *The Molecular Basis of Individual*

- Differences in Phenylthiocarbamide and Propylthiouracil Bitterness Perception.* Curr. Biol. 15: 322-327.
- Camean, A. y Repetto, M. (2012). *Toxicología alimentaria.* (2ª. Ed.). Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos, 192.
- Campbell, M., Ranciaro, A., Froment, A., Hirbo, J., Omar, S., Bodo, J-M., Nyambo, T., Lema, G., Zinshteyn, D., Drayna, D., Breslin, P. y Tishkoff, S. (2012). *Evolution of Functionally Diverse Alleles Associated with PTC Bitter Taste Sensitivity in Africa.* Mol. Biol. Evol. 29: 1141-1153.
- Chandrashekar, J., Mueller, K., Hoon, M., Adler, E., Feng, L., Guo, S-W., Zuker, C. y Ryba, N. (2000). *T2Rs function as bitter taste receptors.* Cell 100: 703-711.
- Chang, W., Chung, J., Kim, Y., Chung, S. y Kho, H. (2006). *The relationship between phenylthiocarbamide (PTC) and 6-n-propylthiouracil (PROP) taster status and taste thresholds for sucrose and quinine.* Arch. Oral. Biol. 51: 427-432.
- Dinehart, M., Hayes, J., Bartoshuk, L., Lanier, S. y Duffy, V. (2006). *Bitter taste markers explain variability in vegetable sweetness, bitterness, and intake.* Physiology & Behavior 87: 304-313.
- Drewnowski, A. y Gomez-Carneros, C. (2000). *Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review.* Am. J. Clin. Nutr. 72: 1424-1435.
- Drewnowski, A. y Rock, C. (1995). *The influence of genetic taste markers on food acceptance.* American Journal of Clinical Nutrition 62: 506-511.
- Drewnowski, A., Henderson, S. y Barratt, A. (2001). *Genetic Taste Markers and Food Preferences.* ASPET Journals 29: 535-538.
- Driscoll, K., Perez, M., Cukrowicz, K., Butler, M. y Joiner, T. (2006). *Psychiatry Research* 143: 21-27.
- Duffy, V., Davidson, A., Kidd, J., Kidd, K., Speed, W., Pakstis, A., Reed, D., Snyder, D. y Bartoshuk, L. (2004). *Bitter Receptor Gene (TAS2R38), 6-n-Propylthiouracil (PROP) Bitterness and Alcohol Intake.* Alcohol. Clin. Exp. Res. 28 (11): 1629-1637.
- Emerson, J. (2012). *Identification of Human Polymorphisms in the Phenylthiocarbamide (PTC) Bitter Taste Receptor Gene and Protein.*

- Proceedings of the Association for Biology Laboratory Education 33: 246-250.
- Enoch, M., Harris, C. y Goldman, D. (2001). *Does a reduced sensitivity to bitter taste increase the risk of becoming nicotine addicted?* *Addict. Behav.* 26: 399-404.
- FIBAO. (2008). *Receptores unidos a proteínas G*. Recuperado el 21 de enero de 2016 de <http://medmol.es/temas/73/>
- Fischer, R. y Griffin, F. (1964). *Pharmacogenetic aspects of gustation*. *Drug Research* 14: 673-686
- Fox, A. (1932). *The relationship between chemical constitution and taste*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 18: 115-120.
- García-Bailo, B., Toguri, C., Eny, K. y El-Sohemy, A. (2009). *Genetic variation in taste and its influence on food selection*. *OMICS* 13: 69-80.
- Garneau, N., Nuesse, T., Sloan, M., Santorico, S., Coughlin, B. y Hayes, J. (2014). *Crowdsourcing taste research: genetic and phenotypic predictors of bitter taste perception as a model*. *Front Integr. Neurosci.* 8: 33.
- González, M., García, Y. y González, R. (2005). *Evaluación de la saborización al reconstituyente y antianémico Trofin en dos de sus formas de presentación*. *Rev Cubana Farm* 39.
- Guo, S-W. y Reed, D. (2001). *The genetics of phenylthiocarbamide perception*. *Ann. Hum. Biol.* 28:111-142.
- Harris, H. y Kalmus, H. (1951). *Chemical specificity in genetical differences of taste sensitivity*. *Ann. Eugenics* 15: 32-45.
- Hoover, E. (1956). *Reliability of phenylthiocarbamide-sodium benzoate method of determining taste classification*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 4: 345-348.
- Hopkins, C. (1942). *Taste differences in compounds having the NCS linkage*. *Canadian Journal of Research B* 20: 268-273.
- Huang, A., Chen, X., Hoon, M., Chandrashekar, J., Guo, W., Trankner, D., Ryba, N. y Zuker, C. (2006). *The cells and logic for mammalian sour taste detection*. *Nature* 442: 934-938.

- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC). (2011). *Cáncer*. Recuperado el 23 de marzo de 2016 de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Infografias/infocancer.pdf>
- Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC). (2013). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición se presenta este miércoles*. Recuperado el 23 de marzo de 2016 de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-nacional-de-salud-y-nutricion-se-presenta-este-miercoles/>
- Ishimaru, Y., Inada, H., Kubota, M., Zhuang, H., Tominaga, M. y Matsunami, H. (2006). *Transient receptor potential family members PKD1L3 and PKD2L1 form a candidate sour taste receptor*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103: 12569-12574.
- Keller, K. y Tepper, B. (2004). *Inherited Taste Sensitivity to 6-n-Propylthiouracil in Diet and Body Weight in Children*. Obesity Research 12: 904-912.
- Khataa, N., Stewart, L., Brenner, D., Cornelis, M. y El-Soheby, A. (2009). *TAS2R38 Genotypes and Phenylthiocarbamide Bitter Taste Perception in a Population of Young Adults*. J. Nutrigenet Nutrigenomics 2: 251-256.
- Kibiuk, L., Baltimore, M., Stuart, D. y Harrisburg, P. (2012). *Taste and Smell*. Recuperado el 21 de enero de 2016 de <http://www.brainfacts.org/sensing-thinking-behaving/senses-and-perception/articles/2012/taste-and-smell/>
- Kim, U-K. y Drayna, D. (2004). *Genetics of individual differences in bitter taste perception: lessons from PTC gene*. Clin Genet 67: 275-280.
- Kim, U-K., Breslin, P., Reed, D. y Drayna, D. (2004). *Genetics of human taste perception*. J. Dental Res. 83: 448-453.
- Kim, U-K., Jorgenson, E., Coon, H., Leppert, M., Risch, N. y Drayna, D. (2003). *Positional Cloning of the Human Quantitative Trait Locus Underlying Taste Sensitivity to Phenylthiocarbamide*. Science 299: 1221-1225
- Li, X., Staszewski, L., Xu, H., Durick, K., Zoller, M. y Adler, E. (2002). *Human receptors for sweet and umami taste*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 4692-4696.

- López-Jiménez, N., Sainz, E., Cavenagh, M., Cruz-Ithier, M., Blackwood, C., Battey, J. y Sullivan, S. (2005). *Two novel genes, Gpr113, which encodes a family 2 G-protein-coupled receptor, and Trcg1, are selectively expressed in taste receptor cells*. *Genomics* 85: 472-482.
- Matsunami, H., Montmayeur, J. y Buck, L. (2000). *A family of candidate taste receptors in human and mouse*. *Nature* 404: 601-604.
- Med-Health. (S.f.). *Sodium Benzoate*. Recuperado el 21 de enero de 2016 de <http://www.med-health.net/Sodium-Benzoate.html>
- Mennella, J., Pepino, Y., Duke, F. y Reed, D. (2011). *Psychophysical dissection of genotype effects on human bitter perception*. *Chem. Senses*. 36: 161-167.
- Meyerhof, W., Batram, C., Kuhn, C., Brockhoff, A., Chudoba, E., Bufe, B., Appendino, G. y Behrens, M. (2010). *The Molecular Receptive Ranges of Human TAS2R38 Bitter Taste Receptors*. *Chem. Senses*. 35: 157-170.
- Meyerhof, W., Behrens, M., Brockhoff, A., Bufe, B. y Kuhn, C. (2005). *Human Bitter Taste Perception*. *Chem. Senses* 30: 14-15.
- Mueller, K., Hoon, M., Erlenbach, I., Chandrashekar, J., Zuker, C. y Ryba, N. (2005). *The receptors and coding logic for bitter taste*. *Nature* 434: 225-229.
- Paz-y-Miño, C. (2013). *Genes determinantes de la percepción de los sabores ecuatorianos*. En: Gallardo de la Puente, C. *El Sabor de mi Ecuador*. (1ra. Ed.). Quito, Ecuador: Universidad de Las Américas, pp. 22-24.
- Prutkin, J., Duffy, V., Etter, L., Fast, K., Gardner, E., Lucchina, LA., Snyder, D., Tie, K., Weiffenbach, J. y Bartoshuk, L. (2000). *Genetic variation and inferences about perceived taste intensity in mice and men*. *Physiology & Behavior* 69: 161-173.
- Reedy, F., Bartoshuk, L., Miller, I., Duffy, V. y Yanagisawa, K. (1993). *Relationship among papillae, taste pores and 6-n-propylthiouracil (PROP) suprathreshold taste sensitivity*. *Chem. Senses* 18: 618-619.
- Roudnitzky, N., Behrens, M., Engel, A., Kohl, S., Thalmann, S., Hübner, S., Lossow, K., Wooding, S. y Meyerhof, W. (2015). *Receptor*

- Polymorphism and Genomic Structure Interact to Shape Bitter Taste Perception*. PLoS Genet 11: e1005530.
- Sandell, M. y Breslin, P. (2006). *Variability in a taste-receptor gene determines whether we taste toxins in food*. Curr. Biol. 16: 792-794.
- Shigemura, N., Ohkuri, T., Sadamitsu, C., Yasumatsu, K., Yoshida, R., Beauchamp, G., Bachmanov, A. y Ninomiya, Y. (2008). *Amiloride-sensitive NaCl taste responses are associated with genetic variation of ENaC α -subunit in mice*. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 294: 66-75.
- SNPedia. (2011). *TAS2R38*. Recuperado el 21 de enero de 2016 de <http://www.snpedia.com/index.php/TAS2R38>
- Sunderland, E. y Ryman, R. (1968). *P.T.C. thresholds, blood factors, colour vision and fingerprints of Jivaro Indians in Eastern Ecuador*. American Journal of Physical Anthropology 28: 339-344.
- Takeda, S., Kadowaki, S., Haga, T., Takaesu, H. y Mitaku, S. (2002). *Identification of G protein-coupled receptor genes from the human genome sequence*. FEBS Letters 520: 97-101.
- Tepper, B., Koelliker, Y., Zhao, L., Ullrich, N., Lanzara, C., d 'Adamo, P., Ferrara, A., Ulivi, S., Esposito, L. y Gasparini, P. (2008). *Variation in the Bitter-taste Receptor Gene TAS2R38, and Adiposity in a Genetically Isolated Population in Southern Italy*. Obesity 16: 2289-2295.
- Timpson, N., Christensen, M., Lawlor, D., Gaunt, T., Day, I., Ebrahim, S. y Smith, G. (2005). *TAS2R38 (phenylthiocarbamide) haplotypes, coronary heart disease traits, and eating behavior in the British Women's Heart and Health Study*. Am. J. Clin. Nutr. 81: 1005-1011.
- Watson, J., Baker, T., Bell, S., Gann, A., Levine, M. y Losick, R. (2008). *Molecular Biology of the Gene*. (6th. Ed.). San Francisco, USA: Benjamin Cummings.
- Wooding, S., Kim, U-K., Bramshad, M., Jorde, L. y Drayna, D. (2004). *Natural selection and molecular evolution in PTC, a bitter taste receptor gene*. Am. J. Hum. Genet. 74: 637-646.

Zhao, L., Kirkmeyer, S. y Tepper, B. (2003). *A paper screening test to assess genetic taste sensitivity to 6-n-propylthiouracil*. *Physiology & Behavior* 78: 625-633.

ANEXOS

Anexo 1. Variación de la población mundial en la frecuencia de “no catadores” (Tomado de: Guo y Reed, 2001, pp. 111-142)

Country or continent	Group	<i>n</i>	% Nontaster	Reference
Africa	Africans	74	2.7	Barnicot 1950
Africa	Amhara	123	12.2	Bat-Miriam <i>et al.</i> 1962
Africa	Arabs from Syria	400	36.5	Parr 1934
Africa	Armenians from Syria	294	32.0	Parr 1934
Africa	Assiut	480	24.0	Boyd 1950
Africa	Bari	70	7.1	Rife 1953
Africa	Billen, Ethiopian	104	3.9	Bat-Miriam <i>et al.</i> 1962
Africa	Boarij Syria	119	32.0	Boyd 1950
Africa	Bush	85	7.1	Jenkins 1965
Africa	Cyrenaicans	65	20.0	Jenkins 1965
Africa	Dinka	132	34.8	Rife 1953
Africa	Egyptians	208	24.1	Parr 1934
Africa	Egyptians	569	22.0	Boyd 1950
Africa	Egyptians	1078	8.2	Hashem and Khalifa 1968
Africa	Egyptians, Bagdad Christians	60	27.0	Boyd 1950
Africa	Egyptians, Bagdad Jewish	168	17.0	Boyd 1950
Africa	Egyptians, Bagdad Moslems	322	29.0	Boyd 1950
Africa	Fezzanites	52	17.3	Jenkins 1965
Africa	Galla	110	15.5	Bat-Miriam <i>et al.</i> 1962
Africa	Giriama Bantu	208	3.8	Allison 1951
Africa	Guraghe	108	13.9	Bat-Miriam <i>et al.</i> 1962
Africa	Hadza in North Tanzania	118	23.7	Barnicot and Woodburn 1975
Africa	Ibadan, Western Nigeria	191	13.7	Kalmus 1967
Africa	Kenyan	375	4.8	Sunderland and Rosa 1975
Africa	Kgalagadi	38	5.2	Jenkins 1965
Africa	Libyans	167	19.8	Sunderland and Rosa 1975
Africa	Melinde Arabs	63	25.4	Allison 1951
Africa	Meshghara Syria; Christians	96	30.0	Boyd 1950
Africa	Meshghara Syria; Moslems	171	18.0	Boyd 1950
Africa	Mixed Sudanese	51	17.6	Rife 1953
Africa	N Falasha	24	8.3	Bat-Miriam <i>et al.</i> 1962
Africa	Nigeria	970	12.6	Odeigah 1994
Africa	Nigeria	2013	12.5	Scott-Emuakpor <i>et al.</i> 1975
Africa	Northern Sudanese	100	4.0	Rife 1953
Africa	Nuer	110	18.2	Rife 1953
Africa	S Falasja	109	8.3	Bat-Miriam <i>et al.</i> 1962
Africa	Shilluk	105	20.0	Rife 1953
Africa	Tigré	119	5.0	Bat-Miriam <i>et al.</i> 1962
Africa	Tripolitanians	50	21.5	Jenkins 1965
Africa	Urban Bantu	86	2.3	Jenkins 1965
Australia	Aboriginal	50	NG	Lugg 1968
Australia	Aborigines	NG	50.0	Simmons <i>et al.</i> 1957
Australia	Aborigines	152	49.3	Simmons <i>et al.</i> 1954a
Central America	Miskito in Nicaragua	96	20.8	Stefano and Molieri 1976
Central America	Rama in Nicaragua	79	1.3	Stefano and Molieri 1976
Central America	Mexican	1689	10.4	Kalmus <i>et al.</i> 1964
Central America	Sumo in Nicaragua	85	8.2	Stefano and Molieri 1976
China	Chinese Immigrants	66	10.6	Barnicot 1950
China	Chinese Immigrants	167	6.0	Parr 1934
China	Han Lan Zhou City	538	11.0	Zhang <i>et al.</i> 1988
China	Dong Xiang Gansu Province	831	18.4	Zhang <i>et al.</i> 1988
China	Kazak Gansu Province, Akseu	161	19.3	Zhang <i>et al.</i> 1988

Country or continent	Group	<i>n</i>	% Nontaster	Reference
China	YuGru Gansu Province, Sunan County	486	23.0	Zhang <i>et al.</i> 1988
China	Hui Gansu Province, Linxia County	1323	17.6	Zhang <i>et al.</i> 1988
China	Tu Qinghai Province, Huzhy County	801	18.4	Zhang <i>et al.</i> 1988
China	SaLa Qinghai Province, Xuhua County	1077	8.5	Zhang <i>et al.</i> 1988
China	Tibetan Gansu Province	914	13.6	Zhang <i>et al.</i> 1988
China	Mongolian Gansu, Suhua County	332	16.0	Zhang <i>et al.</i> 1988
China	Bao'an Gansu, Jishishan Country	545	5.1	Zhang <i>et al.</i> 1988
China	Han Chinese in Shanghai	106	10.0	Guo <i>et al.</i> 1998
Europe	Cumbria	854	19.7	Mitchell <i>et al.</i> 1977
Europe	Danes	314	31.8	Mohr 1951
Europe	England, Derbyshire	653	36.8	Cartwright and Sunderland 1967
Europe	England, Lancaster	835	27.5	Cartwright and Sunderland 1967
Europe	England, Northeast	777	28.9	Sunderland 1966
Europe	English	581	28.0	Akcasu <i>et al.</i> 1974
Europe	Finns	202	29.2	Allison and Nevanlinna 1952
Europe	Finns	761	22.1	Eriksson <i>et al.</i> 1970
Europe	Irish from Dublin	618	27.0	Boyd 1950
Europe	Isle of Man	699	27.8	Mitchell <i>et al.</i> 1977
Europe	Lapps	140	6.9	Allison and Nevanlinna 1952
Europe	Nellim Fisher Lapps	76	10.5	Eriksson <i>et al.</i> 1970
Europe	Nellim Skolt Lapps	138	29.7	Eriksson <i>et al.</i> 1970
Europe	Norwegian Lapps	255	17.6	Monn 1969
Europe	Salamis Island	183	32.2	Panayotou <i>et al.</i> 1983
Europe	Sardinians	541	27.1	Maxia <i>et al.</i> 1975
Europe	Sevettijärvi Skolt Lapps	251	28.3	Eriksson <i>et al.</i> 1970
Europe	Spaniards	306	24.8	Pons 1955
Europe	Spaniards, San Sebastian, Spain	172	27.0	Boyd 1950
Europe	Swedish	1051	12.8	Romanus 1965
Europe	Swedish, Southern	200	32.0	Akesson 1959a
Europe	Åland, Main Island	522	26.2	Eriksson and Forsius 1964
Europe	Sottunga	38	18.4	Eriksson and Forsius 1964
Europe	Kökar	121	34.7	Eriksson and Forsius 1964
Europe	Welsh	252	NG	Beach 1953
Europe	Welsh	398	28.0	Boyd 1950
Europe	Welsh, Carmarthenshire	271	35.2	Partridge 1962
Europe	Welsh, Pembrokeshire	1005	27.6	Pullin and Sunderland 1963
Europe	Yugoslavian	459	30.9	Grünwald and Herman 1963
Greenland	Eskimos from Umanaq	129	53.5	Alsbrink and Alsbrink 1972
India	Ahom	123	21.1	Sengupta and Dutta 1991
India	Angami Nagas	150	6.3	Seth and Seth 1973
India	Anglo-Indians	160	28.1	Bhattacharya 1964
India	Audich Brahman	200	35.0	Parikh <i>et al.</i> 1969a
India	Audichya Brahmins	200	37.0	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Bado Gadaba	409	53.6	Das <i>et al.</i> 1963
India	Bagatha	483	37.9	Babu <i>et al.</i> 1996
India	Baghdadi Jews	200	20.5	Sirsat 1956
India	Bareng Paroja	439	49.9	Das <i>et al.</i> 1963
India	Bene-Israel Jews	200	20.0	Sirsat 1956
India	Bengali Brahmins of Lucknow	300	27.7	Deb and Shukla 1981
India	Bhangi Harijans	200	43.0	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Bhil	188	45.2	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Bod Mali	70	20.0	Babu <i>et al.</i> 1996
India	Bodh of Lahaul	110	11.8	Chowdhury 1988
India	Bohras	130	45.4	Hakim <i>et al.</i> 1973
India	Brahim of Orissa	56	33.9	Tripathy 1969
India	Brahims	165	20.0	Chandraiah and Bahadur 1975

Country or continent	Group	<i>n</i>	% Nontaster	Reference
India	Brahims of Narendra Nagar	170	29.4	Rani and Seth 1981
India	Brahmin	132	26.5	Srivastava and Tyagi 1967
India	Brahmin, Maharashtraian	58	27.5	Singh and Bagga 1994
India	Brahmins	242	23.6	Tiwari and Bhasin 1967
India	Brahmins of Bhimtal	217	17.5	Singh 1975
India	Chandraseniya Kayasth Prabhu	200	46.5	Sanghvi and Khanolkar 1949-50
India	Chenchu	132	37.9	Simmons <i>et al.</i> 1953a
India	Chenchu	227	55.1	Sirajuddin 1977
India	Chettibalija	155	40.0	Devi <i>et al.</i> 1995
India	Chitpavan	200	34.5	Sanghvi and Khanolkar 1949-50
India	Cutchi Lohana	200	39.0	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Danguria	126	15.1	Srivastava 1961
India	Delhi and Madras	301	28.0	Akcasu <i>et al.</i> 1974
India	Delhi students	102	29.0	Bhatia <i>et al.</i> 1979
India	Desasth	200	42.5	Sirsat 1956
India	Desasth Rigvedi Brahman	100	36.0	Sanghvi and Khanolkar 1949-50
India	Dhanka	211	56.3	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Dhobis	165	4.8	Ranganayaki and Injeti 1979
India	Dhobis	205	12.7	Balakrishna <i>et al.</i> 1992
India	Dhodia	83	42.2	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Dogra Brahmins	111	39.7	Sharma and Bhalla 1981
India	Dogra Rajputs	79	38.0	Sharma and Bhalla 1981
India	Dubla	207	45.4	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Gadaba	193	15.0	Babu <i>et al.</i> 1996
India	Gamit	200	53.5	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Gorkhas	202	14.4	Parmar 1968
India	Harijans	77	31.2	Chandraiah and Bahadur 1975
India	Hill Kolams	224	50.9	Ramesh <i>et al.</i> 1981
India	Hill Rajputs, Cis-Himalayan	159	24.5	Bhalla <i>et al.</i> 1980
India	Hindu Gujjars	200	56.5	Balgir 1992
India	Hindus	334	59.0	Dhesi <i>et al.</i> 1972
India	Immigrant Burmese	208	19.7	Agrawal 1966
India	Iranis	200	25.0	Sirsat 1956
India	Jalaris	215	15.8	Rao and Jaikishan 1995
India	Jalary	103	47.6	Reddy 1983, Reddy 1988
India	Jatapu	158	25.3	Babu <i>et al.</i> 1996
India	Jats	564	38.0	Chattopadhyay 1971
India	Jat-Sikhs	536	59.3	Dhesi <i>et al.</i> 1972
India	Juang of Orissa	75	38.7	Das <i>et al.</i> 1978
India	Kapol Vania	200	51.5	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Karana of Orissa	41	36.6	Tripathy 1969
India	Karnataka	353	45.6	Srivastava 1980
India	Kashmiri	800	11.8	Parveen <i>et al.</i> 1990
India	Kayastha	114	29.0	Srivastava and Tyagi 1967
India	Kayasthas of Lucknow	300	30.0	Deb and Shukla 1981
India	Keet	223	36.8	Das 1971
India	Keet of Assam	223	36.8	Das and Buragohain 1969
India	Khandayat of Orissa	49	18.4	Tripathy 1969
India	Khasis	317	21.8	Miki <i>et al.</i> 1960
India	Khattri	75	29.3	Srivastava and Tyagi 1967
India	Khojas	222	41.4	Hakim <i>et al.</i> 1973
India	Kodava of Kodagu	233	32.8	Saheb <i>et al.</i> 1979
India	Koli	128	38.3	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Kolis, Cis-Himalayan	142	27.5	Bhalla <i>et al.</i> 1980
India	Konda	234	53.4	Das and Mukherjee 1964
India	Konda Dora	350	35.1	Babu <i>et al.</i> 1996

Country or continent	Group	<i>n</i>	% Nontaster	Reference
India	Konda Kammaras	413	36.1	Babu <i>et al.</i> 1984
India	Kondhs or Orissa	51	64.7	Tripathy 1966
India	Kota of Nilgiri Hills	534	40.8	Ghosh 1973
India	Koya Dora	359	12.8	Babu <i>et al.</i> 1996
India	Koya Dora	569	51.0	Goud and Rao 1979a
India	Koya Dora	505	28.5	Parmar 1968
India	Kumaonis	194	12.4	Seth 1962
India	Kurmi Mahato	111	49.5	Basu <i>et al.</i> 1966
India	Lad Vania	200	33.5	Parikh <i>et al.</i> 1969a
India	Ladakhis	53	5.7	Bhalla 1972
India	Lahaulis	274	12.7	Sharma 1967
India	Lampadi	142	45.1	Goud and Rao 1979a
India	Lepchas	154	7.2	Miki <i>et al.</i> 1960
India	Leva Patidars	200	32.5	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Lower Caste	130	9.2	Srivastava and Tyagi 1967
India	Mahars	200	43.0	Parikh <i>et al.</i> 1969b
India	Manne Dora	380	34.5	Ramana and Naidu 1992
India	Manne Kolams	343	55.7	Ramesh <i>et al.</i> 1981
India	Manzai Mali	317	27.4	Babu <i>et al.</i> 1996
India	Maratha	200	42.5	Sanghvi and Khanolkar 1949–50
India	Maratha, Maharashtrian	989	31.4	Singh and Bagga 1994
India	Mathur Kayasths	422	57.8	Mathur <i>et al.</i> 1983
India	Mikir of Assam	114	11.4	Dass 1976
India	Misgars	153	45.1	Hakim <i>et al.</i> 1973
India	Moplahs	186	48.4	Hakim <i>et al.</i> 1973
India	Muslim	39	20.5	Srivastava and Tyagi 1967
India	Muslim	106	38.7	Bhattacharjee 1956
India	Muslim Gujjars	200	42.5	Balgir 1992
India	Muslims	105	20.0	Chandraiah and Bahadur 1975
India	Muslims	250	42.4	Hakim <i>et al.</i> 1973
India	Muslims of Lucknow	300	28.0	Srivastava 1976
India	Naika	78	46.2	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Naikpod	154	64.3	Goud and Rao 1979a
India	Nicobarese	83	18.6	Agrawal 1968
India	Nokte Naga	271	13.7	Kumar 1955
India	Non-Jat Sikhs	285	56.3	Dhesi <i>et al.</i> 1972
India	Northern Pahira	206	41.6	Basu <i>et al.</i> 1966
India	Ollaro	227	52.6	Das and Mukherjee 1964
India	Other castes of Orissa	49	28.6	Tripathy 1969
India	Pachhimaha	87	14.9	Srivastava 1964
India	Pallar	110	43.6	Buchi 1955
India	Paniyan	204	12.7	Das and Ghosh 1954
India	Panjabis	322	32.0	Sharma 1962
India	Paraja of Orissa	85	41.3	Das <i>et al.</i> 1978
India	Pardhans	140	62.9	Goud and Rao 1979a
India	Pardhans	202	51.5	Ramesh <i>et al.</i> 1981
India	Pareng	232	52.9	Das and Mukherjee 1964
India	Parsis	200	21.5	Sirsat 1956
India	Pathan	150	26.0	Srivastava 1974
India	Raj Gonds	163	54.6	Goud and Rao 1979a
India	Raj Gonds	239	47.3	Ramesh <i>et al.</i> 1981
India	Rajbanshi	580	40.7	Das <i>et al.</i> 1967
India	Rajputs	45	8.9	Srivastava and Tyagi 1967
India	Rajputs	229	25.3	Tiwari and Bhasin 1967
India	Rajputs of Palampur	87	29.9	Bagga and Seth 1992
India	Rana	155	18.1	Srivastava 1964
India	Rana of Orissa	29	31.0	Das <i>et al.</i> 1978
India	Rarhi Brahmin	143	35.1	Bhattacharjee 1956
India	Rastogis of Lucknow	300	17.0	Rastogi and Tyagi 1975
India	Reddys	183	21.3	Chandraiah and Bahadur 1975
India	Relli	175	1.7	Ranganayaki and Injeti 1979
India	Riang	401	16.2	Kumar and Sastry 1961
India	Samantha	250	9.2	Babu <i>et al.</i> 1996
India	Savara	200	26.5	Babu <i>et al.</i> 1996

Country or continent	Group	<i>n</i>	% Nontaster	Reference
India	Sayyad	150	26.7	Srivastava 1974
India	Scheduled, Maharashtra	1073	35.4	Singh and Bagga 1994
India	Shompens of Nicobar	54	33.3	Agrawal 1969
India	Sikkimese Lepchas	107	13.1	Bhattacharjee <i>et al.</i> 1978
India	Sindhi	480	29.2	Khullar 1965
India	Southern Pahira	671	65.7	Basu <i>et al.</i> 1966
India	Spitians	110	12.0	Sharma 1967
India	Suddha	200	26.5	Sanghvi and Khanolkar 1949–50
India	Sukla	100	33.0	Sanghvi and Khanolkar 1949–50
India	Swangla of Lahaul	100	14.0	Chowdhury 1988
India	Talavia Dubla	212	42.9	Vyas <i>et al.</i> 1962
India	Tibetan refugees	230	17.4	Patel 1971
India	Tibetans	216	10.7	Sharma 1967
India	Tibetans	400	14.7	Tiwari 1966
India	Tibetans	106	12.2	Bhalla 1972
India	Uttar Pradesh	344	34.9	Srivastava 1959
India	Vadabalija of Penticotta	266	36.5	Reddy 1983, Reddy 1988
India	Vadabalija of Vadapeta	213	39.9	Reddy 1983, Reddy 1988
India	Vadabaljas	200	12.5	Ranganayaki and Injeti 1979
India	Vadnagara	108	25.0	Sirsat 1956
India	Vaisha	67	34.3	Srivastava and Tyagi 1967
India	Vaishya	351	35.3	Das 1971
India	Vaishya of Assam	351	35.3	Das and Buragohain 1969
India	Visa Oswal Jain	200	30.0	Parikh <i>et al.</i> 1969a
India	Vyshyas	131	17.6	Chandraiah and Bahadur 1975
India	Wad Balgel	114	66.7	Agrawal 1964
India	Weavers	112	24.1	Chandraiah and Bahadur 1975
Jamaica	Jamaicans	682	9.4	Terry 1950
Japan	Ainu	328	6.4	Simmons <i>et al.</i> 1953b
Japan	Ainu-Japanese	275	5.1	Simmons <i>et al.</i> 1953b
Japan	Formosans	3172	6.8	Rikimaru 1936a
Japan	Formosans	5933	7.1	Rikimaru 1936b
Japan	Japanese	295	7.1	Saldanha 1958
Japan	Japanese	314	33.1	Yanagida 1988
Japan	Japanese	656	8.0	Tsuji 1957
Japan	Japanese	915	9.4	Sato <i>et al.</i> 1997
Japan	Japanese	916	23.0	Suzuki 1949
Japan	Japanese	921	9.1	Fukuoka 1936
Japan	Japanese	916	25.0	Suzuki 1949
Japan	Japanese	921	9.1	Fukuoka 1936
Japan	Japanese	1600	12.0	Matsunaga <i>et al.</i> 1954
Japan	Japanese	5871	13.1	Rikimaru 1936a
Japan	Japanese	8824	14.3	Rikimaru 1936b
Japan	Natives	1756	1.8	Rikimaru 1936b
Korea	Koreans	771	15.1	Kang <i>et al.</i> 1967
Middle East	Armenians from Beyrouth and Ghazir	311	25.0	Boyd 1950
Middle East	Aschkenasim	245	31.5	Parr 1934
Middle East	Balkan immigrants in Israel	101	21.8	Sheba 1962
Middle East	Berber in Israel	464	33.6	Guttman <i>et al.</i> 1967
Middle East	Cochin immigrants in Israel	41	31.7	Sheba 1962
Middle East	Cochin in Israel	402	42.0	Guttman <i>et al.</i> 1967
Middle East	Djerva immigrants in Israel	383	42.0	Guttman <i>et al.</i> 1967
Middle East	European Ashkenazim immigrants	440	20.7	Sheba 1962
Middle East	Gerba immigrants in Israel	41	41.5	Sheba 1962
Middle East	Habbanite	506	19.8	Bonne <i>et al.</i> 1972

Country or continent	Group	<i>n</i>	% Nontaster	Reference
Middle East	Iraqi and Persian immigrants in Israel	336	16.1	Sheba 1962
Middle East	Kurdistan immigrants in Israel	129	14.0	Sheba 1962
Middle East	Kurdistan immigrants in Israel	455	26.8	Guttman <i>et al.</i> 1967
Middle East	Libya immigrants in Israel	501	22.4	Guttman <i>et al.</i> 1967
Middle East	North-African immigrants in Israel	340	15.0	Sheba 1962
Middle East	Samaritans in Israel	125	6.4	Bonne 1966
Middle East	Semenites	59	32.3	Parr 1934
Middle East	Sephardim	175	28.0	Parr 1934
Middle East	Yemen immigrants in Israel	261	18.0	Sheba 1962
Middle East	Yemen immigrants in Israel	498	26.3	Guttman <i>et al.</i> 1967
New Guinea	Pygmies in Netherland New Guinea	178	36.0	Graydon <i>et al.</i> 1958
New Guinea	West Nakanai, New Britain	352	34.4	Simmons <i>et al.</i> 1956
North America	Alaskan Eskimos	68	26.0	Allison and Blumberg 1959
North America	American Indians admixed	110	12.8	Parr 1934
North America	American Indians, Kansas	183	6.1	Parr 1934
North America	American students, Gentile	232	20.3	Rife and Schonfeld 1944
North America	American students, Jewish	82	14.7	Rife and Schonfeld 1944
North America	Americans of African ancestry	107	7.5	Setterfield <i>et al.</i> 1936
North America	Americans of African ancestry	533	23.5	Parr 1934
North America	Americans of European ancestry	210	28.0	Taylor 1961
North America	Americans of European ancestry	291	35.4	Matson 1938
North America	Americans of European ancestry	477	17.8	Setterfield <i>et al.</i> 1936
North America	Blackfeet Indians	129	8.5	Matson 1938
North America	Caucasian Americans, USA	439	30.9	Parr 1934
North America	Caucasian Americans, USA	3643	29.8	Parr 1934
North America	Flathead Indians	442	17.4	Matson 1938
North America	Mennonite	1157	25.0	Koertvelyessy <i>et al.</i> 1982
North America	Micmac Indians	496	29.1	Chiasson 1963
North America	Papago Indians Arizona	70	1.4	MacRoberts 1964
North America	Ramah, New Mexico, USA	269	2.0	Boyd 1950
Polynesia	Cook Island	215	16.3	Simmons <i>et al.</i> 1955
Polynesia	Eastern and Central Islands	126	7.9	Simmons and Graydon 1957
Philippine	Negritos	73	13.7	Pascasio <i>et al.</i> 1974
Philippine	Philippine, non-Negrito	200	2.0	Pascasio <i>et al.</i> 1974
Puerto Rico	Puerto Ricans	1693	10.3	Thieme 1952
Russia	Kharkov	486	37.0	Boyd 1950
Russia	Kirghiz children	734	29.1	Ibraimov and Mirrakhimov 1979
Russia	Kirghiz students	640	19.6	Ibraimov and Mirrakhimov 1979
Russia	Russian students	245	31.9	Ibraimov and Mirrakhimov 1979
Russia	Siberians	137	5.8	Rychkov and Borodina 1969
Russia	Tiflis	455	23.0	Boyd 1950
Russia	Zagorsk	237	41.0	Boyd 1950
South America	Amoreeiras	70	8.6	Kalmus 1957

Country or continent	Group	<i>n</i>	% Nontaster	Reference
South America	Ashkenazic Jews in Brazil	244	27.9	Saldanha and Becak 1959
South America	Brazilian patients and staff	162	35.1	Kalmus, 1957
South America	Brazilian students	148	33.8	Kalmus 1957
South America	Brazilians of African ancestry	90	12.1	Kalmus 1957
South America	Brazilians of African ancestry	123	10.6	Saldanha 1962
South America	Buzios, Victoria	73	13.7	Kalmus 1957
South America	Caboclos	74	24.3	Kalmus 1957
South America	Caboclos, admixed	18	11.1	Kalmus 1957
South America	Carajas, Brazil	86	0.0*	Kalmus 1957
South America	Carajas, Brazil	86	0.0*	Junqueira <i>et al.</i> 1957
South America	Chileans	316	17.4	Saldanha and Nacur 1963
South America	Curitiba	92	26.0	Freire-Maia and Quelce-Salgado 1960
South America	Highland Quechua, Peru	319	3.1	Frisancho <i>et al.</i> 1977
South America	Ilhabella	77	20.8	Kalmus 1957
South America	Ilhabella, admixed	43	16.3	Kalmus 1957
South America	Japanese immigrants	89	9.0	Kalmus 1957
South America	Japanese immigrants in Brazil	300	12.7	Beiguelman 1962
South America	Jivaro Indians, Ecuador	327	2.1	Sunderland and Ryman 1968
South America	Kaingangs	77	2.6*	Kalmus 1957
South America	Kaingangs	77	2.6*	Fernandes <i>et al.</i> 1957
South America	Lowland Mestizo, Peru	805	7.3	Frisancho <i>et al.</i> 1977
South America	Lowland Quechua, Peru	672	7.1	Frisancho <i>et al.</i> 1977
South America	Manaus Amazonia	90	15.6	Kalmus 1957
South America	Piracicaba, admixed	41	9.8	Kalmus 1957
South America	Presidente Prudente	73	8.0	Freire-Maia and Quelce-Salgado 1960
South America	Rio de Jan, admixed	203	11.9	Kalmus 1957
South America	Russian immigrants in Brazil	60	43.3	Freire-Maia <i>et al.</i> 1960
South America	Salvador, Ba	34	38.0	Freire-Maia and Quelce-Salgado 1960
South America	Rio de Jan, admixed	203	11.9	Kalmus 1957
South America	Russian immigrants in Brazil	60	43.3	Freire-Maia <i>et al.</i> 1960
South America	Salvador, Ba	34	38.0	Freire-Maia and Quelce-Salgado 1960
South America	Southern Peruvian Quechua	522	2.9	Garruto <i>et al.</i> 1975
South America	Tucano Indians, Brazil	128	6.3	Montenegro 1964
South-East Asia	Burmese medical students	300	12.0	Than-Sint and Mya-Tu 1974
South-East Asia	Chinese immigrants in Singapore	50	2.0	Lugg 1955
South-East Asia	European immigrants in Singapore	50	19.6	Lugg 1955
South-East Asia	Malay	237	16.0	Thambipillai 1955-56
South-East Asia	Malay immigrants	50	15.6	Lugg 1955
South-East Asia	Malay, Negrito	50	18.0	Lugg 1956-57
South-East Asia	Malay, Senoi	50	4.0	Lugg 1956-57
South-East Asia	Tamil Indians in Singapore	50	26.8	Lugg 1955
South-East Asia	Thailand	56	5.4	Simmons <i>et al.</i> 1954b
South-East Asia	Thailand	460	9.7	Boobphanirojana <i>et al.</i> 1970
South-West Asia	Iraqi	110	21.8	Shah and Sattar 1981
South-West Asia	Kurdish in Iran	346	27.5	Lightman <i>et al.</i> 1970
South-West Asia	Turkey	315	5.0	Akcasu <i>et al.</i> 1974
South-West Asia	Turkey	366	11.2	Bokesoy and Togan 1987
South-West Asia	Turkey	684	4.1	Akcasu and Ozalp 1977
South-West Asia	Turkey	2000	20.0	Say <i>et al.</i> 1966

Anexo 2. Aprobación del comité de bioética de la Universidad De Las Américas bajo el código 2015-0702 “Estudio de enfermedades genéticas en el Ecuador”

D. M. de Quito, 24 de agosto de 2015

Señor

Cesar Paz y Miño
Director del proyecto
Paola Leone
Carolina Salazar
Andrés López
Jennyfer García
Camilo Herrera
María Eugenia Sánchez

Germán Burgos
Eduardo Tejera
Maykel Cruz
Margherita Badín
Raúl Cabrera

Presente.-

De mis consideraciones:

Por medio de la presente el Comité de Ética y Bioética para la Investigación de la Universidad de Las Américas, les informa que el protocolo y los instrumentos de investigación del proyecto denominado: “Estudio de enfermedades genéticas en el Ecuador”, con fecha de hoy 24 de agosto de 2015, han sido aprobados por el Comité.

Esta aprobación tiene la duración de un año, después del cual se debe pedir extensión si fuera necesaria.

En toda correspondencia con el Comité de Ética y Bioética para la Investigación, favor referirse al siguiente código de aprobación: 2015-0702.

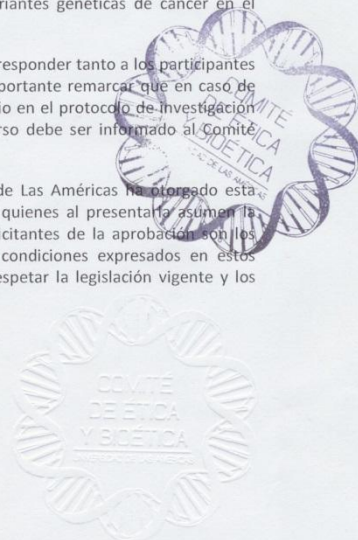
El estudio está incluido dentro del proyecto macro “Estudio de las variantes genéticas de cáncer en el Ecuador”, código 2015-0401, aprobado el 20 de mayo del presente año.

El Comité estará dispuesto a lo largo de la implementación del estudio a responder tanto a los participantes como a los investigadores cualquier inquietud que pudiere surgir. Es importante remarcar que en caso de presentarse alguna novedad debe ser comunicada al Comité; todo cambio en el protocolo de investigación implica solicitar una nueva aprobación al CEBE. Cualquier evento adverso debe ser informado al Comité dentro de un máximo de 24 horas de haber ocurrido.

El Comité de Ética y Bioética para la Investigación de la Universidad de Las Américas ha otorgado esta aprobación con base en la información entregada por los solicitantes, quienes al presentarla asumen la veracidad, corrección y autoría de los documentos entregados. Los solicitantes de la aprobación son los responsables de aplicar y respetar la información, procedimientos y condiciones expresados en estos documentos aprobados por el Comité; también son responsables de respetar la legislación vigente y los estándares nacionales e internacionales en la materia.

Atentamente,

Diego Chauvin P.
Presidente del Comité
CEBE-UDLA



Anexo 3. Consentimiento informado



Instituto de Investigaciones Biomédicas

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS
Laureate International Universities

Título de proyecto: *“Estudio de variantes genéticas (polimorfismos) asociados a la percepción de los sabores dulce, umami, amargo, salado y ácido en el Ecuador”.*

PARTE A

Las preferencias y hábitos alimenticios dependen de varios factores, tales como: culturales, sociológicos, sociales y genéticos. Con respecto a los factores genéticos; estos se encuentran íntimamente relacionados con el grado de percepción de los sabores en las personas. La elección de consumir ciertos alimentos influye sobre el estado nutricional y de salud, así como en el riesgo de padecer enfermedades crónicas.

Por lo tanto, la importancia de profundizar en el estudio del sistema gustativo radica en la constitución de un modelo que lleva a entender los mecanismos genéticos, moleculares, celulares, sistemáticos y su relación con respuestas sensoriales. Por otra parte, las variantes genéticas encontradas en los receptores del gusto, han despertado el interés de los investigadores al relacionarlas con los hábitos alimentarios de los individuos de diferentes poblaciones, es decir, realizar un estudio en el que se asocien patrones fenotípicos y variantes genéticas en cuanto a la percepción de los sabores. Por lo tanto, el aporte de este estudio es presentar uno de los factores fuertemente influyentes en los hábitos alimenticios de los ecuatorianos, con el fin de promover una alimentación saludable y así prevenir problemas nutricionales y enfermedades crónicas.

Su colaboración es importante para este estudio; mediante una muestra de sangre (obtenida con una sola punción por una única vez), y la prueba de gusto de 1 mL de soluciones de sustancias NO TÓXICAS como sacarosa, benzoato

de sodio, ácido cítrico, cloruro de sodio y glutamato monosódico, con el fin de medir su percepción en una escala del 1 al 5, significando 1. Indetectable; 2. Débil; 3. Moderada; 4. Fuerte y 5. Muy fuerte, podremos investigar factores importantes que lleven a caracterizar a la población en cuanto al grado de percepción de los diferentes sabores y su posible relación con los hábitos alimenticios y el posible desarrollo de desórdenes nutricionales y enfermedades crónicas a partir de estos.

Usted puede retirar su participación en este estudio en cualquier momento.

Confirmando que he leído y comprendido la información, y he tenido la oportunidad de hacer preguntas; que estoy de acuerdo para no restringir el uso de los datos generados usando mis muestras. De igual forma, confirmo que he comprendido que toda mi información personal será tratada de manera confidencial y no podrá revelarse bajo ninguna circunstancia.

Estoy dispuesta/o a participar en este estudio, sobre la base de la información que me han dado y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento.

Por favor
marque
con una X

FECHA: _____

NOMBRE DEL VOLUNTARIO: _____

C.I. _____

FIRMA DEL VOLUNTARIO: _____

Anexo 4. Concentración (ng/μL) de las muestras de ADN de sangre periférica

Código IIB	Concentración Inicial ng/μL	Cantidad ADN	Cantidad H₂O
S1	29,8		
S2	24,3		
S3	35,6		
S4	32,5		
S10	67,7	8,86	11,1
S11	86,8	6,91	13,1
S13	53,3	11,26	8,7
S14	67,1	8,94	11,1
S15	83,5	7,19	12,8
S16	69	8,70	11,3
S18	61,5	9,76	10,2
S19	94,2	6,37	13,6
S24	46,8	12,82	7,2
S25	32,4	18,52	1,5
S27	42,3	14,18	5,8
S28	27,2		
S29	54,8	10,95	9,1
S30	65,1	9,22	10,8
S31	47,4	12,66	7,3
S32	26,8		
S34	46	13,04	7,0
S35	68	8,82	11,2
S36	55	10,91	9,1
S37	51,5	11,65	8,3
S38	45,2	13,27	6,7
S40	97,3	6,17	13,8
S41	64	9,38	10,6
S42	59,1	10,15	9,8
S44	49,4	12,15	7,9
S45	40,6	14,8	5,2
S46	47,6	12,6	7,4
S47	59,7	10,1	9,9
S48	48,2	12,4	7,6
S51	67,7	8,9	11,1
S52	63,1	9,5	10,5
S53	49,8	12,0	8,0
S54	37,3	16,1	3,9
S55	45,8	13,1	6,9
S58	66,4	9,0	11,0

S59	51,7	11,6	8,4
S60	42,5	14,1	5,9
S61	91,9	6,5	13,5
S62	76,3	7,9	12,1
S63	62,6	9,6	10,4
S64	51,4	11,7	8,3
S65	34,7		
S66	49,8	12,0	8,0
S67	71,4	8,4	11,6
S68	64,7	9,3	10,7
S69	33,6		
S70	52,6	11,4	8,6
S71	38,5	15,6	4,4
S72	64,7	9,3	10,7
S73	46	13,0	7,0
S75	59,7	10,1	9,9
S77	68,3	8,8	11,2
S78	75,9	7,9	12,1
S79	63,8	9,4	10,6
S80	68,2	8,8	11,2
S81	48,7	12,3	7,7
S82	19,4		
S83	65,5	9,2	10,8
S84	50,2	12,0	8,0
S85	72,8	8,2	11,8
S86	81,8	7,3	12,7
S88	55,4	10,8	9,2
S89	50,5	11,9	8,1
S92	63,6	9,4	10,6
S93	50,8	11,8	8,2
S94	69,1	8,7	11,3
S96	42,2	14,2	5,8
S98	43,4	13,8	6,2
S99	51,2	11,7	8,3
S100	70,3	8,5	11,5
S101	46,3	13,0	7,0
S102	35,9		
S103	64,2	9,3	10,7
S108	52,8	11,4	8,6
S109	68,4	8,8	11,2
S110	60,5	9,9	10,1
S111	60,8	9,9	10,1
S112	71	8,5	11,5
S113	19,6		

S114	60,8	9,9	10,1
S115	64,1	9,4	10,6
S117	74,5	8,1	11,9
S119	80,3	7,5	12,5
S140	60	10,0	10,0
S158	55,7	10,8	9,2
S159	41,5	14,5	5,5
S160	43	14,0	6,0
S161	45,7	13,1	6,9
S162	38,1	15,7	4,3
S165	45,3	13,2	6,8
S172	30,7	19,5	0,5
S202	35,9	16,7	3,3
S203	33,3	18,0	2,0
S205	39,6	15,2	4,8
S209	38,6	15,5	4,5
S210	33,4	18,0	2,0
S211	36,5	16,4	3,6
S212	46,8	12,8	7,2
S213	54,3	11,0	9,0
S214	75,5	7,9	12,1
S215	71,3	8,4	11,6
S217	36	16,7	3,3
S218	53,4	11,2	8,8
S219	46,3	13,0	7,0
S220	65,8	9,1	10,9
S221	44,9	13,4	6,6

Anexo 5. Asociación de los hábitos con el polimorfismo C785T del gen TAS2R38

Hábitos	SNP rs1726866						Estadística		
		C/C		C/T		T/T		Fisher	Valor <i>P</i>
		N	%	N	%	N	%		
Género	F	40	61,50%	22	33,80%	3	4,60%	0,205	0,942
	M	29	64,40%	14	12,70%	2	4,40%		
Fumar	NO	48	62,30%	26	33,80%	3	3,90%	0,54	0,764
	SI	21	63,60%	10	30,30%	2	6,10%		
Café	NO	34	65,40%	16	30,80%	2	3,80%	0,411	0,89
	SI	35	60,30%	20	34,50%	3	5,20%		
Alcohol	NO	37	59,70%	23	37,10%	2	3,20%	1,637	0,467
	SI	32	66,70%	13	27,10%	3	6,30%		
Enfermedad	NO	44	66,70%	20	30,30%	2	3,00%	1,629	0,456
	SI	25	56,80%	16	36,40%	3	6,80%		
Ant. Familiares	NO	29	63,00%	16	34,80%	1	2,20%	0,959	0,633
	SI	40	62,50%	20	31,30%	4	6,30%		
Medicina	NO	55	62,50%	29	33,00%	4	4,50%	0,2	1
	SI	14	63,60%	7	31,80%	1	4,50%		

Anexo 6. Asociación de los hábitos con el polimorfismo G886A del gen TAS2R38

Hábitos		SNP rs10246939						Estadística	
		A/A		A/G		G/G		Fisher	Valor <i>P</i>
		N	%	N	%	N	%		
Género	F	3	4,60%	22	33,80%	40	61,50%	0,298	0,889
	M	2	4,40%	17	37,80%	26	57,80%		
Fumar	NO	3	3,90%	30	39,00%	44	57,10%	1,654	0,538
	SI	2	6,10%	9	27,30%	22	66,70%		
Café	NO	2	3,80%	19	36,50%	31	59,60%	0,227	1
	SI	3	5,20%	20	34,50%	35	60,30%		
Alcohol	NO	2	3,20%	25	40,30%	35	56,50%	1,846	0,393
	SI	3	6,30%	14	29,20%	31	64,60%		
Enfermedad	NO	2	3,00%	23	34,80%	41	62,10%	1,062	0,634
	SI	3	6,80%	16	36,40%	25	56,80%		
Ant. Familiares	NO	1	2,20%	17	37,00%	28	60,90%	0,914	0,753
	SI	4	6,30%	22	34,40%	38	59,40%		
Medicina	NO	4	4,50%	32	36,40%	52	59,10%	0,326	0,917
	SI	1	4,50%	7	31,80%	14	63,60%		

Anexo 7. Asociación del polimorfismo C145G del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,001% de benzoato de sodio.

	0,001%	rs713598			Total
		C/C	C/G	G/G	
Indetectable	Recuento	46	26	5	77
	% dentro de 0,001%	59,7%	33,8%	6,5%	100,0%
	% dentro de rs713598	69,7%	68,4%	83,3%	70,0%
	% del total	41,8%	23,6%	4,5%	70,0%
Débil	Recuento	17	12	1	30
	% dentro de 0,001%	56,7%	40,0%	3,3%	100,0%
	% dentro de rs713598	25,8%	31,6%	16,7%	27,3%
	% del total	15,5%	10,9%	0,9%	27,3%
Moderada	Recuento	2	0	0	2
	% dentro de 0,001%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs713598	3,0%	0,0%	0,0%	1,8%
	% del total	1,8%	0,0%	0,0%	1,8%
Fuerte	Recuento	1	0	0	1
	% dentro de 0,001%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs713598	1,5%	0,0%	0,0%	0,9%
	% del total	0,9%	0,0%	0,0%	0,9%
Total	Recuento	66	38	6	110
	% dentro de 0,001%	60,0%	34,5%	5,5%	100,0%
	% dentro de rs713598	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	60,0%	34,5%	5,5%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	3,973	<i>P</i>	0,857	

Anexo 8. Asociación del polimorfismo C145G del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,08% de benzoato de sodio.

	0,08%	rs713598			Total
		C/C	C/G	G/G	
Indetectable	Recuento	2	7	0	9
	% dentro de 0,08%	22,2%	77,8%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs713598	3,0%	18,4%	0,0%	8,2%
	% del total	1,8%	6,4%	0,0%	8,2%
Débil	Recuento	29	15	2	46
	% dentro de 0,08%	63,0%	32,6%	4,3%	100,0%
	% dentro de rs713598	43,9%	39,5%	33,3%	41,8%
	% del total	26,4%	13,6%	1,8%	41,8%
Moderada	Recuento	34	16	4	54
	% dentro de 0,08%	63,0%	29,6%	7,4%	100,0%
	% dentro de rs713598	51,5%	42,1%	66,7%	49,1%
	% del total	30,9%	14,5%	3,6%	49,1%
Fuerte	Recuento	1	0	0	1
	% dentro de 0,08%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs713598	1,5%	0,0%	0,0%	0,9%
	% del total	0,9%	0,0%	0,0%	0,9%
Total	Recuento	66	38	6	110
	% dentro de 0,08%	60,0%	34,5%	5,5%	100,0%
	% dentro de rs713598	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	60,0%	34,5%	5,5%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	9,125	<i>P</i>	0,148	

Anexo 9. Asociación del polimorfismo C145G del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,25% de benzoato de sodio.

	0,25%	rs713598			Total
		C/C	C/G	G/G	
Débil	Recuento	3	7	0	10
	% dentro de 0,25%	30,0%	70,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs713598	4,5%	18,4%	0,0%	9,1%
	% del total	2,7%	6,4%	0,0%	9,1%
Moderada	Recuento	27	8	1	36
	% dentro de 0,25%	75,0%	22,2%	2,8%	100,0%
	% dentro de rs713598	40,9%	21,1%	16,7%	32,7%
	% del total	24,5%	7,3%	0,9%	32,7%
Fuerte	Recuento	33	23	5	61
	% dentro de 0,25%	54,1%	37,7%	8,2%	100,0%
	% dentro de rs713598	50,0%	60,5%	83,3%	55,5%
	% del total	30,0%	20,9%	4,5%	55,5%
Muy fuerte	Recuento	3	0	0	3
	% dentro de 0,25%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs713598	4,5%	0,0%	0,0%	2,7%
	% del total	2,7%	0,0%	0,0%	2,7%
Total	Recuento	66	38	6	110
	% dentro de 0,25%	60,0%	34,5%	5,5%	100,0%
	% dentro de rs713598	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	60,0%	34,5%	5,5%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	10,845	<i>P</i>	0,061	

Anexo 10. Asociación del polimorfismo C145G del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,40% de benzoato de sodio.

	0,40%	rs713598			Total
		C/C	C/G	G/G	
Débil	Recuento	0	1	0	1
	% dentro de 0,40%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs713598	0,0%	2,6%	0,0%	0,9%
	% del total	0,0%	0,9%	0,0%	0,9%
Moderada	Recuento	3	3	0	6
	% dentro de 0,40%	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs713598	4,5%	7,9%	0,0%	5,5%
	% del total	2,7%	2,7%	0,0%	5,5%
Fuerte	Recuento	24	11	1	36
	% dentro de 0,40%	66,7%	30,6%	2,8%	100,0%
	% dentro de rs713598	36,4%	28,9%	16,7%	32,7%
	% del total	21,8%	10,0%	0,9%	32,7%
Muy fuerte	Recuento	39	23	5	67
	% dentro de 0,40%	58,2%	34,3%	7,5%	100,0%
	% dentro de rs713598	59,1%	60,5%	83,3%	60,9%
	% del total	35,5%	20,9%	4,5%	60,9%
Total	Recuento	66	38	6	110
	% dentro de 0,40%	60,0%	34,5%	5,5%	100,0%
	% dentro de rs713598	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	60,0%	34,5%	5,5%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	4,868	<i>P</i>	0,637	

Anexo 11. Asociación del polimorfismo C145G del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,75% de benzoato de sodio.

	0,75%	rs713598			Total
		C/C	C/G	G/G	
Moderada	Recuento	0	2	0	2
	% dentro de 0,75%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs713598	0,0%	5,3%	0,0%	1,8%
	% del total	0,0%	1,8%	0,0%	1,8%
Fuerte	Recuento	8	3	0	11
	% dentro de 0,75%	72,7%	27,3%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs713598	12,1%	7,9%	0,0%	10,0%
	% del total	7,3%	2,7%	0,0%	10,0%
Muy fuerte	Recuento	58	33	6	97
	% dentro de 0,75%	59,8%	34,0%	6,2%	100,0%
	% dentro de rs713598	87,9%	86,8%	100,0%	88,2%
	% del total	52,7%	30,0%	5,5%	88,2%
Total	Recuento	66	38	6	110
	% dentro de 0,75%	60,0%	34,5%	5,5%	100,0%
	% dentro de rs713598	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	60,0%	34,5%	5,5%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	4,229	<i>P</i>	0,381	

Anexo 12. Asociación del polimorfismo C785T del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,001% de benzoato de sodio.

	0,001%	rs1726866			Total
		C/C	C/T	T/T	
Indetectable	Recuento	47	25	5	77
	% dentro de 0,001%	61,0%	32,5%	6,5%	100,0%
	% dentro de rs1726866	68,1%	69,4%	100,0%	70,0%
	% del total	42,7%	22,7%	4,5%	70,0%
Débil	Recuento	19	11	0	30
	% dentro de 0,001%	63,3%	36,7%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	27,5%	30,6%	0,0%	27,3%
	% del total	17,3%	10,0%	0,0%	27,3%
Moderada	Recuento	2	0	0	2
	% dentro de 0,001%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	2,9%	0,0%	0,0%	1,8%
	% del total	1,8%	0,0%	0,0%	1,8%
Fuerte	Recuento	1	0	0	1
	% dentro de 0,001%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	1,4%	0,0%	0,0%	0,9%
	% del total	0,9%	0,0%	0,0%	0,9%
Total	Recuento	69	36	5	110
	% dentro de 0,001%	62,7%	32,7%	4,5%	100,0%
	% dentro de rs1726866	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	62,7%	32,7%	4,5%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	8,745	<i>P</i>	0,182	

Anexo 13. Asociación del polimorfismo C785T del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,08% de benzoato de sodio.

		rs1726866			Total
	0,08%	C/C	C/T	T/T	
Indetectable	Recuento	2	7	0	9
	% dentro de 0,08%	22,2%	77,8%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	2,9%	19,4%	0,0%	8,2%
	% del total	1,8%	6,4%	0,0%	8,2%
Débil	Recuento	30	14	2	46
	% dentro de 0,08%	65,2%	30,4%	4,3%	100,0%
	% dentro de rs1726866	43,5%	38,9%	40,0%	41,8%
	% del total	27,3%	12,7%	1,8%	41,8%
Moderada	Recuento	36	15	3	54
	% dentro de 0,08%	66,7%	27,8%	5,6%	100,0%
	% dentro de rs1726866	52,2%	41,7%	60,0%	49,1%
	% del total	32,7%	13,6%	2,7%	49,1%
Fuerte	Recuento	1	0	0	1
	% dentro de 0,08%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	1,4%	0,0%	0,0%	0,9%
	% del total	0,9%	0,0%	0,0%	0,9%
Total	Recuento	69	36	5	110
	% dentro de 0,08%	62,7%	32,7%	4,5%	100,0%
	% dentro de rs1726866	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	62,7%	32,7%	4,5%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	9,811	<i>P</i>	0,117	

Anexo 14. Asociación del polimorfismo C785T del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,25% de benzoato de sodio.

	0,25%	rs1726866			Total
		C/C	C/T	T/T	
Débil	Recuento	4	6	0	10
	% dentro de 0,25%	40,0%	60,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	5,8%	16,7%	0,0%	9,1%
	% del total	3,6%	5,5%	0,0%	9,1%
Moderada	Recuento	27	9	0	36
	% dentro de 0,25%	75,0%	25,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	39,1%	25,0%	0,0%	32,7%
	% del total	24,5%	8,2%	0,0%	32,7%
Fuerte	Recuento	36	20	5	61
	% dentro de 0,25%	59,0%	32,8%	8,2%	100,0%
	% dentro de rs1726866	52,2%	55,6%	100,0%	55,5%
	% del total	32,7%	18,2%	4,5%	55,5%
Muy fuerte	Recuento	2	1	0	3
	% dentro de 0,25%	66,7%	33,3%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	2,9%	2,8%	0,0%	2,7%
	% del total	1,8%	0,9%	0,0%	2,7%
Total	Recuento	69	36	5	110
	% dentro de 0,25%	62,7%	32,7%	4,5%	100,0%
	% dentro de rs1726866	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	62,7%	32,7%	4,5%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	8,051	<i>P</i>	0,187	

Anexo 15. Asociación del polimorfismo C785T del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,40% de benzoato de sodio.

	0,40%	rs1726866			Total
		C/C	C/T	T/T	
Débil	Recuento	0	1	0	1
	% dentro de 0,40%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	0,0%	2,8%	0,0%	0,9%
	% del total	0,0%	0,9%	0,0%	0,9%
Moderada	Recuento	4	2	0	6
	% dentro de 0,40%	66,7%	33,3%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	5,8%	5,6%	0,0%	5,5%
	% del total	3,6%	1,8%	0,0%	5,5%
Fuerte	Recuento	25	11	0	36
	% dentro de 0,40%	69,4%	30,6%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	36,2%	30,6%	0,0%	32,7%
	% del total	22,7%	10,0%	0,0%	32,7%
Muy fuerte	Recuento	40	22	5	67
	% dentro de 0,40%	59,7%	32,8%	7,5%	100,0%
	% dentro de rs1726866	58,0%	61,1%	100,0%	60,9%
	% del total	36,4%	20,0%	4,5%	60,9%
Total	Recuento	69	36	5	110
	% dentro de 0,40%	62,7%	32,7%	4,5%	100,0%
	% dentro de rs1726866	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	62,7%	32,7%	4,5%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	6,328	<i>P</i>	0,434	

Anexo 16. Asociación del polimorfismo C785T del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,75% de benzoato de sodio.

	0,75%	rs1726866			Total
		C/C	C/T	T/T	
Moderada	Recuento	1	1	0	2
	% dentro de 0,75%	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	1,4%	2,8%	0,0%	1,8%
	% del total	0,9%	0,9%	0,0%	1,8%
Fuerte	Recuento	9	2	0	11
	% dentro de 0,75%	81,8%	18,2%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs1726866	13,0%	5,6%	0,0%	10,0%
	% del total	8,2%	1,8%	0,0%	10,0%
Muy fuerte	Recuento	59	33	5	97
	% dentro de 0,75%	60,8%	34,0%	5,2%	100,0%
	% dentro de rs1726866	85,5%	91,7%	100,0%	88,2%
	% del total	53,6%	30,0%	4,5%	88,2%
Total	Recuento	69	36	5	110
	% dentro de 0,75%	62,7%	32,7%	4,5%	100,0%
	% dentro de rs1726866	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	62,7%	32,7%	4,5%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	2,759	<i>P</i>	0,647	

Anexo 17. Asociación del polimorfismo G886A del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,001% de benzoato de sodio.

	0,001%	rs10246939			Total
		A/A	A/G	G/G	
Indetectable	Recuento	5	28	44	77
	% dentro de 0,001%	6,5%	36,4%	57,1%	100,0%
	% dentro de rs10246939	100,0%	71,8%	66,7%	70,0%
	% del total	4,5%	25,5%	40,0%	70,0%
Débil	Recuento	0	11	19	30
	% dentro de 0,001%	0,0%	36,7%	63,3%	100,0%
	% dentro de rs10246939	0,0%	28,2%	28,8%	27,3%
	% del total	0,0%	10,0%	17,3%	27,3%
Moderada	Recuento	0	0	2	2
	% dentro de 0,001%	0,0%	0,0%	100,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939	0,0%	0,0%	3,0%	1,8%
	% del total	0,0%	0,0%	1,8%	1,8%
Fuerte	Recuento	0	0	1	1
	% dentro de 0,001%	0,0%	0,0%	100,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939	0,0%	0,0%	1,5%	0,9%
	% del total	0,0%	0,0%	0,9%	0,9%
Total	Recuento	5	39	66	110
	% dentro de 0,001%	4,5%	35,5%	60,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	4,5%	35,5%	60,0%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	5,383	<i>P</i>	0,638	

Anexo 18. Asociación del polimorfismo G886A del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,08% de benzoato de sodio.

		0,08%	rs10246939			Total
			A/A	A/G	G/G	
Indetectable	Recuento		0	7	2	9
	% dentro de 0,08%		0,0%	77,8%	22,2%	100,0%
	% dentro de rs10246939		0,0%	17,9%	3,0%	8,2%
	% del total		0,0%	6,4%	1,8%	8,2%
Débil	Recuento		2	15	29	46
	% dentro de 0,08%		4,3%	32,6%	63,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939		40,0%	38,5%	43,9%	41,8%
	% del total		1,8%	13,6%	26,4%	41,8%
Moderada	Recuento		3	17	34	54
	% dentro de 0,08%		5,6%	31,5%	63,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939		60,0%	43,6%	51,5%	49,1%
	% del total		2,7%	15,5%	30,9%	49,1%
Fuerte	Recuento		0	0	1	1
	% dentro de 0,08%		0,0%	0,0%	100,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939		0,0%	0,0%	1,5%	0,9%
	% del total		0,0%	0,0%	0,9%	0,9%
Total	Recuento		5	39	66	110
	% dentro de 0,08%		4,5%	35,5%	60,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total		4,5%	35,5%	60,0%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher		8,745	<i>P</i>	0,182	

Anexo 19. Asociación del polimorfismo G886A del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,25% de benzoato de sodio.

	0,25%	rs10246939			Total
		A/A	A/G	G/G	
Débil	Recuento	0	6	4	10
	% dentro de 0,25%	0,0%	60,0%	40,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939	0,0%	15,4%	6,1%	9,1%
	% del total	0,0%	5,5%	3,6%	9,1%
Moderada	Recuento	0	9	27	36
	% dentro de 0,25%	0,0%	25,0%	75,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939	0,0%	23,1%	40,9%	32,7%
	% del total	0,0%	8,2%	24,5%	32,7%
Fuerte	Recuento	5	23	33	61
	% dentro de 0,25%	8,2%	37,7%	54,1%	100,0%
	% dentro de rs10246939	100,0%	59,0%	50,0%	55,5%
	% del total	4,5%	20,9%	30,0%	55,5%
Muy fuerte	Recuento	0	1	2	3
	% dentro de 0,25%	0,0%	33,3%	66,7%	100,0%
	% dentro de rs10246939	0,0%	2,6%	3,0%	2,7%
	% del total	0,0%	0,9%	1,8%	2,7%
Total	Recuento	5	39	66	110
	% dentro de 0,25%	4,5%	35,5%	60,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	4,5%	35,5%	60,0%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	8,64	<i>P</i>	0,150	

Anexo 20. Asociación del polimorfismo G886A del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,40% de benzoato de sodio.

	0,40%	rs10246939			Total
		A/A	A/G	G/G	
Débil	Recuento	0	1	0	1
	% dentro de 0,40%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939	0,0%	2,6%	0,0%	0,9%
	% del total	0,0%	0,9%	0,0%	0,9%
Moderada	Recuento	0	2	4	6
	% dentro de 0,40%	0,0%	33,3%	66,7%	100,0%
	% dentro de rs10246939	0,0%	5,1%	6,1%	5,5%
	% del total	0,0%	1,8%	3,6%	5,5%
Fuerte	Recuento	0	11	25	36
	% dentro de 0,40%	0,0%	30,6%	69,4%	100,0%
	% dentro de rs10246939	0,0%	28,2%	37,9%	32,7%
	% del total	0,0%	10,0%	22,7%	32,7%
Muy fuerte	Recuento	5	25	37	67
	% dentro de 0,40%	7,5%	37,3%	55,2%	100,0%
	% dentro de rs10246939	100,0%	64,1%	56,1%	60,9%
	% del total	4,5%	22,7%	33,6%	60,9%
Total	Recuento	5	39	66	110
	% dentro de 0,40%	4,5%	35,5%	60,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	4,5%	35,5%	60,0%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	6,799	<i>P</i>	0,364	

Anexo 21. Asociación del polimorfismo G886A del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,75% de benzoato de sodio.

	0,75%	rs10246939			Total
		A/A	A/G	G/G	
Moderada	Recuento	0	1	1	2
	% dentro de 0,75%	0,0%	50,0%	50,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939	0,0%	2,6%	1,5%	1,8%
	% del total	0,0%	0,9%	0,9%	1,8%
Fuerte	Recuento	0	2	9	11
	% dentro de 0,75%	0,0%	18,2%	81,8%	100,0%
	% dentro de rs10246939	0,0%	5,1%	13,6%	10,0%
	% del total	0,0%	1,8%	8,2%	10,0%
Muy fuerte	Recuento	5	36	56	97
	% dentro de 0,75%	5,2%	37,1%	57,7%	100,0%
	% dentro de rs10246939	100,0%	92,3%	84,8%	88,2%
	% del total	4,5%	32,7%	50,9%	88,2%
Total	Recuento	5	39	66	110
	% dentro de 0,75%	4,5%	35,5%	60,0%	100,0%
	% dentro de rs10246939	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	4,5%	35,5%	60,0%	100,0%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	3,149	<i>P</i>	0,527	

Anexo 22. Asociación de los haplotipos formados a partir de los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,001% de benzoato de sodio.

		Haplotipos			
		AAV	AVI	PAV	PVI
Indetectable	0,001%				
	Recuento	1	4	71	1
	% dentro de 0,001%	1,3%	5,2%	92,2%	1,3%
	% dentro de Haplotipos	50,0%	100,0%	68,9%	100,0%
	% del total	0,9%	3,6%	64,5%	0,9%
Débil	Recuento	1	0	29	0
	% dentro de 0,001%	3,3%	0,0%	96,7%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	50,0%	0,0%	28,2%	0,0%
	% del total	0,9%	0,0%	26,4%	0,0%
Moderada	Recuento	0	0	2	0
	% dentro de 0,001%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	0,0%	0,0%	1,9%	0,0%
	% del total	0,0%	0,0%	1,8%	0,0%
Fuerte	Recuento	0	0	1	0
	% dentro de 0,001%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	0,0%	0,0%	1,0%	0,0%
	% del total	0,0%	0,0%	0,9%	0,0%
Total	Recuento	2	4	103	1
	% dentro de 0,001%	1,8%	3,6%	93,6%	0,9%
	% dentro de Haplotipos	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	1,8%	3,6%	93,6%	0,9%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	14,011	<i>P</i>	0,617	

Anexo 23. Asociación de los haplotipos formados a partir de los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,08% de benzoato de sodio.

		Haplotipos			
		AAV	AVI	PAV	PVI
Indetectable	0,08%				
	Recuento	0	0	9	0
	% dentro de 0,08%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	0,0%	0,0%	8,7%	0,0%
	% del total	0,0%	0,0%	8,2%	0,0%
Débil	Recuento	1	1	43	1
	% dentro de 0,08%	2,2%	2,2%	93,5%	2,2%
	% dentro de Haplotipos	50,0%	25,0%	41,7%	100,0%
	% del total	0,9%	0,9%	39,1%	0,9%
Moderada	Recuento	1	3	50	0
	% dentro de 0,08%	1,9%	5,6%	92,6%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	50,0%	75,0%	48,5%	0,0%
	% del total	0,9%	2,7%	45,5%	0,0%
Fuerte	Recuento	0	0	1	0
	% dentro de 0,08%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	0,0%	0,0%	1,0%	0,0%
	% del total	0,0%	0,0%	0,9%	0,0%
Total	Recuento	2	4	103	1
	% dentro de 0,08%	1,8%	3,6%	93,6%	0,9%
	% dentro de Haplotipos	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	1,8%	3,6%	93,6%	0,9%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	10,514	<i>P</i>	0,865	

Anexo 24. Asociación de los haplotipos formados a partir de los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,25% de benzoato de sodio.

	0,25%	Haplotipos			
		AAV	AVI	PAV	PVI
Débil	Recuento	0	0	10	0
	% dentro de 0,25%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	0,0%	0,0%	9,7%	0,0%
	% del total	0,0%	0,0%	9,1%	0,0%
Moderada	Recuento	1	0	35	0
	% dentro de 0,25%	2,8%	0,0%	97,2%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	50,0%	0,0%	34,0%	0,0%
	% del total	0,9%	0,0%	31,8%	0,0%
Fuerte	Recuento	1	4	55	1
	% dentro de 0,25%	1,6%	6,6%	90,2%	1,6%
	% dentro de Haplotipos	50,0%	100,0%	53,4%	100,0%
	% del total	0,9%	3,6%	50,0%	0,9%
Muy fuerte	Recuento	0	0	3	0
	% dentro de 0,25%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	0,0%	0,0%	2,9%	0,0%
	% del total	0,0%	0,0%	2,7%	0,0%
Total	Recuento	2	4	103	1
	% dentro de 0,25%	1,8%	3,6%	93,6%	0,9%
	% dentro de Haplotipos	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	1,8%	3,6%	93,6%	0,9%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	8,578	<i>P</i>	0,71	

Anexo 25. Asociación de los haplotipos formados a partir de los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,40% de benzoato de sodio.

		Haplotipos			
0,40%		AAV	AVI	PAV	PVI
Débil	Recuento	0	0	1	0
	% dentro de 0,40%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	0,0%	0,0%	1,0%	0,0%
	% del total	0,0%	0,0%	0,9%	0,0%
Moderada	Recuento	0	0	6	0
	% dentro de 0,40%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	0,0%	0,0%	5,8%	0,0%
	% del total	0,0%	0,0%	5,5%	0,0%
Fuerte	Recuento	1	0	35	0
	% dentro de 0,40%	2,8%	0,0%	97,2%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	50,0%	0,0%	34,0%	0,0%
	% del total	0,9%	0,0%	31,8%	0,0%
Muy fuerte	Recuento	1	4	61	1
	% dentro de 0,40%	1,5%	6,0%	91,0%	1,5%
	% dentro de Haplotipos	50,0%	100,0%	59,2%	100,0%
	% del total	0,9%	3,6%	55,5%	0,9%
Total	Recuento	2	4	103	1
	% dentro de 0,40%	1,8%	3,6%	93,6%	0,9%
	% dentro de Haplotipos	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	1,8%	3,6%	93,6%	0,9%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	11,952	<i>P</i>	0,673	

Anexo 26. Asociación de los haplotipos formados a partir de los polimorfismos C145G, C785T y G886A del gen *TAS2R38* con la capacidad de percepción del sabor amargo en una concentración de 0,75% de benzoato de sodio.

		Haplotipos			
		AAV	AVI	PAV	PVI
	0,75%				
Moderada	Recuento	0	0	2	0
	% dentro de 0,75%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	0,0%	0,0%	1,9%	0,0%
	% del total	0,0%	0,0%	1,8%	0,0%
Fuerte	Recuento	0	0	11	0
	% dentro de 0,75%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%
	% dentro de Haplotipos	0,0%	0,0%	10,7%	0,0%
	% del total	0,0%	0,0%	10,0%	0,0%
Muy fuerte	Recuento	2	4	90	1
	% dentro de 0,75%	2,1%	4,1%	92,8%	1,0%
	% dentro de Haplotipos	100,0%	100,0%	87,4%	100,0%
	% del total	1,8%	3,6%	81,8%	0,9%
Total	Recuento	2	4	103	1
	% dentro de 0,75%	1,8%	3,6%	93,6%	0,9%
	% dentro de Haplotipos	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% del total	1,8%	3,6%	93,6%	0,9%
Estadística	Prueba exacta de Fisher	6,067	<i>P</i>	1,0	