Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie „Otto Körner“ der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock
(Prof. Dr. med. H.W. Pau)

Volumetrie des peripheren Schmeckorgans - eine prospektive konfokalmikroskopische Untersuchung

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Zahnmedizin der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von
Ehab Srur,
geb. am 18.02.1985 in Nazareth, Israel

Rostock, 2012

urn:nbn:de:gbv:28-diss2014-0022-8

1. Gutachter: Priv.-Doz. Dr. med. T. Just
Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie „Otto Körner“, Universitätsmedizin Rostock

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. med. Dent. B. Frerich
Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie, Universitätsmedizin Rostock

3. Gutachter: Prof. Dr. med. T. Hummel
Klinik und Polilinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde, Universität Dresden

Datum der Einreichung: 05.12.2012
Datum der Verteidigung: 27.11.2013

Inhaltsverzeichnis

I ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS 5

1 EINLEITUNG 6

1.1 DER SCHMECKSINN 6

1.1.1 Aufbau des peripheren Schmeckorganes 6

1.1.2 Geschmacksqualitäten und deren Erkennung 7

1.2 SCHMECKSTÖRUNGEN 9

1.2.1 Einteilung nach Art der Schmeckstörung 10

1.2.2 Einteilung nach Ursachen der Schmeckstörung 10

1.3 DIAGNOSTIK 13

1.3.1 Anamnese 13

1.3.2 Tests mit natürlichen Schmeckstoffen 13

1.3.3 Tests mit nicht-natürlichen Schmeckstoffen 16

1.3.4 Somatosensorische Tests 17

1.3.5 Objektive Schmecktestung 17

1.3.6 Methoden zur In-vivo-Darstellung des peripheren Schmeckorgans 18

1.4 THERAPIE 19

1.5 FRAGESTELLUNG UND ZIELSETZUNG 20

2 MATERIAL UND METHODEN 21

2.1 METHODEN ZUR BESTIMMUNG DES SCHMECKVERMÖGENS 21

2.1.1 Chemischer Schmecktest (CST) mit wässrigen Testlösungen[44,72] 21

2.1.2 Elektrogustometrie 22

2.2 TESTPERSONEN 22

2.2.1 Proband der Machbarkeitsstudie 22

2.2.2 Gesunde Probanden 23

2.2.3 Patienten 24

2.3 OPTISCHES INSTRUMENTARIUM 26

2.4 UNTERSUCHUNGSABLAUF 27

2.5 VOLUMENBESTIMMUNG 28

2.6 STATISTISCHE AUSWERTUNG 30

3 ERGEBNISSE 31

3.1 PROBAND DER MACHBARKEITSSTUDIE 31

3.2 GESUNDE PROBANDEN 35

3.3 PATIENT MIT SCHMECKSTÖRUNG 42

4 DISKUSSION 51

4.1 METHODENVERGLEICH 53

4.1.1 Digital-konfokale LSM 53

4.1.2 Videomikroskopie vs. LSM 55

4.1.3 Kontaktendoskopie vs. LSM 56

4.2 ANZAHL DER FPAP/SK VS. SCHMECKVERMÖGEN 57

4.3 SCHMECKSTÖRUNGEN 58

5 ZUSAMMENFASSUNG 60

6 VERZEICHNISSE 62

6.1 LITERATURVERZEICHNIS 62

6.2 ABBILDUNGSVERZEICHNIS 71

6.3 TABELLENVERZEICHNIS 73

7 THESEN 74

8 ANHANG 77

8.1 TABELLEN 77

8.2 EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG 78

I Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BMS	Burning mouth syndrome
CST	chemischer Schmecktest
dBg	gustatorische Dezibel
fPap	fungiforme Papille
LSM	Laser-Scanning-Mikroskop/ie
µA	Mikroampere
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
nm	Nanometer
g	Gramm
SK	Schmeckknospen
P	Signifikanzwert
Na+	Natrium-Ion
K+	Kalium-Ion
Cl-	Chlorid-Ion
G-Protein	Guaninnucleotid-bindendes Protein
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
r	Reliabilitätskoeffizient
GEP	Gustatorisch evozierte Potentiale
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomographie

1 Einleitung

1.1 Der Schmecksinn

Der Schmecksinn ist die wichtigste und letzte Kontrolle der Nahrungsbestandteile, bevor sie in unserem Körper aufgenommen werden. Dabei bildet die Schmeckempfindung eine große emotionale Komponente für das Wohlempfinden des Essenden. Die Nahrungsaufnahme wird durch Abneigung und Vorlieben für bestimmte Lebensmittel individuell reguliert. Außerdem ist die Detektion potenziell toxischer oder gefährdender Substanzen eine der wichtigsten Funktionen des Schmecksinnes.

Der Geschmack während des Essens ist als Zusammenspiel von Schmeckreizen, Geruchskomponenten, taktilen Reizen der Schleimhautoberfläche, sowie von anderen Sinnesreizen (z.B. Temperatur) zu sehen. Deswegen ist für eine objektive Beurteilung einer Schmeckstörung die differenzierte Abklärung des reinen Schmecksinnes ohne olfaktorische oder somato-sensorische Beeinflussung entscheidend.

1.1.1 Aufbau des peripheren Schmeckorganes

Das wichtigste gustatorische Organ stellt die Zunge dar. Auf der Zunge und Schleimhäuten der Mundhöhle befinden sich Trägerstrukturen für die Sinneszellen, die Geschmackspapillen und die Schmeckknospen (SK), in deren Membran die Rezeptorzellen für die Differenzierung der Geschmacksqualitäten sitzen. Die SK sind beim Erwachsenen weitgehend auf den weichen Gaumen und das Papillenepithel der Zunge beschränkt. Weiterhin sind SK insbesonders im Säuglings- und Kleinkindalter auch am Gaumen, an der Epiglottis, im Bereich der aryepiglottischen Falten bis an die Glottis und im oberen Anteil der Speiseröhre zu finden.[1]

Die Geschmackspapillen lassen sich morphologisch in 4 Typen differenzieren:

- *Die Pilzpapillen* (papillae fungiformes, hier fPap genannt): Die 200 – 400 pilzförmigen Papillen stellen die zahlenmäßig größte Gruppe. Sie bedecken die vorderen 2/3 der Zunge.
- *Die Blätterpapillen* (papillae foliatae): Die 15 – 20 Blätterpapillen befinden sich im hinteren Seitenrand der Zunge in Form dicht hintereinander liegender Falten.

- *Die Wallpapillen* (papillae Vallatae): Die 7 – 12 großen Wallpapillen liegen auf dem hinteren Zungenrücken an der Grenze zum Zungenrand.
- *Die Fadenpapillen* (papillae filiformes): Sie sind auf dem gesamten Zungenrücken verteilt und übernehmen nur taktile Funktionen.

Der erwachsene Mensch hat 2000 – 4000 SK, die in den Wänden und Gräben der Papillen liegen. Die SK sind tönnchenartige Gebilde, die etwa 70 µm lang sind und einen Durchmesser von 40 µm haben. Sie setzen sich je nach Spezies aus 50 – 150 Schmeckrezeptorzellen zusammen[2], deren Lebensdauer jedoch nur gering ist, da sie bereits nach 10 – 20 Tagen durch eine nachrückende Zelle ersetzt werden[3].

Es gibt insgesamt 4 Zelltypen mit unterschiedlichen Aufgaben, 3 längliche von basal bis apikal reichende Zelltypen (Typ I – III)[4] und Basalzellen am basalen Pol einer SK. Die apikale Zellkompartimente bildet einen kleinen, flüssigkeitsgefüllten Porus mit einem Durchmesser von ca. 20 µm. Dieser Geschmacksporus (Porus gustatorius) ist zur Zungenoberfläche hin offen und bietet so den Molekülen aus der Mundhöle Zugang zu den Sinneszellen.

Die **Typ I-Zellen** sind gliaähnliche Zellen. Sie haben lange Mikrovilli und sezernieren Substanzen in den Geschmacksporus. Die **Typ II-Zellen** haben kürzere Mikrovilli als Typ I-Zellen und stellen die Sinneszellen dar. Sie haben gustatorische Rezeptoren für die Qualitäten bitter, süß und umami. Die **Typ III-Zellen** sind Sinneszellen für die Qualitäten salzig und sauer und zugleich präsynaptische Zellen, die die Informationen an die Afferenzen der Hirnnerven weitergeben. **Die Basalzellen** bilden die 4. Gruppe, deren Aufgabe noch nicht vollständig geklärt ist. Man geht davon aus, dass die Basalzellen zu Sinneszellen differenzieren (Vorläuferzellen).

1.1.2 Geschmacksqualitäten und deren Erkennung

Der Mensch empfindet 5 unterschiedliche Geschmacksqualitäten: süß, sauer, salzig, bitter und umami[5]. Daneben werden weitere Geschmacksqualitäten diskutiert. Laugerette et al. identifizierten einen möglichen Geschmacksrezeptor für Fett, das Glycoprotein CD36, das in den Geschmackssinneszellen der Zunge nachgewiesen wurde und Fettsäuren mit hoher Affinität binden kann.[6] Auch für Calcium gibt es Hinweise auf einen eigenen Rezeptor[7]

Lange Zeit nahm man an, dass eine genaue Zuordnung bestimmter Areale der Zunge zu einer Geschmacksqualität möglich sei. Dies ist ein verbreiteter Irrglaube. Heute weiß man, dass nur geringe Unterschiede in der Empfindlichkeit der einzelnen Qualitäten zwischen den Zungenbereichen bestehen[2,8-12].

Jede Geschmacksqualität hat ihren eigenen spezifischen Rezeptor, der durch Reizsubstanzen aktiviert wird. Zuerst kommt es zu Wechselwirkungen zwischen Geschmacksstoffmolekülen und den Rezeptorproteinen in der Membran der Sinneszellen. Diese sogenannte Transduktion führt durch Aktivierung von Ionenkanälen anschließend zur Permeabilitätsänderung der Membran (was eine Depolarisation bzw. Hyperpolarisation zur Folge hat) sowie einer Erregung der innervierenden Gehirnnervenfaser[13].

Für den ***sauren*** Geschmack ist die Freisetzung von Protonen verantwortlich. Spezielle Rezeptorkanalproteine, die für Kaliumionen permeabel sind, wurden in Membranen der Mikrovilli nachgewiesen. Protonen wirken blockierend an diesem Kaliumkanal. Durch den nicht mehr stattfindenden Kationenausstrom kommt es zur Depolarisation.

Ein saurer Geschmack kann auch durch Blockierung Amilorid-sensitiver Natriumkanäle durch Wasserstoffionen ausgelöst werden.[14]

Der ***salzige*** Geschmack entsteht durch kristalline, wasserlösliche Salze, die in Lösung in Kationen und Anionen dissoziieren. Das bekannteste Beispiel ist Kochsalz, das sich in Na+ und Cl- trennt. Sowohl die Kationen als auch die Anionen tragen zur Intensität bei. Durch eine Erhöhung der extrazellulären Na+-Konzentration während der Nahrungszufuhr strömen vermehrt Na+-Ionen durch den Amilorid-sensitiven unspezifischen Kationenkanal in die Zelle und depolarisieren diese. Mittels Na+/ K+-Pumpen im basolateralen Bereich der Sinneszelle werden die überschüssigen Kationen wieder heraus transportiert und die Zelle erneut erregbar. Die Anionen wirken indirekt über spezifische Transportsysteme an benachbarten Stützzellen, die über gap junctions mit den Sinneszellen verbunden sind[2].

An der Empfindung des ***bitteren*** Geschmackes sind 20 – 25 unterschiedliche G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCR) der T2R-Familie beteiligt.[15,16] Dies ist auf die große Anzahl der toxischen Bitterstoffe (z.B. Strychnin oder Chinin), die differenziert werden müssen, zurückzuführen. Bindet ein Bitterstoff an ein transmembranes Protein, führt das zur Aktivierung eines G-Proteins. Durch Auslösung einer intrazellulären Signalverstärkung kommt es zu einem Kalziumanstieg in der Zelle. Kalziumionen können direkt oder indirekt (durch Öffnen von Kationenkanälen) eine Transmitterfreisetzung bewirken.

Die ***süß*** schmeckenden Substanzen haben die größte Oberflächenvariabilität. Es lassen sich aber strukturelle Gemeinsamkeiten erkennen. Einige Vertreter sind Zucker (Saccharose, Glucose, usw.), einige Aminosäuren (bei neutralem pH), Alkohole, Glycole und synthetische Süßstoffe (Cyclamat, Aspartam, Saccharin, usw.). Die Süßwahrnehmung wird durch die Bindung eines spezifischen Liganden an G-Protein gekoppelte Rezeptoren vermittelt.[17] Es kommt zur Aktivierung der Adenylatzyklase. Die-cAMP Konzentration in der Zelle steigt, wodurch Ionenkanäle blockiert werden, die für Kaliumionen durchgängig sind. Die Kaliumkonzentration in der Zelle steigt, was wiederum zur Depolarisation führt.
Der Rezeptor für den ***Umami***geschmack ist ähnlich aufgebaut wie die Rezeptoren zur Süßwahrnehmung.[17] Er ist in der Lage, verschiedene L-Aminosäuren zu erkennen und zeigt beim Menschen eine hohe Spezifität für die Aminosäuren Glutamin- und Asparaginsäure.

1.2 Schmeckstörungen

Schmeckstörungen werden im täglichen Sprachgebrauch als Missempfindung beim Essen oder Trinken angegeben. Tatsächlich liegt oft bei einer angegebenen „Schmeckstörung“ eine Riechstörung vor. Für die Patienten ist es schwierig und ungewohnt, eine Störung, die olfaktorisch bedingt ist, von einer reinen Schmeckstörung zu unterscheiden. Dies zeigte Soter et al. in einer Studie, bei der 469 Patienten zunächst einen Fragebogen bezüglich ihrer verschieden Schmeckwahrnehmungen beantworten mussten und danach einem Schmeck- und Riechtest unterzogen wurden[18]. In einer anderen Studie konnte belegt werden, dass bei 87 % der Probanden, die bei der Befragung eine Schmeckstörung angaben, kein messbares Schmeckdefizit durch Schmecktestung nachgewiesen werden konnte.[19]
Reine Schmeckstörungen (d.h. Störung der Wahrnehmung von süß, bitter, salzig, sauer und umami) sind im Vergleich zu Riechstörungen eher selten und machen weniger als 10 % der Riechsprechstunde aus.[20] Dies hängt mit der redundanten gustatorischen Innervation der Zunge zusammen. Eine Studie aus der USA zeigte, dass nur 0,6 % der 80000 befragten Erwachsenen (ab 18 Jahre) über gustatorische Probleme berichteten[21].
Eine aktuelle Studie zeigte, dass die Anzahl der Menschen, die an Schmeckstörungen leiden, bei ca. 5 % liegt[22].

Schmeckstörungen (Dysgeusien) werden nach den Vorschlägen der Arbeitsgemeinschaft Olfaktologie und Gustologie folgendermaßen eingeteilt:

Einteilung nach der der Schmeckstörung: Quantitative oder Qualitative Dysgeusie
Einteilung nach Ursache der Schmeckstörung: epitheliale, nervale oder zentrale Ursachen

1.2.1 Einteilung nach Art der Schmeckstörung

Quantitative Dysgeusien

Normogeusie : Normale Schmeckempfindlichkeit
Ageusie : völliger Ausfall des Schmeckvermögens
Hypogeusie : Minderung der Schmeckempfindlichkeit
Hypergeusie : Steigerung der Schmeckempfindlichkeit

Die quantitativen Störungen können jeweils komplett (für alle Geschmacksqualitäten) oder partiell sein.

Qualitative Dysgeusien

Parageusie: Veränderte Wahrnehmung von Schmeckreizen
Phantogeusie : Wahrnehmung von Schmeckeindrücken in Abwesenheit einer Reizquelle

Die qualitativen Dysgeusien sind im Gegensatz zu den quantitativen Dysgeusien weder psychophysisch noch objektiv erfassbar, sie werden vom Patienten angegeben.

1.2.2 Einteilung nach Ursachen der Schmeckstörung

Epitheliale Ursachen Schädigung im Bereich der Schmeckknospen / Sinneszellen bzw. im Bereich der Zungenschleimhaut, beispielsweise durch Entzündungen, Radiochemotherapien[23], Medikamentennebenwirkungen (z.B. Chlorhexidin[24], Penicillamin[25]), Burning-Mouth-Syndrom oder Stoffwechsel- und Systemerkrankungen (z.B. Diabetes mellitus).
Man unterscheidet zwischen direkten Epithelschäden, wie z.B. durch Radiochemotherapie, und indirekten Epithelschäden, wie z.B. durch orale Entzündungen.

Nervale Ursachen kommen durch die Schädigungen der afferenten Nervenfasern des Schmecksystems zustande. Ursachen sind Operationen, Traumen, Tumoren oder Entzündungen. Hauptsächlich sind die nervalen Ursachen auf Operationen in der HNO-

Heilkunde oder MKG-Chirurgie zurückzuführen. Dazu zählen Mittelohrchirurgie, Operationen in der Mundhöhle und im Oropharynx, Mikrolaryngoskopie, Zahn- und Kieferoperationen.

Zentrale Ursachen Dies sind Störungen im Bereich der zentralnervösen Schmeckbahnen oder –zentren, die selten isoliert auftreten und so von dem Patienten und dem Arzt unbemerkt bleiben. Die Patienten haben meistens in der Akutphase andere markante neurologische Ausfälle[3], die im Vordergrund stehen, sodass die Schmeckstörungen erst nach gezielter Untersuchung erfasst werden.

Diese Einteilung nach der Ursache der Störung wird bald durch einen neuen Vorschlag für die Leitlinie Schmeckstörung ersetzt. Diese ist folgendermaßen dargestellt:

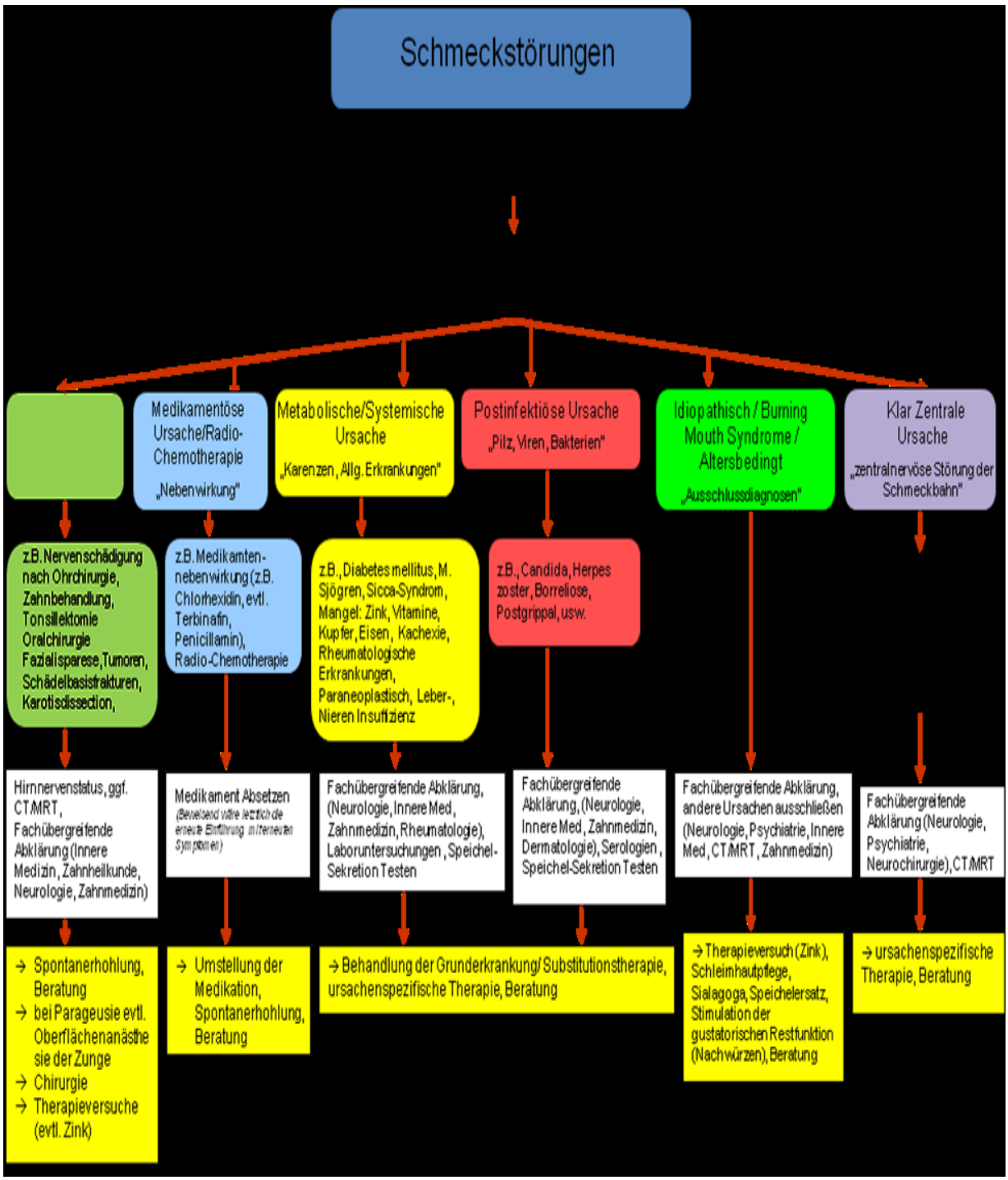


Abb. 1 mögliche Einteilung der Schmeckstörungen nach der neuen Leitlinie

1.3 Diagnostik

Für die Erstellung einer Diagnose sind Anamnese sowie klinische Untersuchung von großer Bedeutung. Diese entscheiden normalerweise über das weitere diagnostische und häufig auch therapeutische Vorgehen. Besonderes Augenmerk sollte auf die Untersuchung der Mundhöhle und des Ohres mit der Chorda tympani gelegt werden.

1.3.1 Anamnese

Eine umfangreiche und sorgfältige Anamnese ist der erste Schritt der klinischen Untersuchung. Diese liefert bei mehr als zwei Drittel der Patienten schon Hinweise über olfaktorische und/oder gustatorische Störungen.[26]

Die folgenden Gesichtspunkte müssen bei der Anamnese berücksichtigt werden:

- Operationen im Kopf- und Halsbereich[27], z.B. Mittelohroperationen[28,29] einschließlich Stapesoperationen[30], Tonsillektomie[31], Mikrolaryngoskopie[31] etc.
- Zahlreiche Medikamente[32] und toxische Werkstoffe[33]
- Schädel-Hirn-Traumen
- Infektionen, z.B. Infektionen der oberen Atemwege, Infektionen in der Mundhöhle sowie im Mittelohr können zu Schädigungen des gustatorischen Systems führen[34].
- Burning-Mouth-Syndrom[35]
- Systemische Erkrankungen (z.B. Diabetes, Niereninsuffizienz, Erkrankungen des unteren Verdauungstraktes, Stoffwechselstörungen, Sjörgen-Syndrom[36])
- Neurologische oder psychiatrische Erkrankungen

1.3.2 Tests mit natürlichen Schmeckstoffen

1.3.2.1 Ganzmundtestung

Schmecksprays

Hierbei handelt es sich um einen überschwelligen Ganzmundtest, mit dem die grundsätzliche Fähigkeit des Patienten getestet wird, eine Schmeckqualität zu erkennen (Screening-Test).

Dabei werden kleine Mengen Schmeckstoff in Form von Tropfen oder Sprays in den Mund der Patienten verabreicht. Nach wenigen Sekunden werden die Lösungen ausgespuckt, gegebenenfalls wird mit Wasser nachgespült. Bei diesem Test werden zur überschwelligen Reizung als natürliche Substanzen Saccharose (1 g auf 10 g Aqua; süß), Zitronensäure (0,5 g auf 10 g Aqua; sauer), Kochsalz (0,75 g auf 10 g Aqua; salzig), und Chininhydrochlorid (0,005 g auf 10 g Aqua; bitter) verwendet.

3-Tropfen-Test und 1-Tropfen-Test

Dieser Test wurde 1963 von Henkin et. al.[37] beschrieben. Dabei werden frisch hergestellte verschieden konzentrierte Schmecklösungen der vier Geschmacksqualitäten süß, sauer, salzig und bitter durch Applikation eines Tropfens Schmecklösung und zweier Tropfen Wasser auf die Mittellinie des vorderen Zungendrittels aufgebracht. Der Proband muss sich im Multiple-Forced-Choice-Verfahren für eine der vier Geschmacksqualitäten entscheiden. Im pseudorandomisierten Test mit Beginn mit der kleinsten Konzentration des Schmeckstoffes kann der Schwellenwert für die Geschmacksqualitäten bestimmt und mit Normwerten verglichen werden. Durch Gudziol und Hummel wurden Normdaten für die Herstellung einer Schmecktestung mit flüssigen Schmecklösungen veröffentlicht.[38] Vorteil dieses Tests sind die vorliegenden Normwerte sowie die Bestimmung von Schwellenwerten. Als nachteilig erscheinen die aufwendige Präparation der Schmecklösungen, speziell geschultes Personal, eingeschränkte regionale Aussagekraft des Tests und Schwankungsbreite der Mischkonzentration der Schmecklösung bei interindividuell unterschiedlichem Lösungs- und Verteilungsmuster.

Im Gegensatz dazu können beim 1-Tropfen-Test schwellennahe und überschwellige Schmecklösungen nach einer feststehenden Frequenz pseudorandomisiert angeboten werden. Dadurch kann ein gustatorischer Index durch die Summation aller erkannten Konzentrationsstufen bei vier Schmeckqualitäten bestimmt werden. Dieser Test zeichnet sich durch eine hohe Test-Retest-Reliabilität aus. Es ist jedoch nicht sofort ersichtlich, welche Schmeckqualität schlechter erkannt wird.[39]

Testung mit Schmecktabletten und -waffeln

Hierbei werden Schmecktabletten mit den 4 Schmeckqualitäten[40] süß, sauer, salzig und bitter als eine alternative Methode zu den Schmecklösungen verwendet. Die Tabletten liegen als 6 Konzentrationen von jeder der 4 Schmeckqualitäten (Saccharose, Zitronensäure, Natriumchlorid, Koffein) und als 4 Tabletten ohne Geschmack vor. Es wird mit der niedrigsten Konzentration in einer aufsteigenden und pseudorandomisierten Reihenfolge begonnen. Dieser Schmecktest weist eine gute Test-Retest-Reliabilität auf ($r = 0.69$, $p < 0.001$). Mit den Schmeckwaffeln wurden ähnliche Ergebnisse erreicht.[41] Diese aromatisierten Waffeln können sowohl für die regionale Testung als auch Ganzmundtestung verwendet werden.[41] Die Vorteile der Schmecktestung mit den Schmecktabletten bzw. –waffeln gegenüber Schmecklösungen ist die lange Haltbarkeit bzw. Lagerfähigkeit. Nachteilig sind die fehlenden alters- und geschlechtsspezifischen Normdaten.

1.3.2.2 Regionale Testung

Schmeckstreifen (Taste Strips)

Der Schmeckstreifen-Test ist ein bewährter quantitativer Test, bei dem imprägnierte Schmeckstreifen verwendet werden. Dieser Test wurde erstmals von Mueller et al. im Jahre 2003 vorgestellt.[42] Dabei werden Filterpapierstreifen mit 4 verschiedenen Lösungen getränkt (Saccharose=süß, Zitronensäure=sauer, Natriumchlorid=salzig, Chininhydrochlorid=bitter), die in 4 Konzentrationen vorhanden sind.

Die Streifen werden auf die linke oder rechte Seite des vorderen Drittels der ausgestreckten Zunge gelegt. Der Mund wird vor dem Test und zwischen jeder Anwendung mit Wasser ausgespült. Es wird abwechselnd auf beiden Zungenseiten in einer randomisierten und aufsteigenden Reihenfolge mit der niedrigsten Konzentration jeder Lösung begonnen. Dieses Verfahren führt zu 32 Versuchen (16 auf jede Zungenseite).

Der Patient muss die Geschmacksqualität bei ausgestreckter Zunge identifizieren (süß, sauer, salzig, bitter; Multiple-Choice-Verfahren). Neben den seitengetrennten Ergebnissen, kann man beim Addieren der Ergebnisse von beiden Zungenseiten die gesamte gustatorische Empfindlichkeit ermitteln.

Mit dieser Methode wurde eine Test-Retest-Reliabilität von $r=0.86$ (bei der 3-Tropfen-Methode $r=0,69$) ermittelt.[42] Alters- und geschlechtsspezifische Normdaten für den Taste-

Strips-Test wurden von Landis et al. 2009 veröffentlicht.[43] Dieser Test ist für die routinemäßige klinische Anwendung sinnvoll. Das Ziel weiterer Studien ist es, Monosodium-Glutamat (umami-Geschmack) dem Test hinzuzufügen.

Testung mit flüssigen Schmeckstoffen

Die regionale Testung kann des Weiteren mit flüssigen Schmeckstoffen durchgeführt werden.[44] Für die Beurteilung der gustatorischen Empfindlichkeit werden ca. 20 µl flüssigen Schmeckstoffes (Saccharose, Zitronensäure, Natriumchlorid, Chininhydrochlorid) mithilfe eines Glasstabs auf beiden Seiten des vorderen Drittels der ausgestreckten Zunge appliziert. Die Anwendung dieses Tests ähnelt dem Schmeckstreifentest bis auf die Antwort „kein Geschmack“ und die Konzentration der Schmeckstoffe. Die Test-Retest-Reliabilität dieses Tests ist r=0.77. Alter- und geschlechtsspezifische Normdaten sind verfügbar.

1.3.3 Tests mit nicht-natürlichen Schmeckstoffen

Elektrogustometrie

Eine einfache und schnelle Methode für die lokalisierte Schmecktestung ist die Elektrogustometrie. Bereits 1959 wurde der erste Elektrogustometer für den klinischen Gebrauch von Krarup beschrieben.[45-47] Er ersetzte die Schmecklösungen für die Schmecktestung mit einem inadäquaten elektrischen Reiz. Bei gesunden Probanden induziert die elektrische Stimulation der Zunge typischerweise einen metallischen Geschmack. Die von Krarup verwendete Methode der Elektrogustometrie konnte sich weltweit durchsetzen. Hierbei berührt eine differente Elektrode die Zunge für eine bestimmte Zeit, in der ein definierter Strom fließen kann. Die indifferente Elektrode wird am Handgelenk, Ohrläppchen oder Kinn befestigt. Der Elektrogustometer (RION TR-06) wird häufig verwendet für die Erfassung der gustatorischen Funktion in Japan. Die Skalierung nach Krarup erfolgte durch Unterteilung des logarithmisch aufgetragenen Bereiches von 5,75 µA bis 300 µA in 37 gleiche Teile, den Electric Gust Units (EGU).

Nach Haberland[48] (Halle II) erfolgt die Skalierung in gustatorischen Dezibel zwischen –6 und 40 dBg. Die Reizzeit beträgt 500 ms. Da die Wahrnehmungsschwellen zwischen den einzelnen Individuen und auch zwischen den einzelnen Arealen der Zunge sehr stark schwanken, ist der Vergleich von zwei gleichen Testarealen des jeweiligen nervalen

Versorgungsgebietes entscheidend. Mit dieser Methode können allerdings keine Störungen einzelner Schmeckqualitäten aufgedeckt werden.

1.3.4 Somatosensorische Tests

Dieser trigeminale Schwellentest dient zur Messung der somatosensorischen Empfindlichkeit der Zunge bei Menschen[49] und ähnelt dem Schmeckstreifentest (Taste Strips)[42]. Hierbei werden mit Capsaicin imprägnierte Filterpapierstreifen mit einer Länge von 8 cm verwendet. Die Filterpapierstreifen werden mit fünf verschieden hohen Capsaicinkonzentrationen imprägniert. Die jeweiligen Streifen wurden mit C5 für die niedrigste Konzentration 0,0001 %, C4 = 0,001 %, C3 = 0,01 %, C2 0,1 % und für die höchste Konzentration mit C1 = 1 % benannt. Für die Ganzmundtestung wurden die Teststreifen in der Mitte, für die seitengetrennte Testung auf der Zungenspitze der jeweiligen Seite platziert. Dieser Test ist für den klinischen Gebrauch nicht einsetzbar, scheint jedoch für Grundforschungen geeignet zu sein.[35,50] Es gibt keine alters- oder geschlechtsspezifischen Normdaten.

1.3.5 Objektive Schmecktestung

Gustatorisch evozierte Potentiale (GEP)

Die Ableitung gustatorisch evozierter Potentiale (GEP) wurde erstmals von Funakoshi und Kawamura beschrieben.[51] Bei der GEP wird seitengetrennt oder im gesamten Mundhöhlenbereich gustatorisch stimuliert. Die Problematik in der Messung GEP liegt in der Innervation der Zunge für mannigfaltige Reize und deren Filterung. So müssen annehmbare Potenziale für taktile Reize, Temperatur und Bewegung ausgeschlossen werden, um die reine Antwort auf den gustatorischen Reiz zu ermitteln.

Im Jahre 1985 entwickelte Kobal eine Messordnung, die für die wissenschaftliche Auswertung von GEP brauchbar erscheint.[52] Mit einer weiterentwickelten Apparatur gelang es Min und Sakamoto 1997, bereinigte Peakzeiten zu gewinnen.[53]

Erst seit kurzem sind kommerzielle Geräte verfügbar, um objektiv gustatorische ereigniskorrelierte Potentiale (event-related potential, ERP) bei Menschen zu beurteilen. Hummel et al. zeigten in einer ersten Studie im Jahr 2010, wie nützlich diese Methode für die klinische Routine ist. Bis jetzt wurde nur die Schmeckqualität sauer (Zitronensäure) benutzt. [54] Andere Studien sind erforderlich um die anderen Schmeckqualitäten zu etablieren.

MRT

Anhand der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) können die neuralen Prozesse der Geschmackswahrnehmung und auch der Geschmacksintensität veranschaulicht werden. Bisher wurden zwei Studien veröffentlicht, die die Geschmacksintensität nach der Stimulation mit süß oder bitter[55] sowie nach der Stimulation mit süß oder salzig[56] zeigten. Bei der Differenzierung der süßen und bitteren Geschmackintensität sind verschiedene Hirnregionen involviert (das Kleinhirn, das Putamen, der Pons, die Amygdala und die mittlere Insula) .[55] Spetter et al. berichteten auch über ähnliche Ergebnisse.[56] Sie fanden heraus, dass die Geschmacksintensität in der mittleren Insula repräsentiert wird. Aktivitäten in der Amygdala wurden nur bei salziger Stimulierung gefunden. Bislang wurde die fMRT nur für wissenschaftliche Zwecke verwendet.

1.3.6 Methoden zur In-vivo-Darstellung des peripheren Schmeckorgans

Kontaktendoskopie

Zur direkten Untersuchung der Geschmackspapillen kann die Kontaktendoskopie verwendet werden. Damit kann eine 60- bis 150-fache Vergrößerung erzielt werden. Nach Anfärben des Zungenepithels mit Methylenblau wird die Endoskopoptik direkt auf die Zunge aufgesetzt. Just et al zeigten, dass es bei Patienten nach Durchtrennung der Chorda tympani ipsilateral weniger und flachere fungiforme Papillen als auf der Gegenseite gibt.[57] Allerdings steht zurzeit dieses Verfahren nur in wenigen Einrichtungen zur Verfügung.

Digital-konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (LSM)[58]

Im Rahmen dieser Dissertation wird ein neues Testverfahren zur Erfassung morphologischer Veränderung der fungiformen Papillen bzw. Schmeckknospen als eine Alternative zur Untersuchung von Biopsien[59] vorgestellt. Diese Methode ermöglicht die Untersuchung der fPap und der SK in vivo ohne Anfärben der Zungenoberfläche mit Methylenblau. Damit kann eine 800-fache Gesamtvergrößerung erzielt werden. Subepitheliale Gefäße können ebenfalls in Echtzeit dargestellt werden.

Es wurde mit dieser Methode belegt, dass das Muster der Volumenänderung der SK bei den untersuchten Patienten mit Schmeckstörung auf der betroffenen Seite verändert war.[60] Zur Zeit liegen aber noch keine Normdaten vor.

1.4 Therapie

Klar therapeutische Richtlinien existieren nicht für Schmeckstörungen. Es gibt relativ wenige Möglichkeiten diese zu behandeln. Da die therapeutischen Behandlungsmöglichkeiten begrenzt sind, sollte die Therapie bei den Ursachen für die Schmeckstörung ansetzen. Des Öfteren werden qualitative Schmeckstörungen im Zusammenhang mit Mitteln zur Mundhygiene[61] bzw. einer Arzneimitteleinnahme beobachtet. In einigen Fällen kann durch das Absetzen des Arzneimittels bzw. das Umsetzen auf ein anderes Medikament oder durch Änderung der Dosierung eine Besserung eintreten.[62] Es muss berücksichtigt werden, dass diese Schmeckstörungen über Monate nach dem Absetzen des Medikamentes bestehen bleiben könnten.

Die häufigsten Schmeckstörungen sind qualitativer Art. Die idiopathische Parageusie bzw. Phantogeusie können nicht behandelt werden. Sie bilden sich in ca. 2/3 der Fällen in etwa 10 Monate wieder zurück.[63] Häufig wird die Behandlung mit Zink durchgeführt[64], obwohl die Wirksamkeit umstritten ist[65]. Neuere, doppelt-blind durchgeführte Untersuchungen zeigten, das Zink (z.B. 140 mg Zinkgluconat pro Tag entsprechend 20 mg elementarem Zink pro Tag für 4 Monate) bei idiopathischen Dysgeusien eine Besserung der Symptomatik bewirkt.[66]

Bei besonders stark entwickeltem Leidensdruck wird u.a. auch versucht, die Mundhöhle mit 2%-iger Lidocainlösung zu spülen, in die Mundhöhle 1 - 5 Sprühstöße 10 %-igen Lidocains zu applizieren oder ein 2 %-iges Lidocaingel auf die Zunge aufzutragen. Wenn Linderung verspürt wird, kann der kooperative Patient nach Anleitung diese Palliativmaßnahme eigenverantwortlich durchführen[67,68]. Patienten mit qualitativen Schmeckstörungen profitieren am ehesten von einer Therapie, wenn die Ursache der Schmeckstörung periodontal, paranasal, ein Vitamin B12-Defizit, eine bakterielle oder Pilzinfektion ist[62].

Quantitative Schmeckstörungen infolge einer Hypothyreose können sich nach Thyroxinsubstitutionen bessern [20]. Bei ernährungsbedingten Schmeckstörungen liegen die Ursachen häufig in Defiziten, die sich durch eine Ergänzungsnahrung bzw. durch das Verlassen einer zu einseitigen Diät beheben lassen. Bei medikamentös induzierten Zinkmangelzuständen (z.B. Medikamente mit einer Sulfhydrylgruppe wie u.a. Penicillamin, Captopril, Methamizol) kann eine Zink-, zuweilen auch eine Selensubstitution die Schmeckproblematik bessern[69,70]. Bei Infektionen und Entzündungen der Mundschleimhaut und der Umgebung der Schmecknerven können Antibiotika oder antiinflammatorische

Medikamente quantitative und qualitative Schmeckstörungen therapieren. Radiogene Schmeckstörungen bessern sich meist über die Zeit. Häufig sind sie mit einer bestrahlungsinduzierten Mundtrockenheit und mit Mundbrennen assoziiert. Eine symptomatische Therapie mit Sialagoga oder mit künstlichem Speichel kann den Beschwerdekomplex zusammen mit den Schmeckstörungen günstig beeinflussen, Gabapentin scheint bei Mundbrennen nicht wirksam zu sein[71].

1.5 Fragestellung und Zielsetzung

Bisher konnten Volumenveränderungen der fungiformen Papillen und deren Schmeckknospen nur nach vorheriger Biopsie untersucht werden. Die vorliegende Dissertation dient der Gewinnung und Interpretation verlässlicher Daten zur In-vivo-Volumenveränderung der fungiformen Papillen und deren SK unter Verwendung eines konfokalen Laser-Scanning-Mikroskops.

Zunächst soll mit einer Machbarkeitsstudie überprüft werden, ob die Methode zur Volumenbestimmung praktikabel ist. Außerdem soll ein geeignetes Zeitintervall für serielle Untersuchungen bestimmt werden.

Anschließend soll die Hauptstudie an gesunden Probanden durchgeführt werden, um den Verlauf der Volumenveränderungen der SK über einen längeren Zeitraum zu erfassen. Als Kontrollproband wird ein Patient mit Schmeckstörungen herangezogen.

Ziel dieser Untersuchungen ist es zu klären, ob die vorhandenen Störungen Auswirkungen auf das Volumen der SK haben.

2 Material und Methoden

Zur Volumenbestimmung der Schmeckknospen (SK) wurden nach einer Machbarkeitsstudie gesunde Probanden untersucht. Im Vergleich wurde ein Patient mit Schmeckstörung herangezogen.

Die Patienten und Probanden wurden über den Zweck der Studie aufgeklärt. Die Teilnahme war freiwillig und konnte zu jedem Zeitpunkt ohne Angabe von Gründen beendet werden.

Die Untersuchungen wurden von der Ethikkommission Mecklenburg-Vorpommern genehmigt. Die Grundsätze der Deklaration von Helsinki zur biomedizinischen Forschung unter Einbeziehung von menschlichen Versuchspersonen sind beachtet worden.

2.1 Methoden zur Bestimmung des Schmeckvermögens

2.1.1 Chemischer Schmecktest (CST) mit wässrigen Testlösungen[44,72]

Das Schmeckvermögen jedes Probanden wurde vor Beginn der konfokalmikroskopischen Untersuchungen getestet. Verwendet wurde ein von der ArGe „Olkfaktologie und Gustologie“ eingeführter Test zur Bestimmung der gustatorischen Sensibilität.[73]

Dafür wurden wässrige Lösungen aus Rohrzucker (1%, 10%, 40% und gesättigte Lösung), Zitronensäure (1%, 5%, 10% und 15%), Kochsalz (2,5%, 7,5%, 15% und gesättigte Lösung) sowie Chininsulfat (0,02%, 0,05%, 0,1% und 1%) verwendet. Vor der Applikation jeder Testsubstanz auf der Zunge konnte der Proband/Patient bei Bedarf den Mund mit destilliertem Wasser ausspülen. Danach wurde mit einem Glasstab ein Tropfen der entsprechenden Schmecklösung bei herausgestreckter Zunge auf das entsprechende Zungenareal gegeben.

Entgegen den 1980 gegebenen Empfehlungen zur Auswertung wurde nicht der Schmeckverlust[73], sondern der Testwert für jede Seite und für jede Schmeckqualität ermittelt. Für jede Zungenseite konnte ein Maximalwert von 16 erreicht werden. Aus den Teilwerten der rechten und der linken Seite konnte dann der Gesamtscore errechnet werden (Maximalwert 32).

Die Ergebnisse der chemischen Schmecktestung wurden mit alters- und geschlechtsabhängigen Normwerten verglichen.[74] Somit konnte beurteilt werden, ob altersentsprechend geschmeckt wurde.

2.1.2 Elektrogustometrie

Die lokalen Empfindungsschwellen an der Zungenspitze und am Zungenrand beider Seiten wurden mit dem Elektrogustometer („Halle II“; Haberland, Halle, Germany) ermittelt. Dieses Gerät wurde auf eine dBg-Skala (gustatorische Dezibel) zwischen 6 und 40 dBg (6 entspricht 1,5 µA, 0 dBg und 40 dBg entsprechen 3 bzw. 300 µA) geeicht und erfasst. Als Applikator für den Gleichstrom diente eine bipolare Auflegelektrode mit einem Durchmesser von ca. 1 cm. Die Elektrode wurde an zwei Bereichen der vorderen Zunge platziert, Zungenspitze und Zungenrand.

Bei gesunden Probanden induziert die elektrische Stimulation der Zunge typischerweise einen metallischen Geschmack. Eine forced-choice und aszendierende Schwellenmethode wurde angewendet, bis der Proband den Stimulus wahrgenommen hatte. Die nachfolgenden um je 2 dBg höheren Reize mussten richtig erkannt werden. Die Ergebnisse der Testung wurden in ein Gustogramm eingetragen[73].

Altersabhängige Normwerte existieren für dieses Verfahren nicht. Als pathologisch wurde ein Seitenunterschied (Zungenspitze und Zungenrand) von 6 dBg gewertet.

2.2 Testpersonen

2.2.1 Proband der Machbarkeitsstudie

Folgende Einschlusskriterien waren für die Teilnahme an der Untersuchung zu erfüllen: Die Probanden mussten zwischen 20 und 50 Jahre alt sein. Es musste sich um gesunde Probanden handeln, die über ein normales altersentsprechendes Schmeckvermögen verfügten und keine Seitendifferenz in der Elektrogustometrie aufwiesen.

Ausschlusskriterien waren folgende: Der tägliche Genuss von scharfen Speisen und die Einnahme von Medikamenten und Drogen, die das Schmeckvermögen vermindern können. Außerdem zählten Krankheiten, die zu einer signifikanten Verminderung des Schmeckvermögens führen können, zu den Ausschlusskriterien. Dazu gehören orale Infektionen sowie Weisheitszahn- oder Mittelohroperation.

Im Rahmen dieser Studie wurden alle SK (n=10) von zwei fPap eines 23-jährigen Probanden über einen Zeitraum von 9 Tagen untersucht. Dieser Proband verfügte über ein altersentsprechendes Schmeckvermögen.

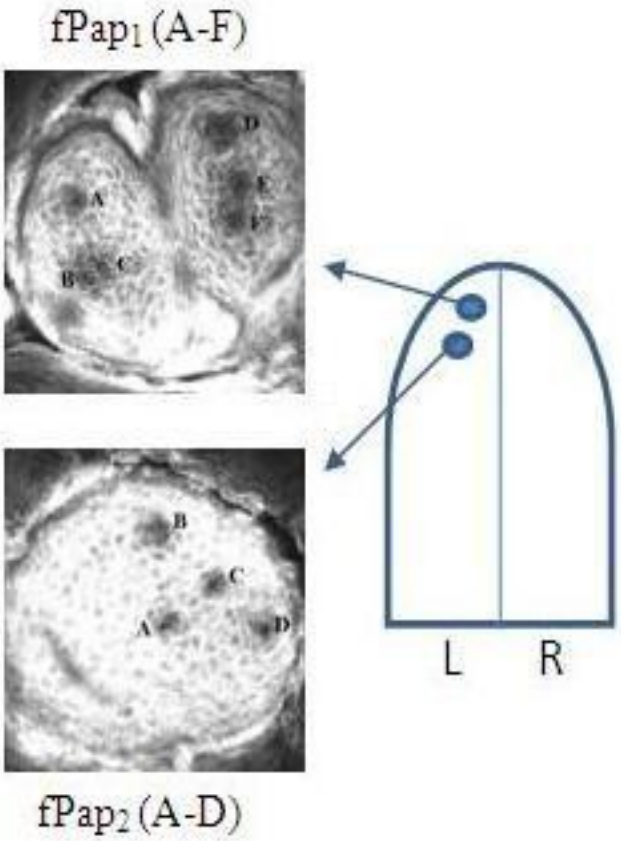


Abb. 2 **Skizze der Zunge mit eingezeichneten fPap (n =2), die über einen Zeitraum von 9 Tagen täglich untersucht wurden.**

2.2.2 Gesunde Probanden

Nach der Machbarkeitsstudie wurden 43 SK in 11 fPap von fünf gesunden Probanden untersucht, zwei Frauen und drei Männer im Alter von 23 bis 38 Jahren. Das Durchschnittsalter der Probanden betrug 26,4 ± 6 Jahre.

Die Probanden verfügten über ein altersentsprechendes Schmeckvermögen. Getestet wurde das Schmeckvermögen mit einem chemischen Schmecktest mit wässrigen Testlösungen[74]. Für die 10-wöchige Studie wurden zwei von diesen fünf Probanden ausgesucht. Es wurden 4 fPap mit 18 SK untersucht.

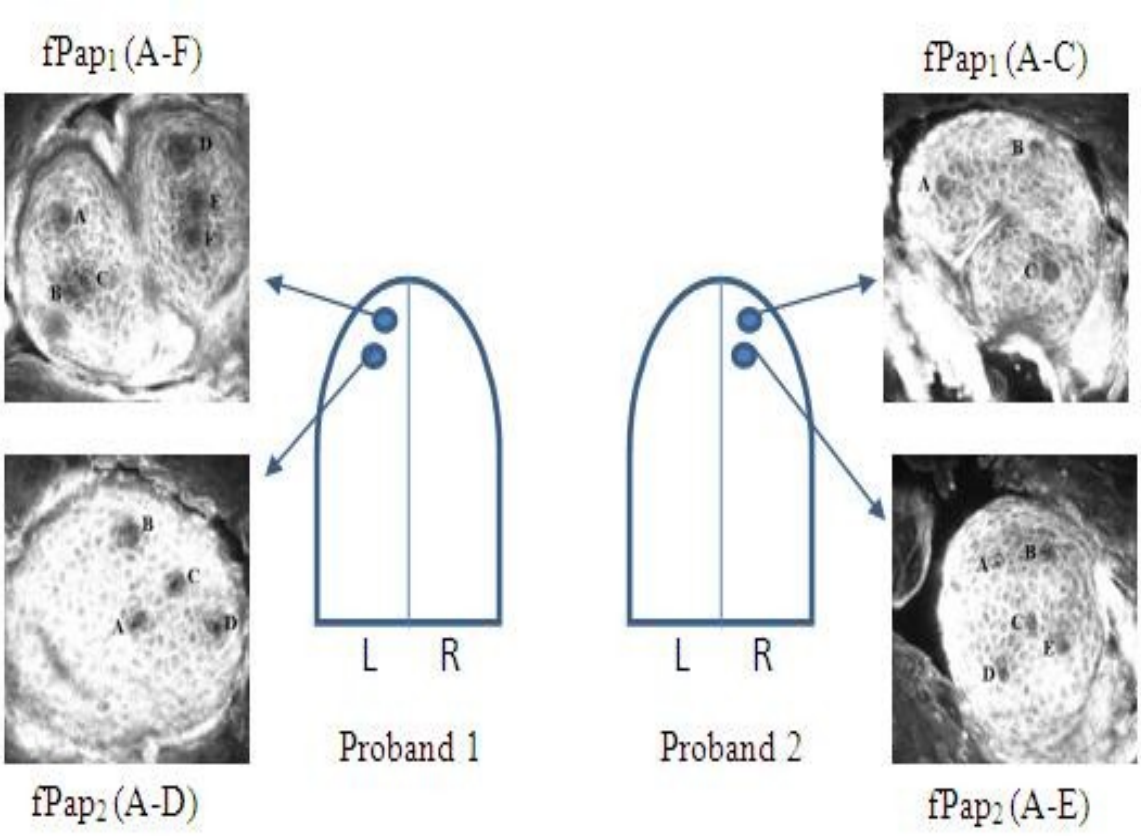


Abb. 3 **Abbildung der Zunge mit dargestellten fPap (n=4) beider Probanden, die über 10 Wochen untersucht wurden.**

2.2.3 Patienten

Ziel der Untersuchung war es, darzustellen, ob und wie sich das Volumen von Schmeckknospen infolge von Schmeckstörungen über eine bestimmte Zeit ändert.

Patient mit Schmeckstörung

Ein 62-jähriger Patient mit einem primären Burning Mouth Syndrom (BMS) wurde untersucht. Im Rahmen der Abklärung des besonders an der Zungenspitze und am Zungenrand bestehenden Zungenbrennens erfolgte die Testung der gustatorischen und olfaktorischen Sensibilität in der Univ.-HNO-Klinik Rostock. Der Patient beklagte seit dem Auftreten des Brennens der Zunge zudem über eine Schmeckminderung sowie über ein verändertes Schmeckwahrnehmen.

Die Testung des Riechvermögens erfolgte mit den Riechstiften. Der Patient erreichte einen SDI-Wert (Summenwert der Schwellen-, Diskriminations- und Identifikationstestung mit „Sniffin' Sticks") von 35,5 (Butanolschwelle 7,5; Diskrimination 15 und Identifikation 13). Dieser SDI-Wert entsprach der altersentsprechenden Norm.[75,76]

Die Untersuchungen wurden wöchentlich über einen Zeitraum von 8 Wochen durchgeführt. Pro Zungenseite wurden 2 fPap untersucht, die insgesamt 16 SK enthalten (jeweils eine fPap auf jeder Zungenseite mit 3 SK und eine fPap mit 5 SK).

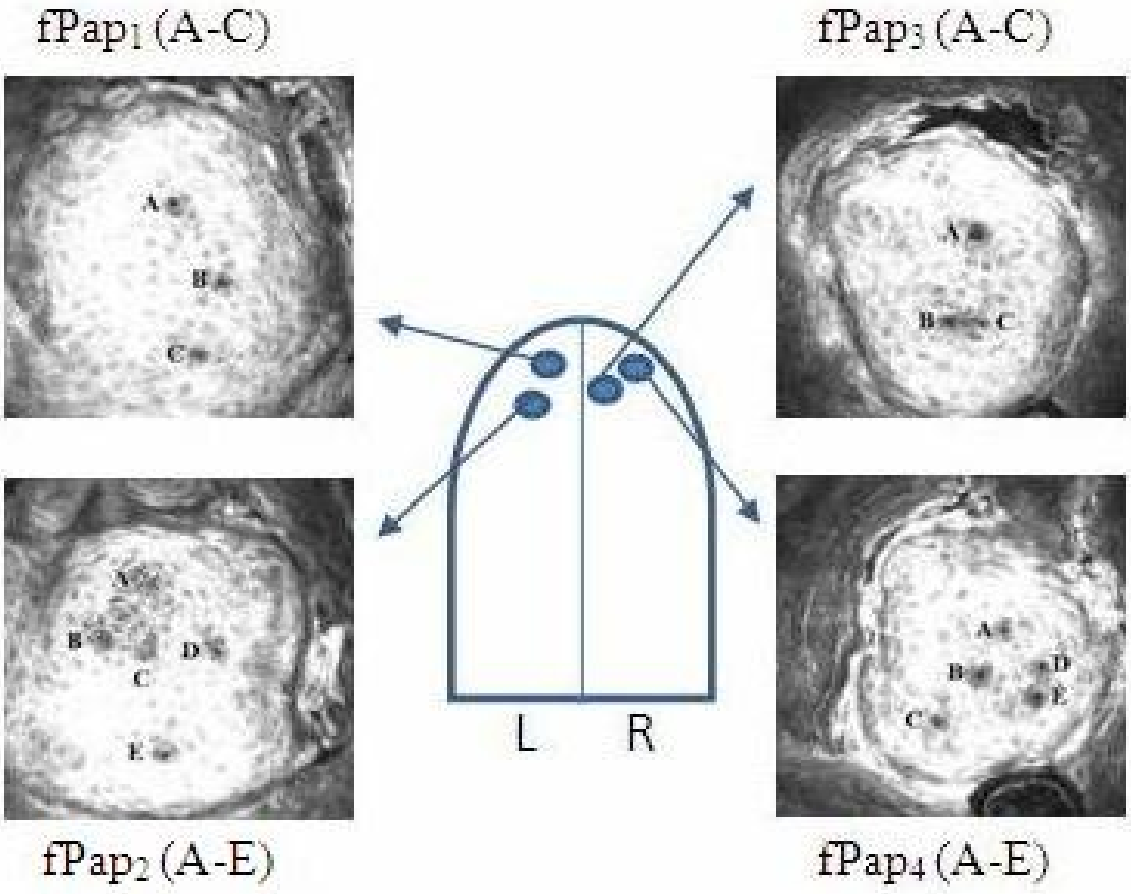


Abb. 4 **Skizze der Zunge mit den eingezeichneten und abgebildeten vier fPap mit 16 SK bei einem Patienten mit primären BMS und konsekutiver Schmeckstörung.**

2.3 Optisches Instrumentarium

Zur Volumenbestimmung der Schmeckknospen kam ein digital-konfokales Laser-Scanning-Mikroskop (LSM) zum Einsatz, das aus einer Kombination vom Heidelberg Retina Tomographen HRT II und dem Rostock Cornea Modul besteht. Dieses ermöglicht einen computergesteuerten, externen, hydraulischen z-Scan, automatische Patientendaten- und Bildaufzeichnungen sowie eine 3D-Rekonstruktion der Papillenstrukturen. Der Proband hatte zur Fixierung seine Zunge durch eine Plexiglasscheibe zu stecken. Während der Untersuchung wurde der druckfreie Kontakt mit der Zunge durch eine Kamera überwacht. Der Abstand zwischen der Zunge und dem Mikroskop wurde stabil gehalten durch die Verwendung eines desinfizierbaren Kontaktelements mit einer 0.5 mm dicken Polymethyl-Methacrylat-Oberfläche (Tomocap®, Heidelberg Engineering GmbH). Dies und das Einsetzen von Kontaktgel (Visidic®, Dr. Mann Pharma, Berlin, Germany) diente der Vermeidung starker Reflektionen. Durch Verwendung eines Wasserimmersionsobjektivs (Zeiss x 63/0.95 W, 670 nm, ∞/0, Jena, Germany) und Kontaktgel konnte eine Auflösung von 0.430 µm [77] und bis 800fache Gesamtvergrößerung erreicht werden. Die Tiefe der Auflösung im LSM wurde festgelegt als Funktion der numerischen Blende, der Größe der Detektorblende, und des verfügbaren Angebots an Licht. Die Größe des Bildfeldes betrug 400 µm x 400 µm.

Abb. 5 **Proband mit durch die Plexisglasscheibe herausgesteckter Zunge; (1) parabole Plexiglasscheibe; (2) Das Kontaktelement. (mit freundlicher Genehmigung von PD Dr. T. Just, Rostock)**

2.4 Untersuchungsablauf

Zu Beginn der Untersuchung wurde der Proband gebeten, sich vor das konfokale Lasermikroskop zu setzen und seine Zunge durch eine Plexiglasscheibe zu stecken. Die Plexiglasscheibe diente dazu, die Zungenbeweglichkeit zu reduzieren. Dies ermöglichte, die Zungenoberfläche mit den fPap und deren SK bewegungsarm auf dem Monitor darzustellen und zu scannen.

Anschließend wurden charakteristische fPap für die Untersuchung ausgewählt. Wichtig waren hierfür eine charakteristische Form und/oder eine charakteristische Anordnung der SK. FPap mit diesen Eigenschaften wurden dann als Referenzpapillen dezidiert.

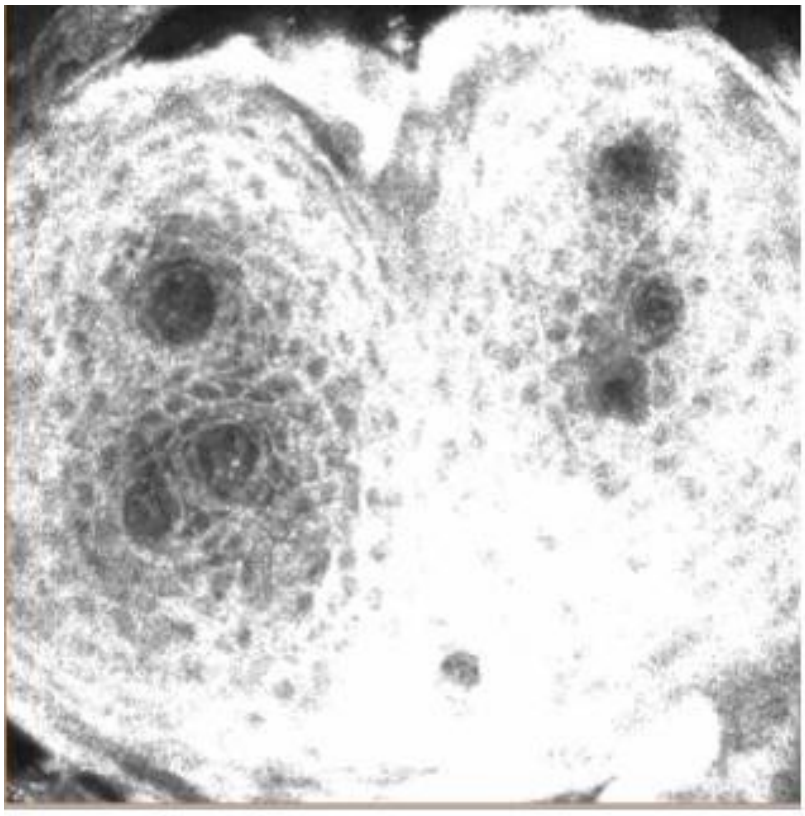


Abb. 6 Referenzpapille mit einer schmetterlingsförmigen Gestalt.

Um das erneute Suchen der Referenzpapillen zu erleichtern und eine Verwechslung auszuschließen, wurden auch die benachbarten fPap mithilfe eines Oberflächenscans digital aufgezeichnet.

Nach dieser Vorbereitung wurden die Referenzpapillen seriell untersucht. Dabei wurden Volumenscans der einzelnen Papillen durchgeführt, wobei die Startebene vor Beginn des

automatischen internen z-Scans manuell eingestellt werden konnte. Diese Scans können als Bilderserien oder Videosequenzen gespeichert werden. Diese bestehen aus 30 2D-Bilder mit einer Tiefenreichweite von 80 µm. Die Zeit für einen kompletten Volumenscan beträgt 6 Sekunden. Jeder einzelne Abschnitt wird in 0.024 Sekunden aufgenommen.
Mittels dieser Volumenscans wurde für die spätere Volumenberechnung der Durchmesser und die Höhe der SK ermittelt, außerdem wurden Durchmesser des Porus und der fPap erfasst.
Der Scanvorgang wurde an jedem Untersuchungstag bei jeder Referenzpapille insgesamt fünfmal wiederholt, wobei der Proband seine Zunge für jeden Scan neu ansetzen musste. Abweichungen bei den Aufnahmen, erzeugt durch sich verändernden Druck der Zunge gegen das Kontaktelement und den Aufnahmewinkel bei jedem Ansetzen, wurden so ausgeglichen. Die gesamte Untersuchung der fPap jedes Probanden erfolgte innerhalb von zwei Stunden.
Nach der neuntägigen Machbarkeitsstudie wurde der Untersuchungsablauf so auch für die Hauptstudie an der Gruppe der gesunden Probanden und an den beiden Kontrollgruppen übernommen.

2.5 Volumenbestimmung

Für die 3D-Rekonstruktion und Volumenbestimmung der SK wurde das Programm Amira® (Visage Imaging, San Diego, California, USA) verwendet.
Zuerst wurden die Volumenscans, die als Bilderserien (Videosequenzen) gespeichert wurden, im Programm Amira geladen. Es wurden die drei Ebenen der fPap (xy,xz,yz) eingestellt. Anschließend erfolgte die Volumenbestimmung durch zwei Methoden.
Bei der ersten Methode wurde der maximale Durchmesser der SK in der xy-Ebene gesucht und mittels eines Cursors markiert. Das Programm ermittelte dann den Durchmesser in µm-Angaben. In der gleichen Weise wurde die Höhe der SK in der xz- bzw. yz-Ebene bestimmt. Die Höhe der SK ist definiert als der Abstand zwischen dem Porus der SK an der Oberfläche und dem Gefäßscheitel in der Tiefe. (Siehe Abb. 7)
Aus diesen beiden Parametern wurde das Volumen einzelner SK berechnet[58]. Dafür wurde die Volumenformel eines Zylinders verwendet: Volumen einer SK = $\pi \times r^2 \times h/10^3$ (mm^3). Zusätzlich wurde der Durchmesser der fPap und des Porus ermittelt.

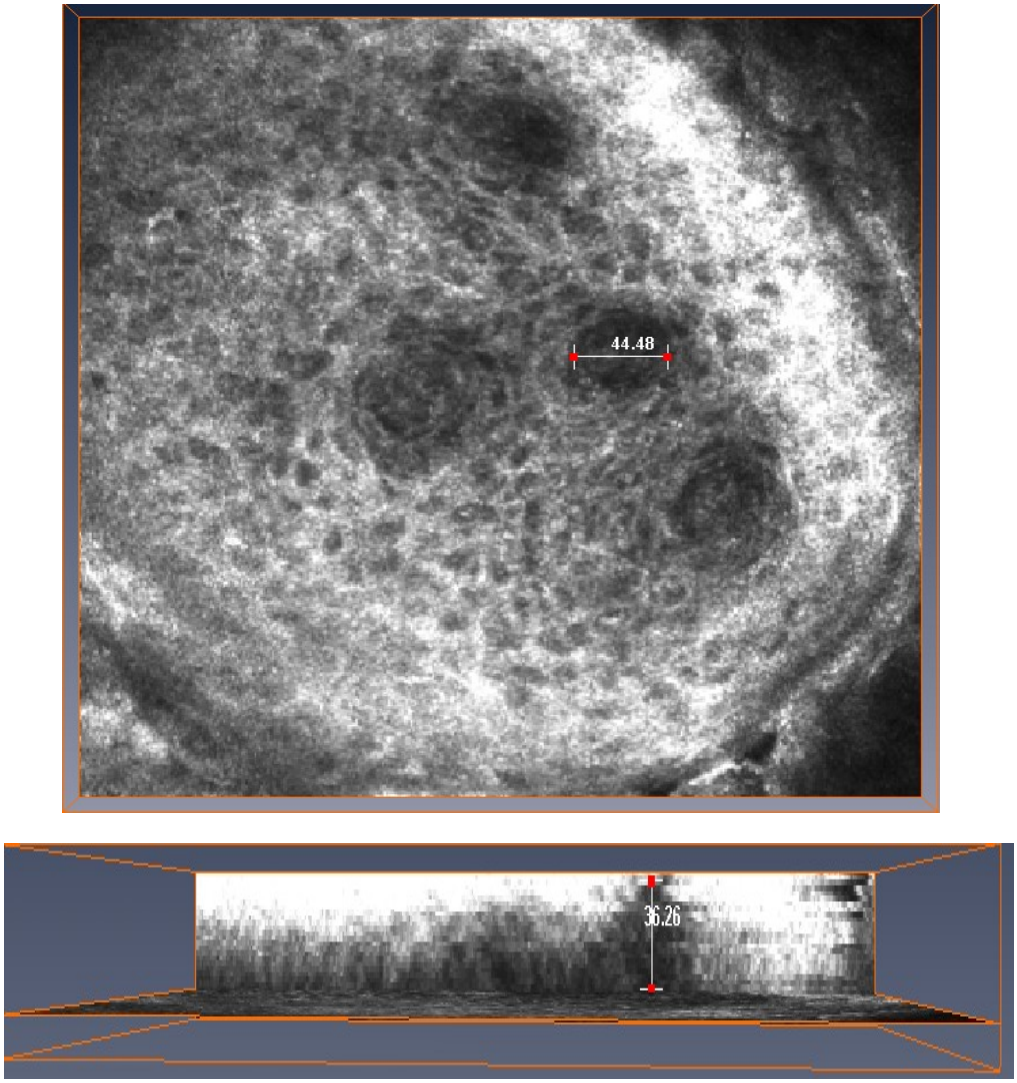


Abb. 7 **Fungiforme Papille mit T-förmiger Anordnung der SK. Auf dem oberen Bild ist der maximale Durchmesser einer SK dargestellt, wobei auf dem unterem Bild deren Höhe zu sehen ist.**

Diese Methode berücksichtigte die realen Ausmaße der SK nicht, da man von einer zylindrischen Form der SK ausging. Dadurch sind systematische Fehler entstanden. Demzufolge wurde eine zweite Methode für die genauere Volumenbestimmung verwendet. Hierbei wurde auf jeder Schicht der xy-Ebene, vom SK-Porus bis zum Gefäßscheitel, die Fläche der SK markiert. Dieser Vorgang wurde bei allen SK einer fPap mit unterschiedlichen Farben (Siehe unten, Abb.8) durchgeführt. Anschließend ermittelte das Programm durch automatisches Addieren aller Flächen einzelner SK in der xy-Ebene das Volumen der SK.

Alternativ konnte man bei der zweiten Methode nur die Fläche der SK auf der obersten und untersten Schicht in der xy-Ebene markieren. Die Software berechnete dann die Flächen

einzelner SK für die dazwischen liegenden Schichten automatisch. Manuelle Korrektur der markierten Flächen ist möglich.

Aufschluss über die Anwendbarkeit beider Auswertungsverfahren sollten vergleichende statistische Untersuchungen liefern.

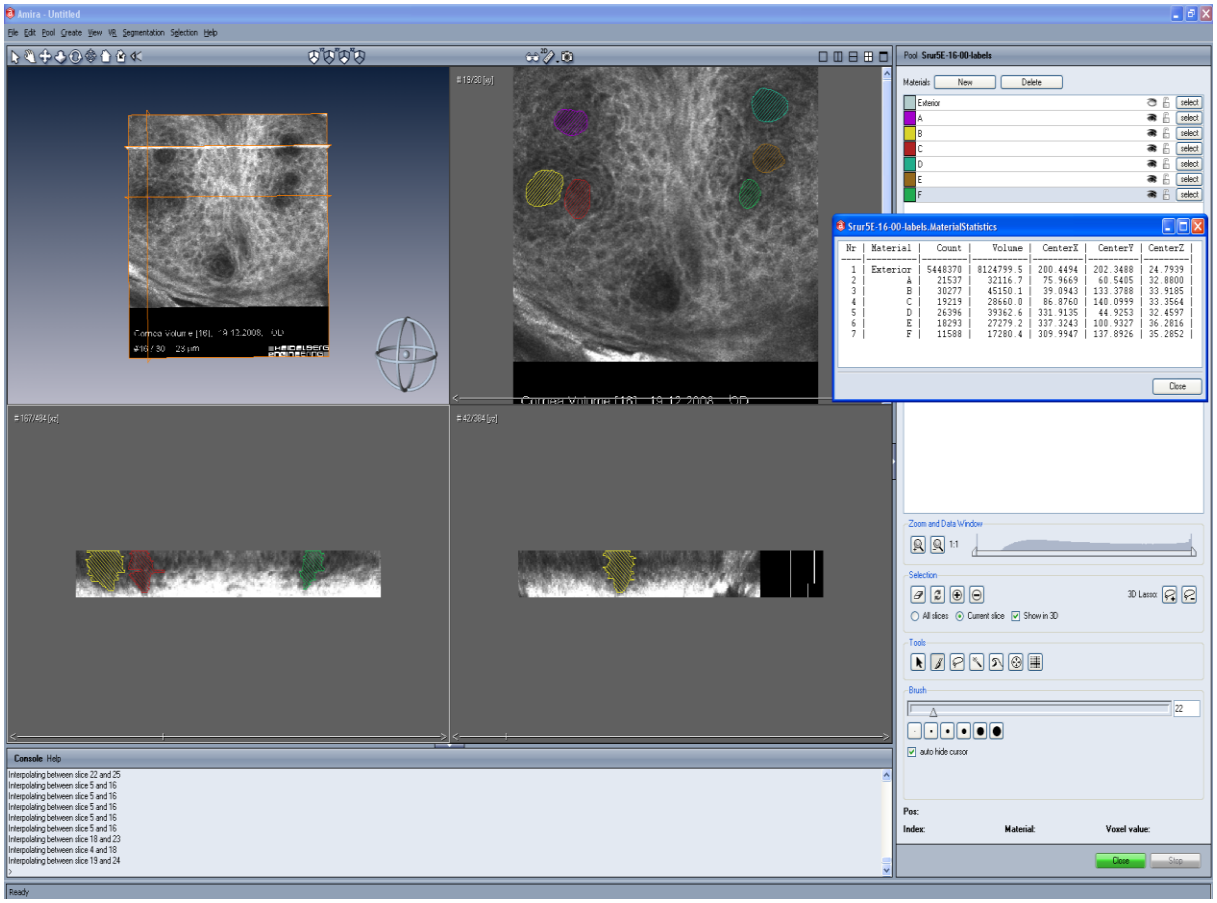


Abb. 8 **Ein Screenshot des Programms Amira mit einer in allen 3 Ebenen dargestellten Referenzpapille. Die 6 SK sind mit unterschiedlichen Farben markiert (oben rechts, A-F). Die Volumina der SK sind in der Tabelle dargestellt (oben rechts).**

2.6 Statistische Auswertung

Um die Ergebnisse der beiden Methoden der Volumenberechnung zu vergleichen, wurde eine Korrelationsanalyse mit Hilfe der Pearson-Statistik durchgeführt. Die Irrtumswahrscheinlichkeit (alpha-level) wurde dabei auf 0.05 gesetzt.

Das Programm SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) wurde für die statistische Auswertung und grafische Darstellung der Ergebnisse benutzt.

3 Ergebnisse

3.1 Proband der Machbarkeitsstudie

Zwei Referenzpapillen eines 23-jährigen Probanden wurden über 9 Tage untersucht (Abb. 9 und 11). Die Ergebnisse der ersten Referenzpapille (schmetterlingsförmige fPap, synonym Butterfly fPap bzw. B-fPap) mit 6 SK (Abb. 9) sind in Abbildung 10 dargestellt.

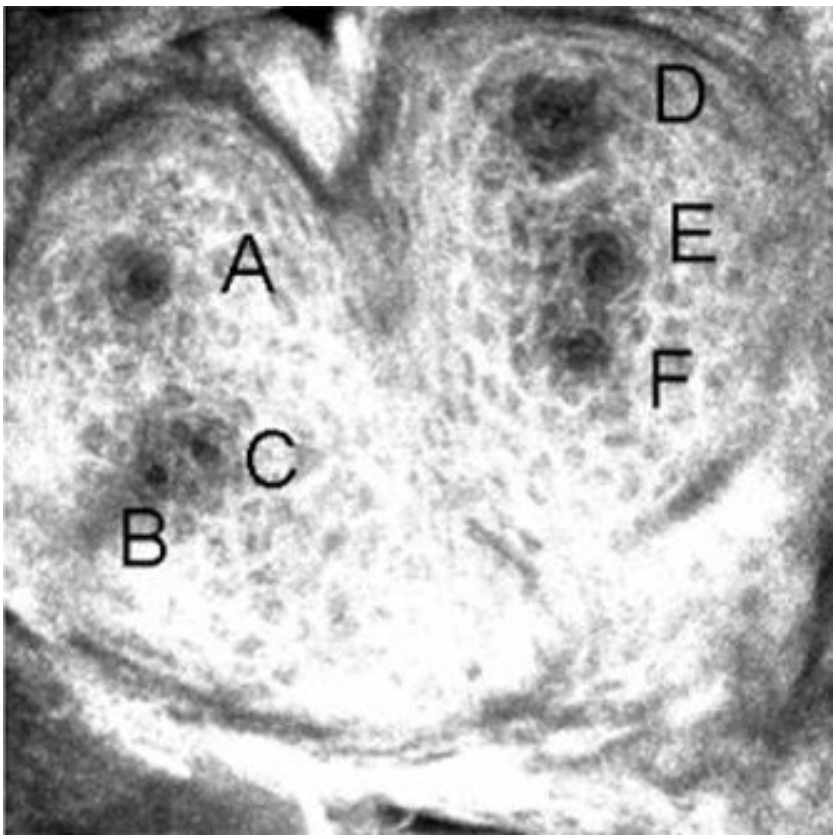


Abb. 9 **Eine konfokale Laser-Scaning-Mikrophotographie der B-fPap mit 6 sichtbaren SK-Poren (gekennzeichnet ‚A' bis ‚F') auf ihrer Oberfläche (400 x 400 µm)**

Der Durchmesser der gesamten B-fPap betrug 463 µm. Der mittlere Durchmesser der 6 SK-Poren an der Oberfläche der Papille (gekennzeichnet ‚A' bis ‚F') lag bei 14.4, 13.7, 14.2, 14.8, 14.3 bzw. 14.4 µm.

In Abbildung 10 sind die Volumina der SK A bis F (Mittelwerte der Messungen über 9 Tage) dargestellt. Die Abweichung des Volumens der SK innerhalb des 9-tägigen Zeitraums erwies sich als gering. Daraus konnte für die weiteren Messungen geschlussfolgert werden, dass es

ausreicht, einmal wöchentlich zu untersuchen, um eventuelle Volumenveränderungen zu erfassen.

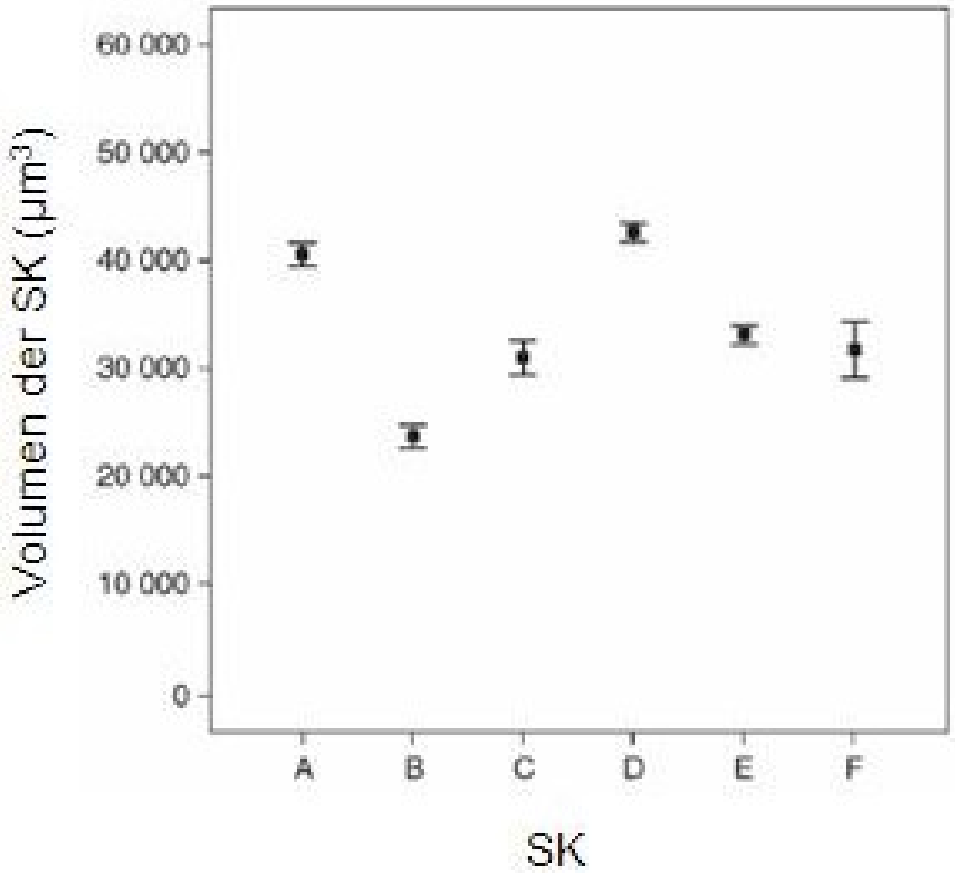


Abb. 10 **Das durchschnittliche Volumen (±1 SE) der 6 SK (‚A' bis ‚F') der B-fPap, berechnet nach den Messungen der 9-tägigen Pilotuntersuchung.**

Die zweite Referenzpapille mit 4 SK ist die T-fPap (Abb. 11). Der durchschnittliche Durchmesser dieser fPap und ihrer SK-Poren (gekennzeichnet ‚A' bis ‚D') betrug 434, 14.4, 16.4, 14.2 und 13.7 µm.

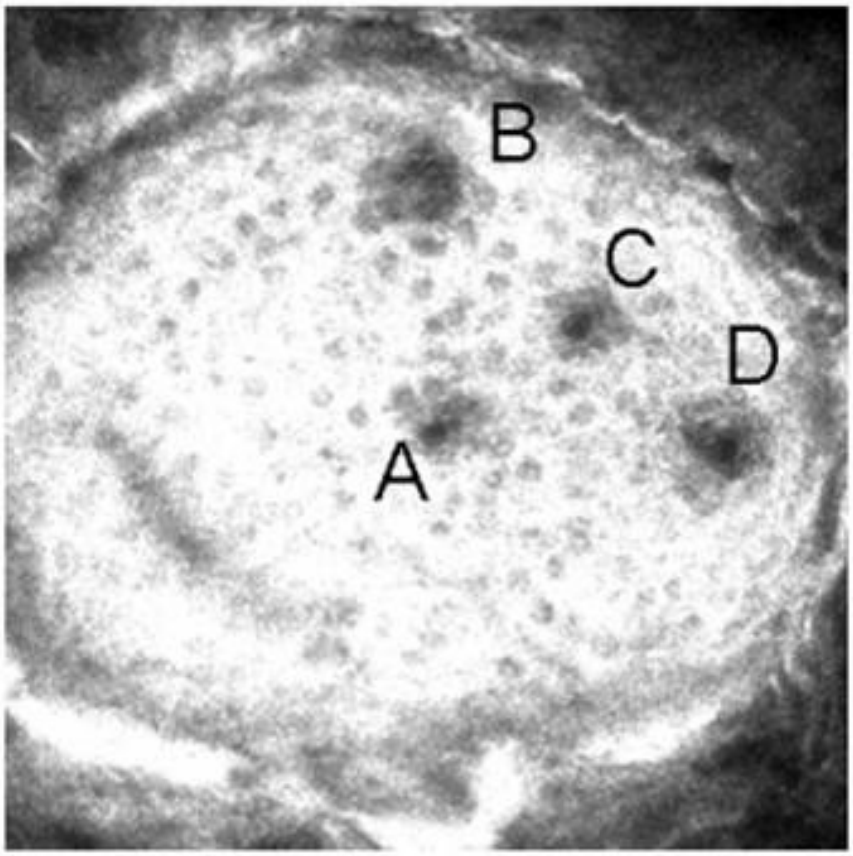


Abb. 11 **Eine konfokale Laser-Scanning-Mikrophotographie einer T-fPap mit 4 sichtbaren SK-Poren (gekennzeichnet ‚A' bis ‚D') auf ihrer Oberfläche (400 x 400 µm)**

Weiterhin ist die Standardabweichung bei allen 4 SK dieser fPap im Vergleich mit der Standardabweichung der SK von B-fPap geringfügig erhöht (Abb. 12).

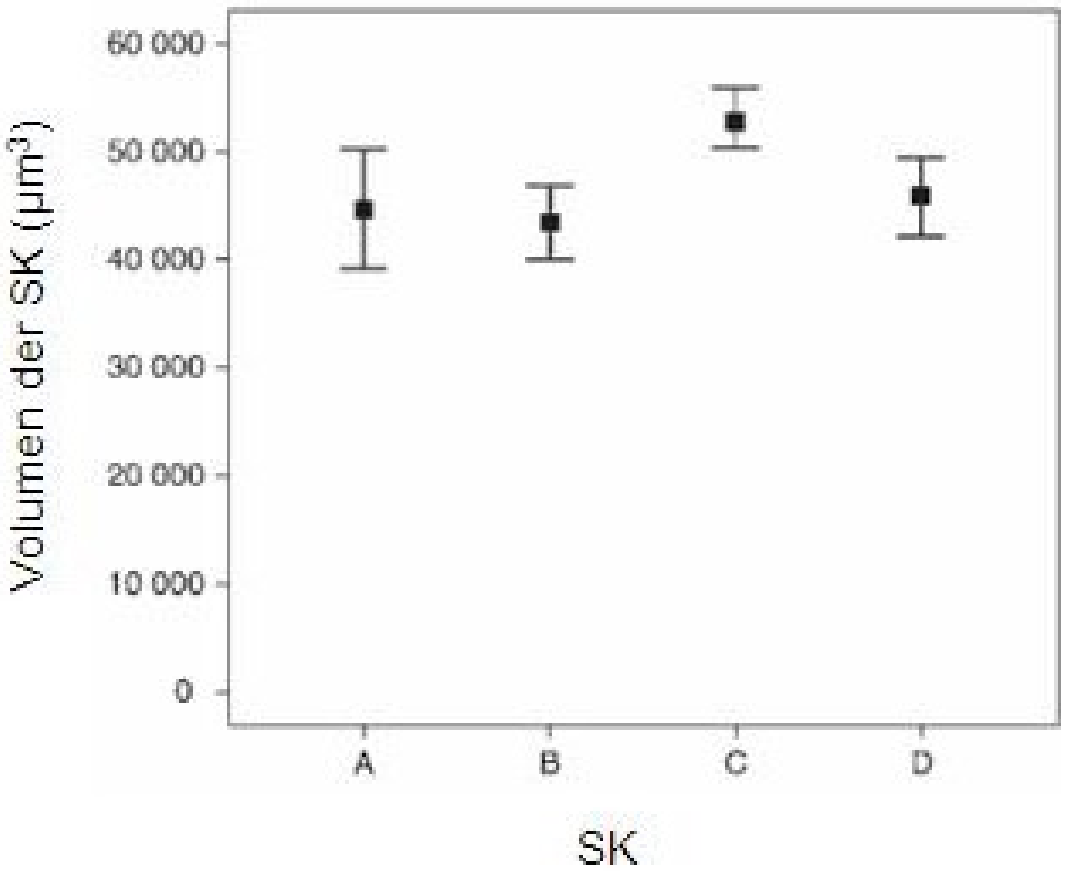


Abb. 12 **Das durchschnittliche Volumen (±1 SE) der 4 SK (‚A' bis ‚D') der T-fPap, berechnet nach den Messungen der 9-tägigen Pilotuntersuchungen.**

3.2 Gesunde Probanden

Die Abbildungen 13 und 14 zeigen konfokale Laser-Scanning-Mikrophotographien der fPap des zweiten Probanden, welche zusätzlich zu den oben genannten fPap des ersten Probanden (vgl. Abb. 9 und 11) über 10 Wochen untersucht worden sind (Abb. 13: fPap mit einer x-förmigen Anordnung der 5 SK (X-fPap), Abb. 14: Embryoförmigen fPap (E-fPap) mit 3 SK).

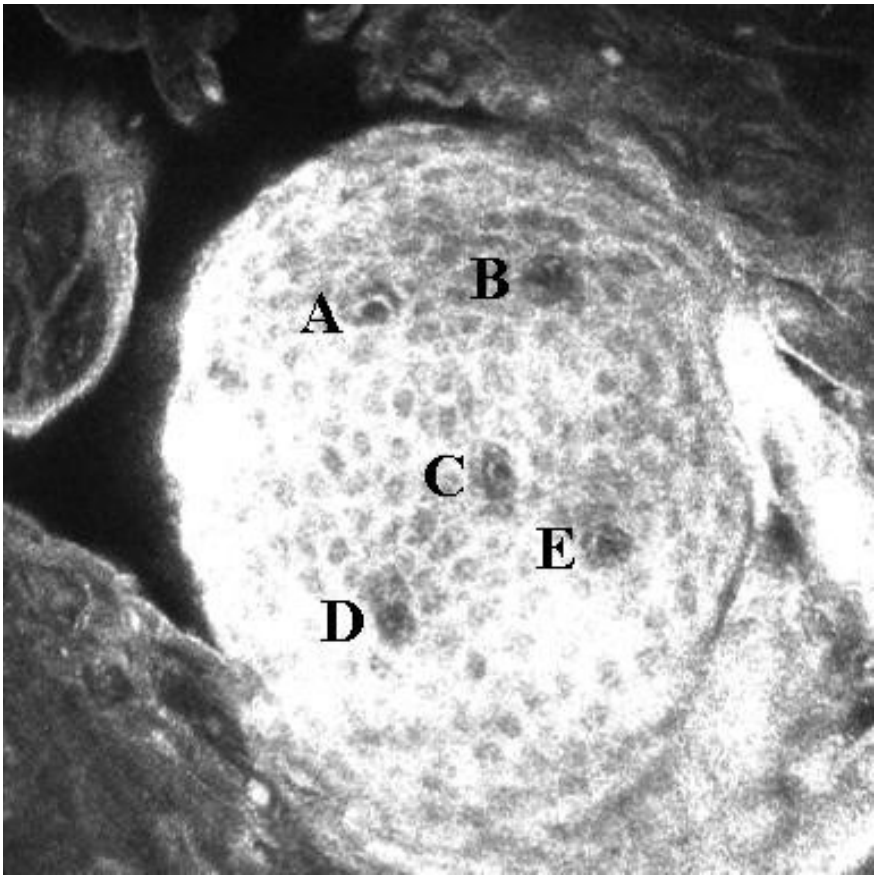


Abb. 13 **Eine konfokale Laser-Scaning-Mikrophotographie der X-fPap mit 5 sichtbaren SK-Poren (gekennzeichnet ‚A' bis ‚E') auf ihrer Oberfläche (400 x 400 µm)**

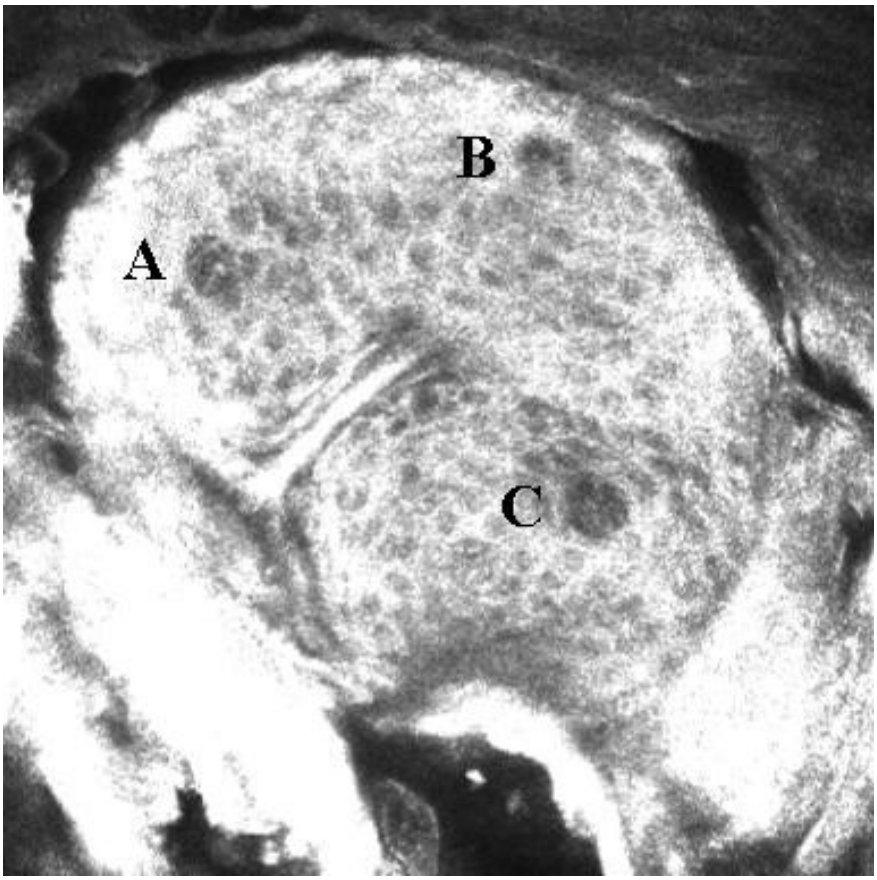


Abb. 14 **Eine konfokale Laser-Scaning-Mikrophotographie der E-fPap mit 3 sichtbaren SK-Poren (gekennzeichnet ‚A' bis ‚C') auf ihrer Oberfläche (400 x 400 µm)**

Die Ergebnisse der 10-wöchigen Untersuchung, welche an den vier fPap der beiden gesunden Probanden durchgeführt wurde, zeigten, dass die untersuchten vier fPap einen Durchmesser von 230-480 µm hatten (Tabelle 1). Bei den SK wurde einen Durchmesser von 21.8-64.7 µm und eine Höhe von 33.1-50.5 µm gemessen. Die Durchmesser der SK-Poren zeigten hohe Schwankungen bezogen auf die verschiedenen Messungen, sowohl bei ein und derselben SK als auch bei unterschiedlichen SK.

Tabelle 1 **Mittlerer Durchmesser der 4 fPap über einen Zeitraum von 10 Wochen**

	Woche									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
B fPap	459,86	371,07	456,75	417,70	430,88	409,28	453,95	392,48	447,66	439,79
T fPap	427,63	422,03	398,05	359,90	422,41	391,29	462,28	387,24	479,95	474,87
X fPap	287,71	374,33	253,74	293,36	322,41	323,28	428,08	311,72	424,62	341,36
E fPap	239,74	256,30	253,74	248,00	264,43	250,71	270,57	235,62	328,41	270,48

Die zeitliche Entwicklung des SK-Volumens über 10 Wochen bei den vier fPap ist in den Abbildungen 15, 16, 17 und 18 dargestellt.

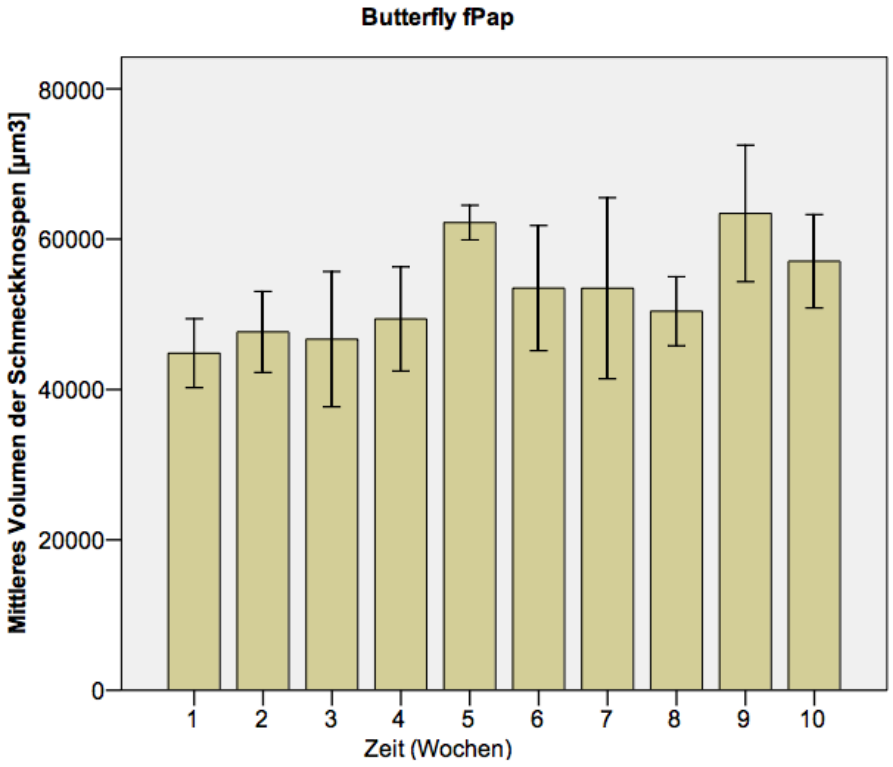


Abb. 15 **Das durchschnittliche Volumen (±1 SE) der 6 SK (‚A' bis ‚F') der B-fPap, berechnet nach den Messungen, die einmal pro Woche über 10 Wochen gemacht wurden.**

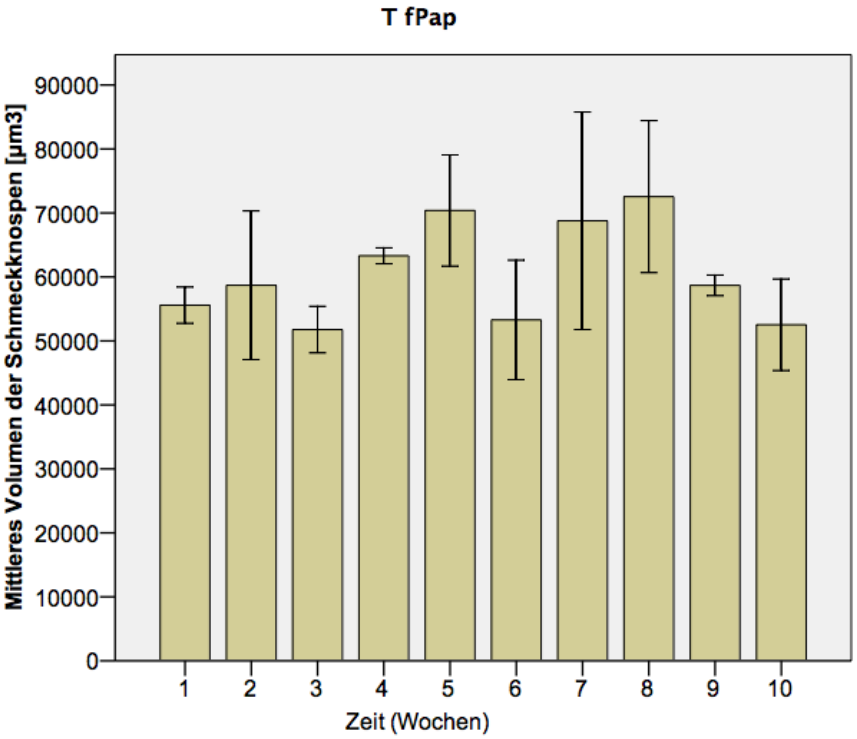


Abb. 16 **Das durchschnittliche Volumen (±1 SE) der 4 SK (‚A' bis ‚D') der T-fPap, berechnet nach den Messungen, die einmal pro Woche über 10 Wochen gemacht wurden.**

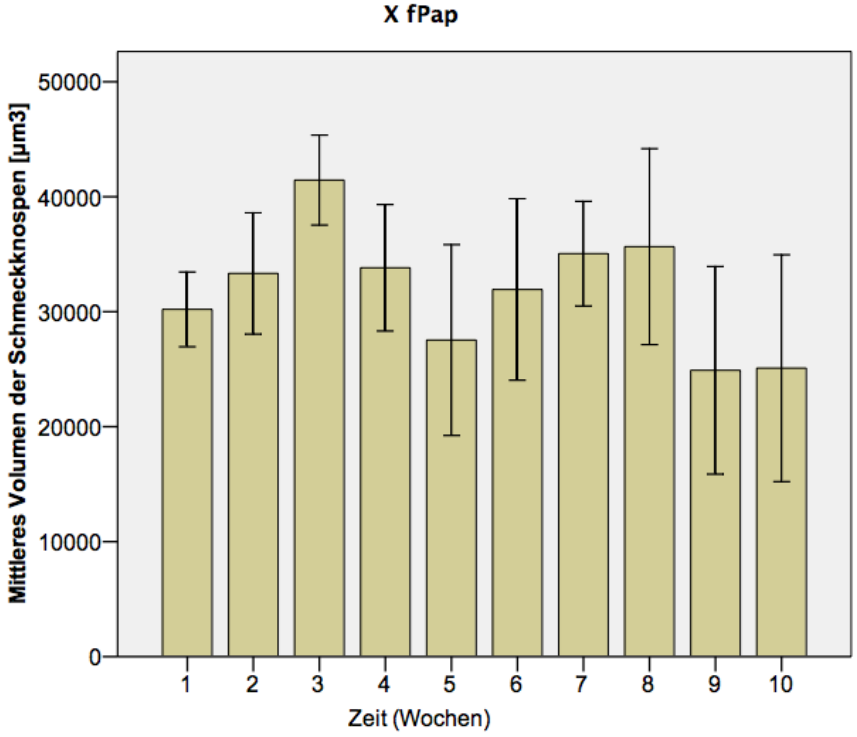


Abb. 17 **Das durchschnittliche Volumen (±1SE) der 5 SK (‚A' bis ‚E') der X-fPap, berechnet nach den Messungen, die einmal pro Woche über 10 Wochen gemacht wurden.**

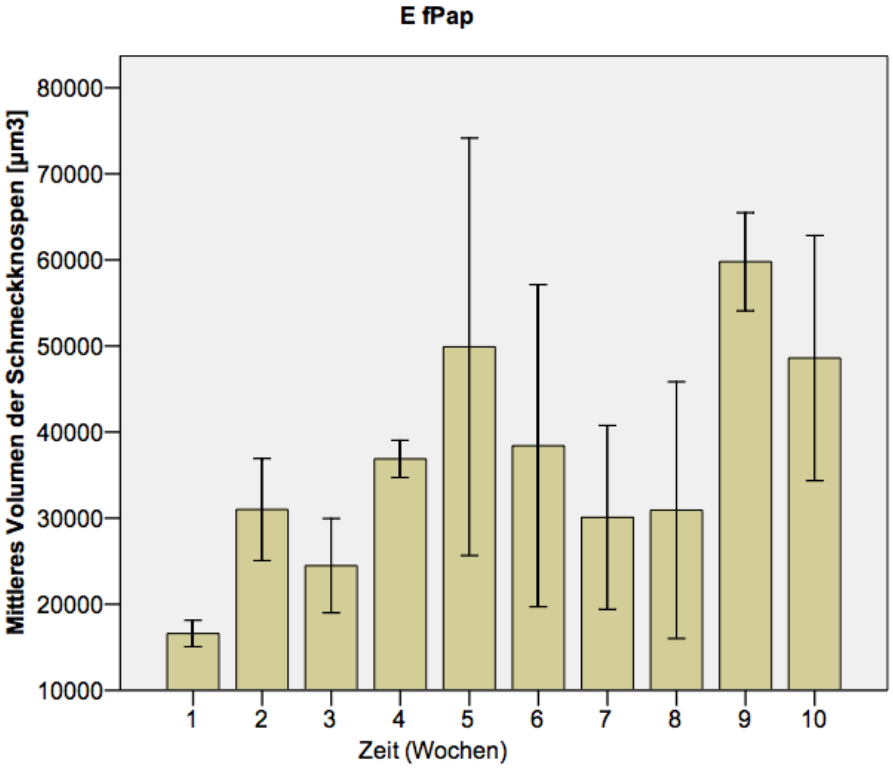


Abb. 18 **Das durchschnittliche Volumen (±1 SE) der 3 SK (‚A' bis ‚C') der E-fPap, berechnet nach den Messungen, die einmal pro Woche über 10 Wochen gemacht wurden.**

Die Abbildungen 15, 16, 17 und 18 zeigen, dass sich die Volumina aller SK in jeder fPap über 10 Wochen unterschiedlich änderten. Das Intervall zwischen zwei Volumenmaxima variiert bei den untersuchten fPap und beträgt im Durchschnitt zwischen 3 und 5 Wochen. Der hauptsächliche Grund der Volumenveränderung der SK in jeder fPap ist eher die Veränderung des Durchmessers der SK als die der Höhe der SK.

Außerdem war die große Abweichung vom mittleren Volumen der SK der E-fPap in der fünften und sechsten Woche (Abb. 18) und der T-fPap in der siebten und achten Woche (Abb. 16) sehr auffällig, die durch eine Vergrößerung einer einzelnen SK und anschließendes Verschwinden derselben SK verursacht wurde. Dieses Phänomen wurde zweimal innerhalb der 10 Wochen in allen 4 fPap beobachtet.

Abbildung 19 lässt dieses Phänomen erkennen und als weiteres Phänomen das Auftreten neuer SK bei der T-fPap.

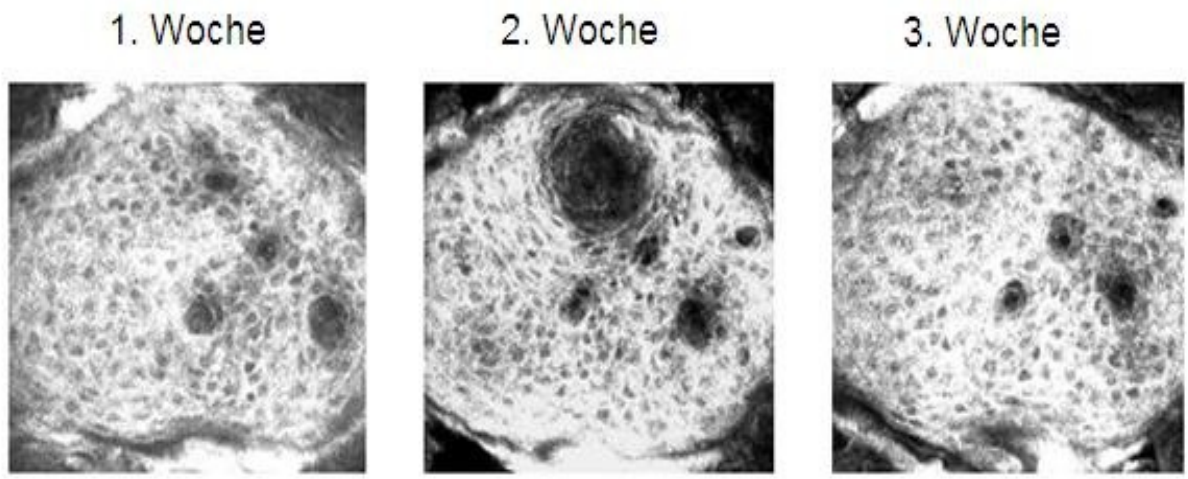


Abb. 19 **Skizze der phänomenologischen Veränderungen der T-fPap. Auf der linken Abbildung ist der Ausgangszustand der T-fPap dargestellt; auf der mittleren Abbildung ist die Vergrößerung der SK und das Auftreten einer neuen SK zu sehen; die rechte Abbildung zeigt das Verschwinden derselben SK.**

Abbildung 20 stellt noch einmal das Auftreten neuer SK und die Formveränderung der E-fPap als drittes Phänomen dar.

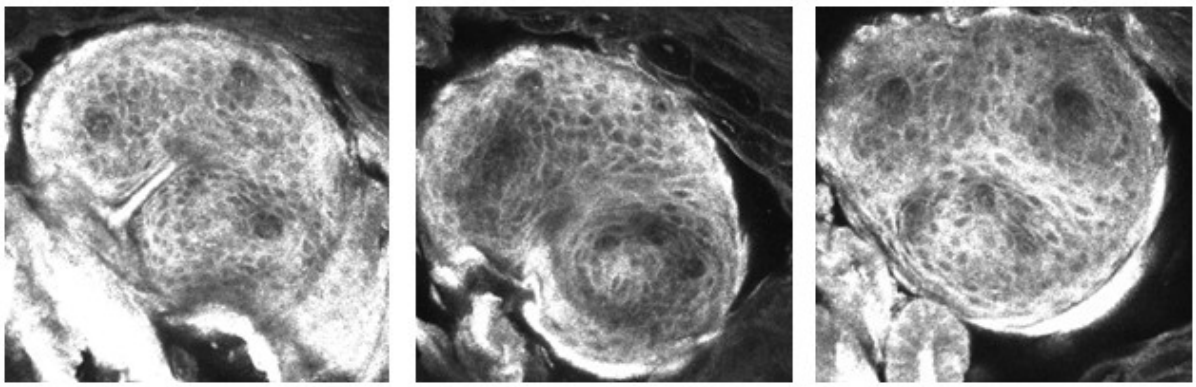


Abb. 20 **Drei konfokale Laser-Scaning-Mikrophotographien der E-fPap. Links: Ausgangsform; mitte und rechts: zwei Variationen der Formveränderung der E-fPap**

Eine Korrelationsanalyse zwischen Durchmesser der fPap und Volumen der SK wurde im Anschluss durchgeführt, um die Frage zu beantworten, ob es nicht ausreicht, nur die Durchmesser der fPap anstelle der Volumina der SK zu messen.

Abbildung 21 zeigt die Ergebnisse der Korrelationsanalyse bei E-fPap. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen Durschmesser der fPap und Volumen der SK bis auf eine SK (SK $C_{E\text{-}fPap}$ r_{10}= 0,851; *P* = 0,002)

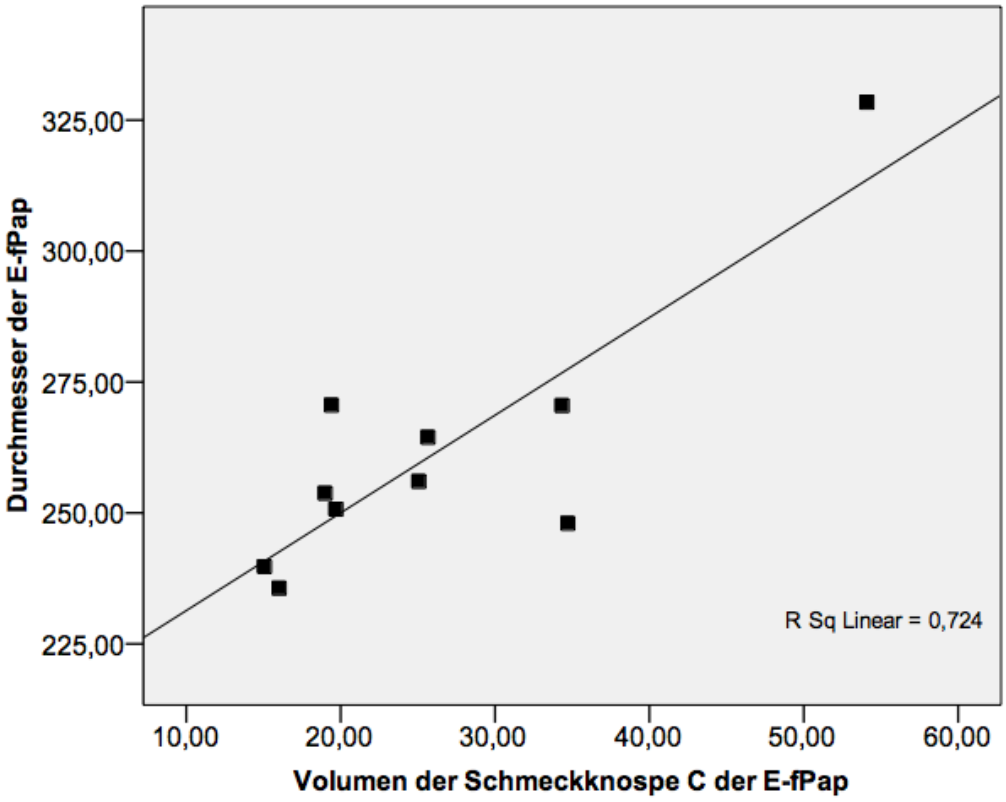


Abb. 21 **Ergebnisse der Korrelationsanalysen zwischen Volumen der SK C der E-fPap und Durchmesser der E-fPap. Hier korroliert das Volumen der SK C mit dem Volumen der E-fPap**

3.3 Patient mit Schmeckstörung

Im Folgenden wird das mittlere Volumen aller Schmeckknospen der 4 fPap des 62jährigen Patienten mit einem primären Burning Mouth Syndrom über einen Zeitraum von 8 Wochen separat dargestellt.

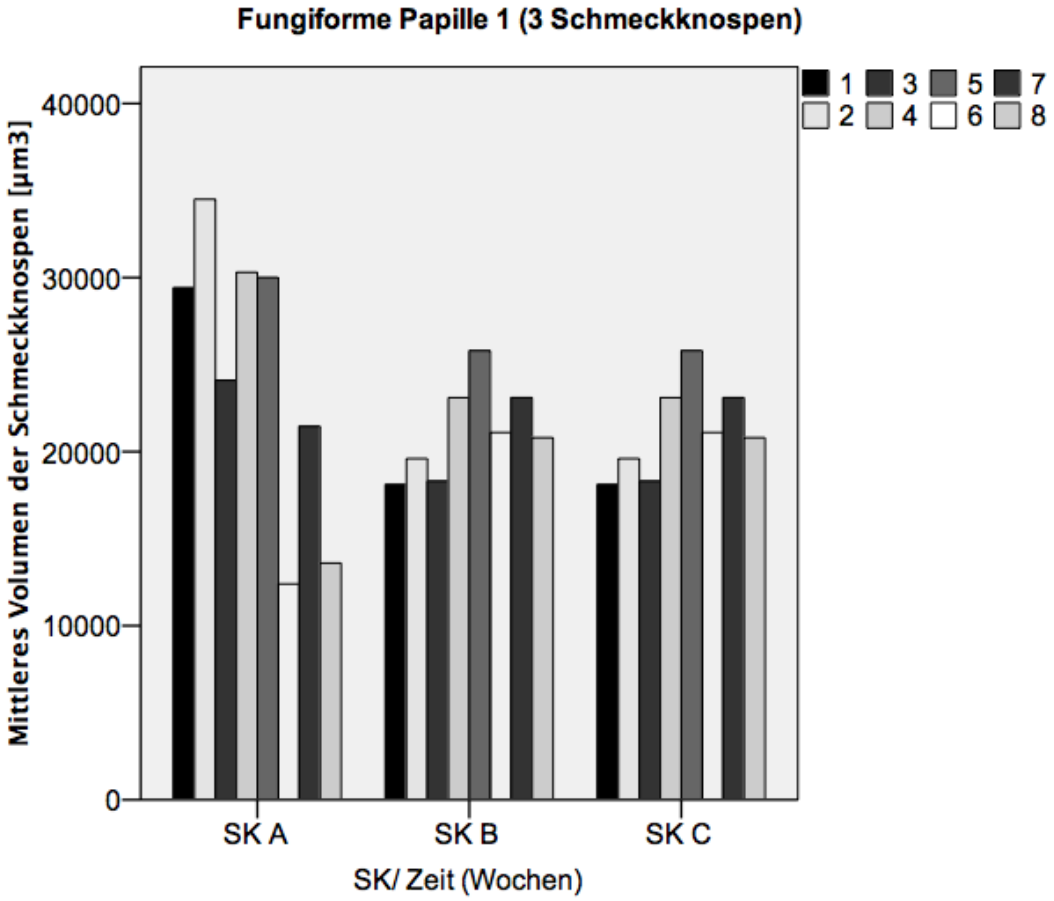


Abb. 22 **Volumen (± 1 SE) der 3 Schmeckknospen (A-C) der fPap 1 separat (linke Zungenseite).**

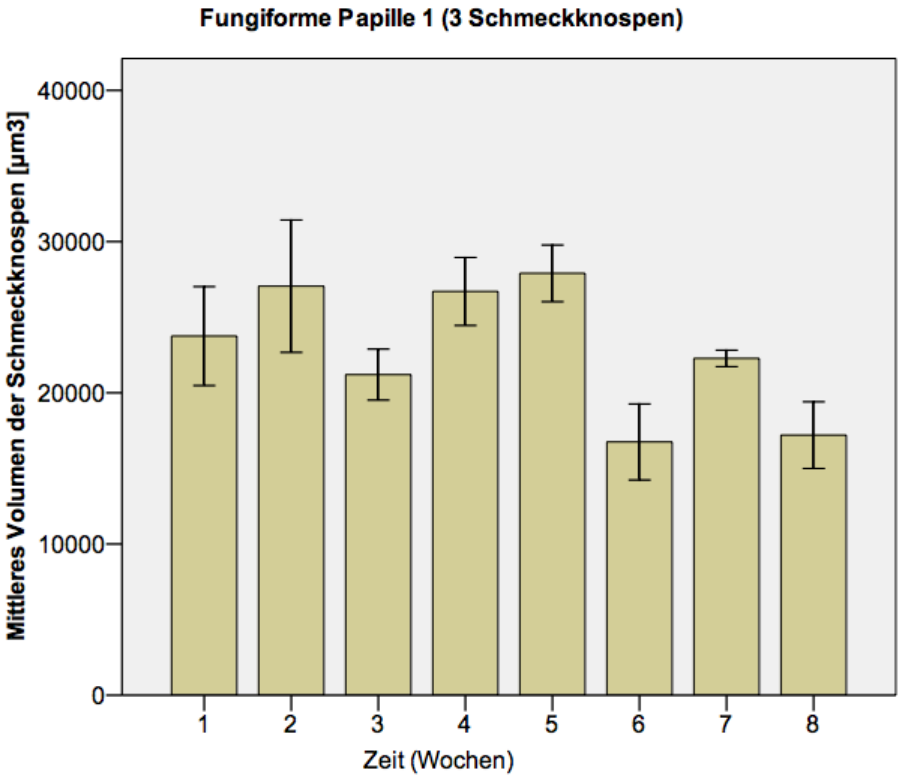


Abb. 23 **Mittleres Volumen (± 1 SE) der 3 Schmeckknospen (A-C) der fPap 1 (linke Zungenseite).**

Die Abbildungen 22 und 23 der fPap 1 für jede SK separat zeigen, dass sich das Volumen jeder SK der fPap 1 im Zeitraum von 8 Wochen ändert und dass Volumenmaxima in der 2. und 5. Woche erkennbar sind. Durch Mittelung der Volumina aller SK der fPap 1 bleibt dieser Effekt bestehen.

Die Abbildungen 24 und 25 lassen die Volumenänderung der SK der fPap 2 des Patienten erkennen.

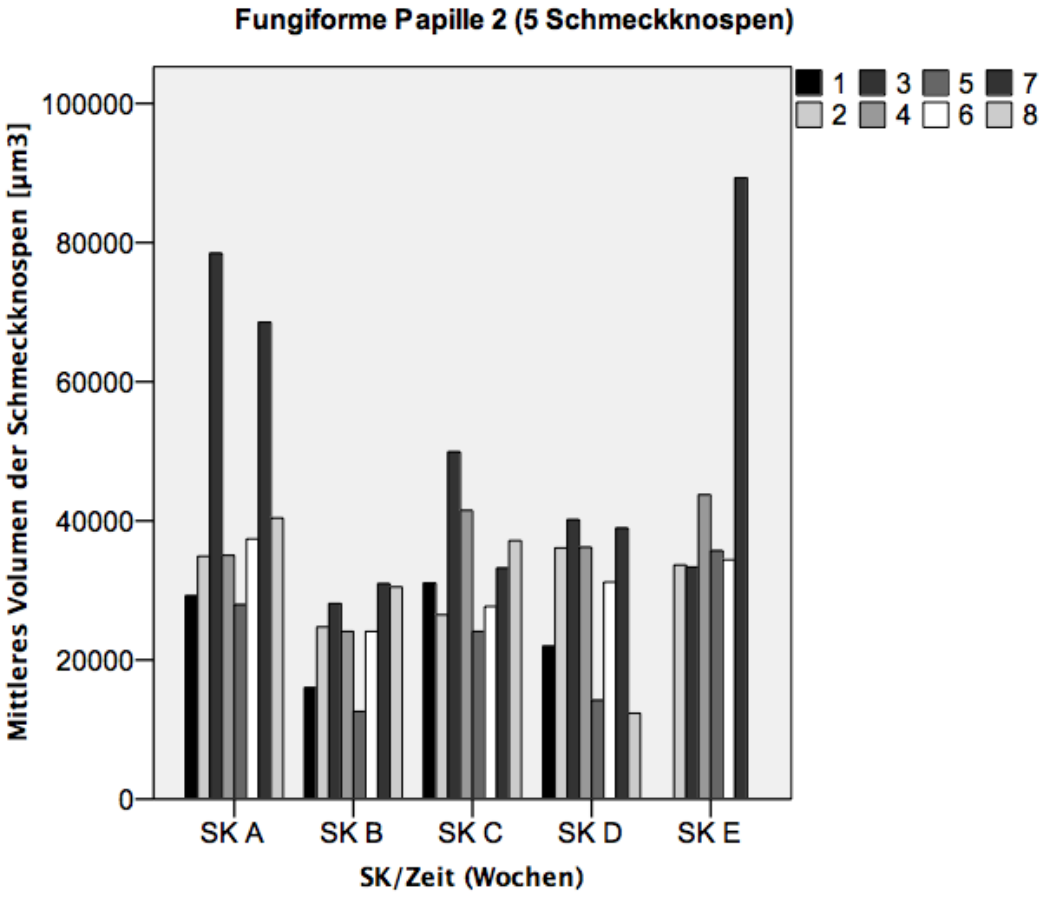


Abb. 24 **Volumen (± 1 SE) der 5 Schmeckknospen (A-E) der fPap 2 separat (linke Zungenseite).**

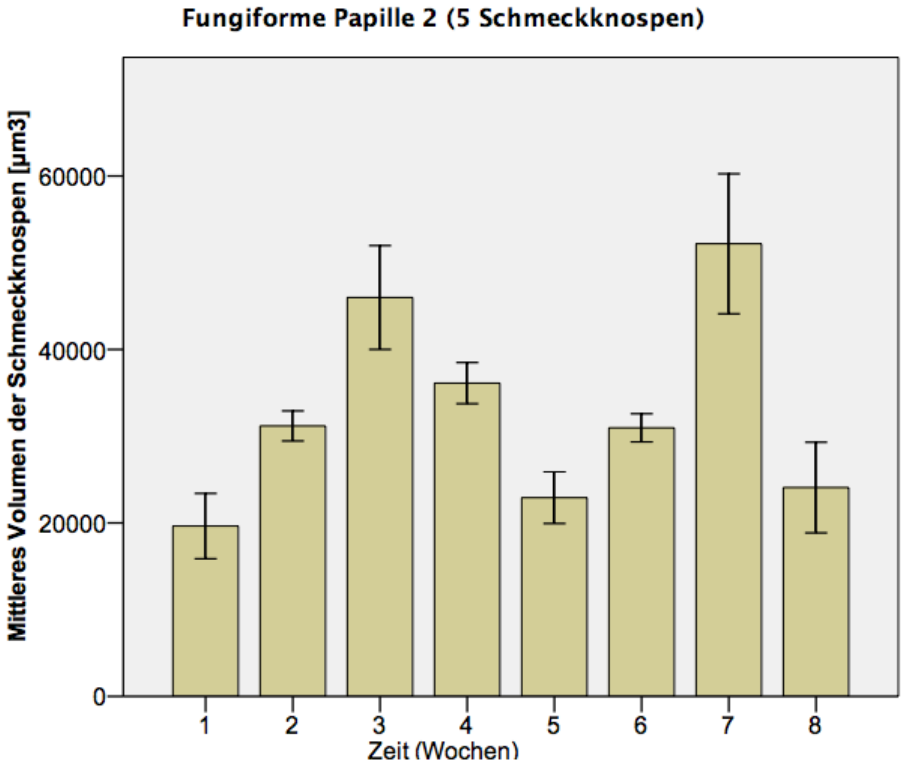


Abb. 25 **Mittleres Volumen (± 1 SE) der 5 Schmeckknospen (A-E) der fPap 2 (linke Zungenseite).**

Die Abbildungen 26 und 27 stellen die Volumenänderung der 3 SK (A-C) der 3. fPap (rechte Zungenseite) dar. Hier erwies sich, dass sich in der 6. und 8. Woche in der gesamten fPap keine Schmeckknospen darstellen.

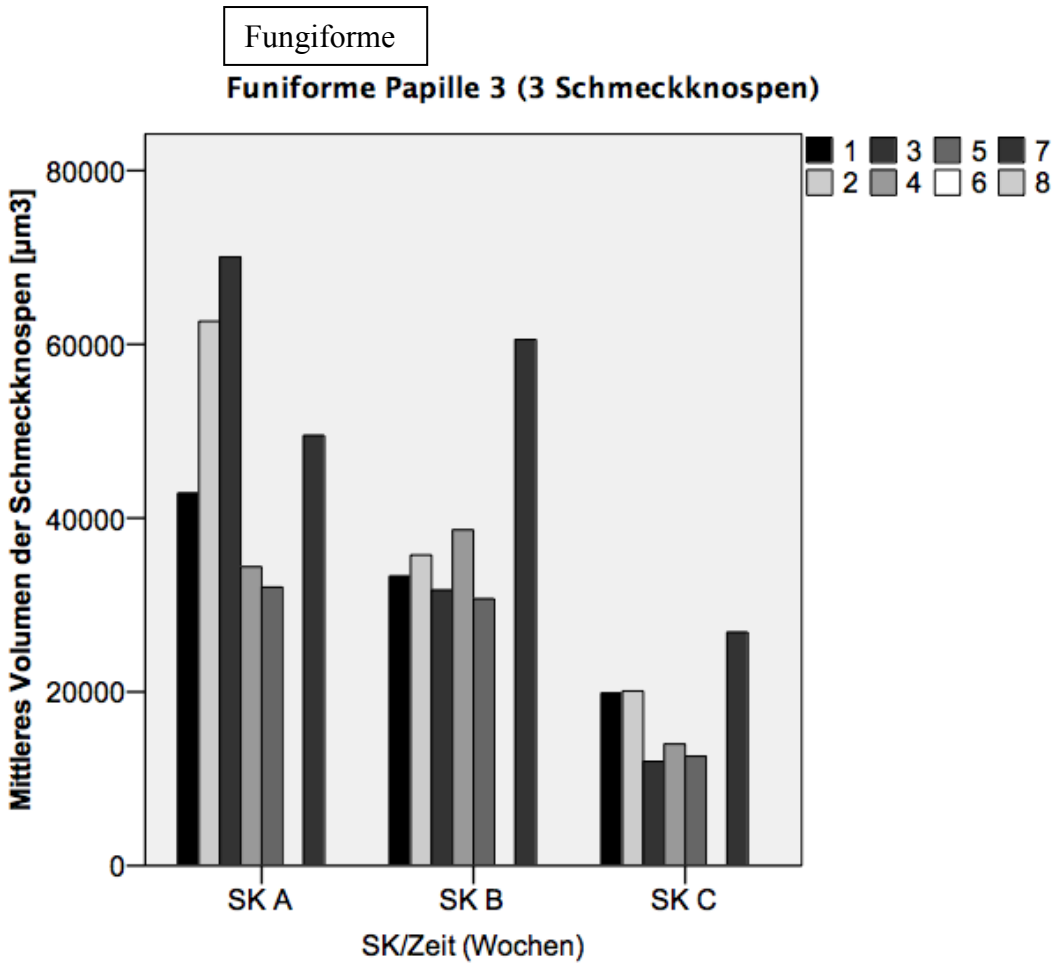


Abb. 26 **Volumen (± 1 SE) der 3 Schmeckknospen (A-C) der fPap 3 separat (rechte Zungenseite).**

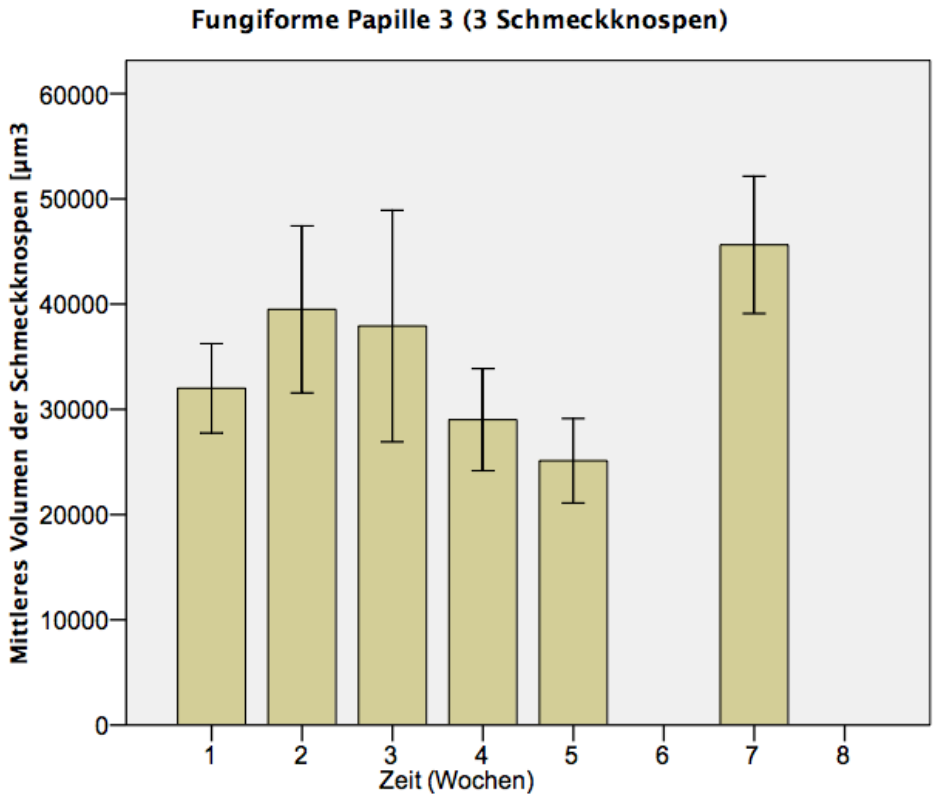


Abb. 27 **Mittleres Volumen (± 1 SE) der 3 Schmeckknospen (A-C) der fPap 3 (rechte Zungenseite).**

Der zeitliche Verlauf der Volumenänderung der SK der fPap 4 ergab ganz ähnliche Ergebnisse (Abb. 28 und 29). Auch hier ließen sich wie bei fPap 3 in der 6. und 8. Woche keine SK darstellen.

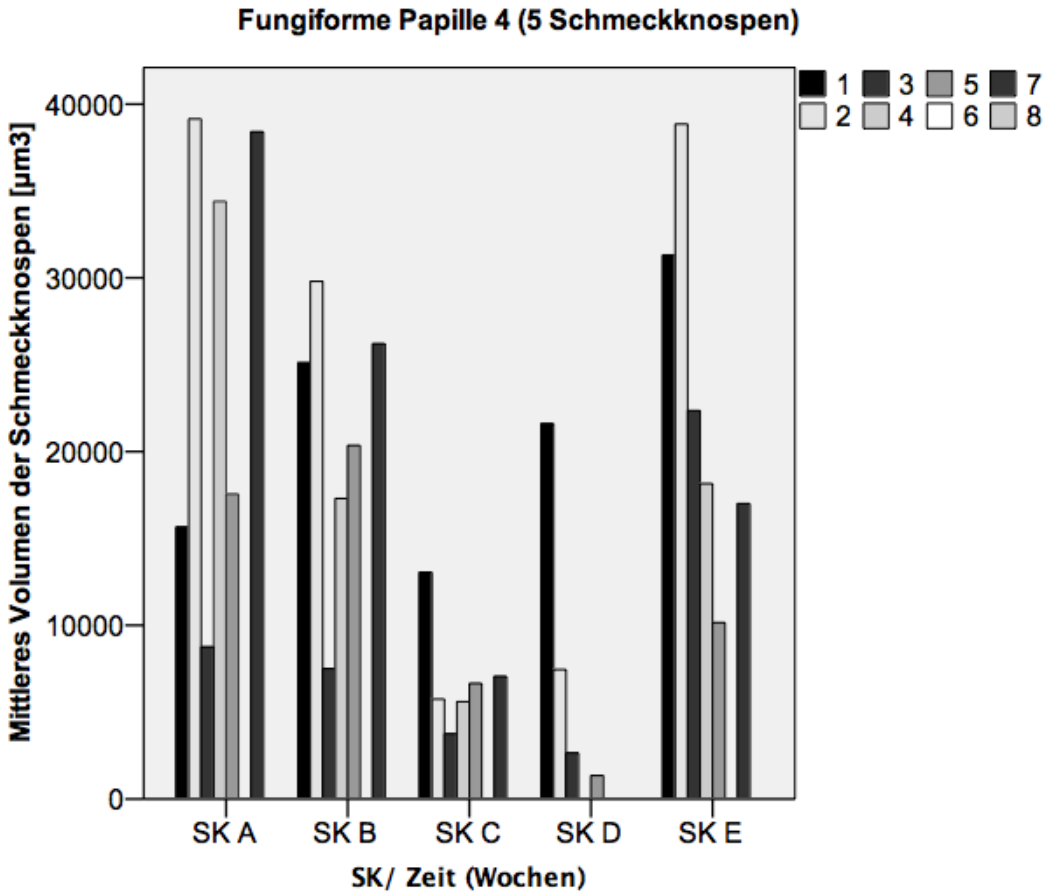


Abb. 28 **Volumen (± 1 SE) der 5 Schmeckknospen (A-E) der fPap 4 separat (rechte Zungenseite).**

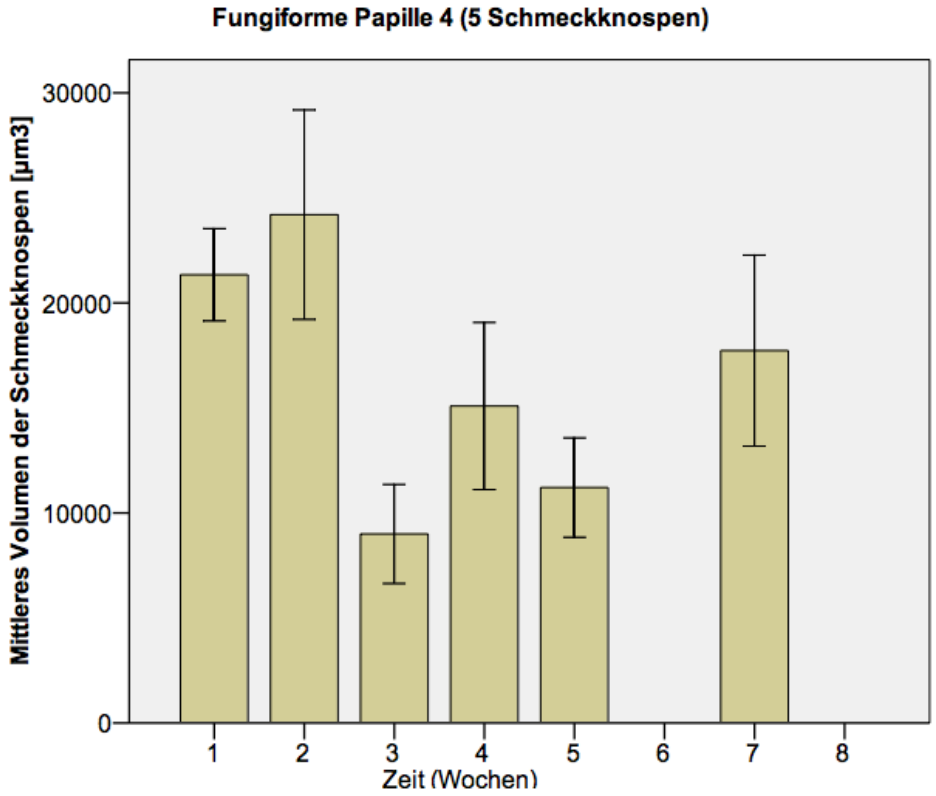
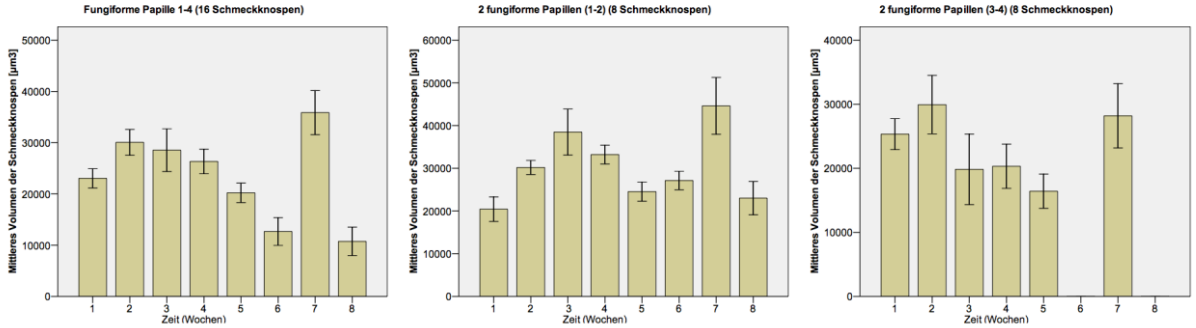


Abb. 29 **Mittleres Volumen (± 1 SE) der 5 Schmeckknospen (A-E) der fPap 4 (rechte Zungenseite).**

Die Darstellung 30A lässt die Tatsache außer Acht, dass sich auf der rechten Zungenseite in beiden fPap keine der 8 SK in der 6. und 8. Woche darstellen ließen.



A B C

Abb. 30 **Mittleres Volumen (± 1 SE) aller Schmeckknospen**
A aller 4 fPap des Patienten mit BMS
B der linken fPap
C der rechten fPap

Die Ergebnisse der Korrelationsanalysen ergaben für beide Seiten eine signifikante negative Korrelation zwischen den Ergebnissen der Elektrogustometrie und den Volumina der SK (linke Seite: r_{16}= -0,814; p = 0,014; rechte Seite r_{16}= -0,765; p = 0,027).

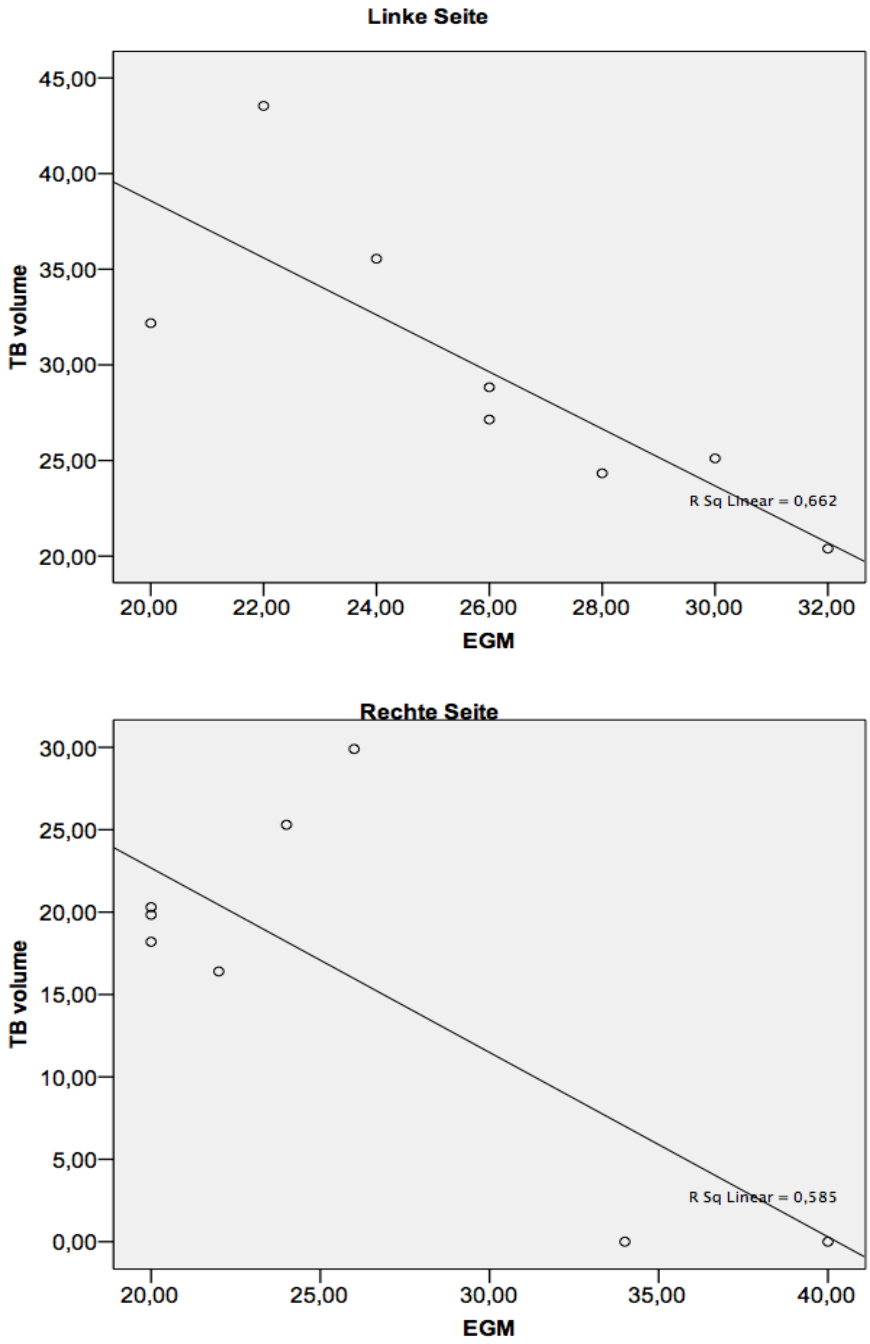


Abb. 31 **Ergebnisse der Korrelationsanalysen zwischen den Ergebnissen der Elektrogustometrie (EGM) und den Volumina der Schmeckknospen separat für die linke und rechte Seite. Auf beiden Seiten korrelieren die EGM-Ergebnisse und die Volumina der Schmecknospen (jeweils P< 0,05).**

4 Diskussion

Ziel der vorliegenden Dissertation war es, mit dem digital-konfokalen LSM das periphere Schmeckorgan darzustellen, die Morphologie der SK in vivo zu untersuchen, Volumenänderungen der SK innerhalb eines definierten Zeitraums zu erfassen und diese Ergebnisse mit der gustatorischen Sensibilität zu korrelieren.

Die Morphologie der SK fungiformer Papillen konnte bis jetzt nur mittels Biopsie einer einzelnen fPap untersucht werden. Eine Technik zur Entnahme einzelner fPap zeigten Spielman et al. in einer Videoaufnahme.[78] Sie beschrieben die fPap als runde pinkfarbene Strukturen, die ca. 0,5 mm Durchmesser haben und SK besitzen. Die biopsierten fPap wurden für verschiedene Zwecke verwendet, wie z.B. zur Gewinnung von lebensfähigen SK-Zellen, für die Immunhistochemie oder zur Identifikation von neuartigen geschmackspezifischen Proteinen.

Wie sich die Morphologie von SK verändert, lässt sich nicht an jeder beliebigen fPap bestimmen, denn nicht jede fPap besitzt SK. Tatsächlich befinden sich in mehr als 50% der menschlichen fPap keine SK. [79-83]
Arvidson untersuchte z.B. anhand der Lichtmikroskopie 182 fPap mit insgesamt 262 SK, die von 22 verstorbenen Menschen (Alter: 2 Tage – 90 Jahre) biopsiert wurden[79]. Es zeigte sich, dass 63% der untersuchten fPap keine SK, 26% nur 1-3 SK und der Rest der fPap mindestens 4 oder mehr SK besitzen. In einer anderen Studie zeigten Arvidson et al., dass 56% der untersuchten fPap keine SK, 24% nur 1-3 SK und 20% mindestens 4 oder mehr SK besitzen.[80] Dabei wurden 110 fPap mit insgesamt 195 SK von 31 Freiwilligen untersucht. Für eine effektive Untersuchung der SK kommt es also darauf an, möglichst keine fPap, die keine SK besitzen, zu biopsieren.

Von Bedeutung für die Biopsie ist auch die Zungenregion, aus der die fPap entnommen werden. Miller IJ untersuchte 10 Zungen von Männern, die im Alter von 22 – 80 Jahren gestorben waren.[81] Er untersuchte die Zungen auf Dichte ihrer fPap und deren SK. Es zeigte sich eine durchschnittliche Dichte von 24,5 fPap/cm² bzw. 116,3 SK/cm² und 3,8 SK/fPap auf der Zungenspitze. In der mittleren Zungenregion wurde eine durchschnittliche Dichte von 8,2 fPap/cm² bzw. 25,2 SK/cm² und 2,6 SK/fPap festgestellt.[81] Biopsien aus der mittleren Region

der Zunge müssen gegebenfalls mehrmals wiederholt werden, da die Wahrscheinlichkeit, eine fPap mit SK zu treffen, relativ gering ist.
Die In-vivo-Mikroskopie anhand des konfokalen LSM ermöglicht die Untersuchungen der fPap und deren SK direkt im Mund der lebenden Probanden und macht somit die Biopsie der fPap überflüssig. Mögliche Veränderungen (Artefakte) der SK-Morphologie (z.B. Form und Volumen) durch die Biopsie und die damit verbundene Unterbrechung der Versorgung der fPap können somit vermieden werden. Mit der hier vorgestellten Untersuchung kann die natürliche biologische Variabilität der SK-Volumenveränderung bei gesunden Probanden und bei Patienten mit Schmeckstörungen in vivo ermittelt werden.
Dabei stellen sich die folgenden Fragen: Wie verändert sich das Volumen und die Anzahl der fPap/SK mit der Zeit? Gibt es einen Zusammenhang zwischen Anzahl bzw. Dichte der SK und der gustatorischen Sensibilität bei gesunden Probanden oder Patienten mit Schmeckstörungen? Diesen Fragen wurde im Rahmen dieser Promotionsarbeit nachgegangen.

Zur Untersuchung der fPap können neben der konfokalen LSM bei Menschen bzw. Tieren in vivo aber auch andere Methoden verwendet werden. Diese sind vor allem die Videomikroskopie[84-86] und die Kontaktendoskopie[57,87,88].
Im Folgenden werden diese drei Methoden für die Untersuchung der fPap/SK dargestellt.

4.1 Methodenvergleich

4.1.1 Digital-konfokale LSM

Die digital-konfokale LSM liefert quantitative Daten schnell und nichtinvasiv. Unter Verwendung des digital-konfokalen LSM, bestehend aus einem Heidelberg Retina Tomographen und dem Rostock Cornea Modul und spezieller Halterungen, gelingt es, dieses Kontaktverfahren auch zur In-vivo-Diagnostik der fPap und deren SK einzusetzen. Diese Methode wurde erstmalig von Just et al. zur Untersuchung der fPap, deren SK und der subepithelialen Gefäßen in vivo eingesetzt.[89]
Mit dem verwendeten digital-konfokalen LSM konnte eine Auflösung von 0.43 µm und eine maximal 800fache Gesamtvergrößerung erreicht werden.[77]

Die konfokale LSM wurde 1957 von Minsky beschrieben und 1961 von ihm patentiert[90]. Diese Methode wurde seit den 1980er Jahren zur In-vivo-Diagnostik, v.a. des Auges[91-94], eingesetzt.
Cavanagh et al.[92] ist es damals gelungen, die Strukturen des lebenden Auges bis zu den zellulären Details nichtinvasiv und in Echtzeit zu visualisieren.
Seitdem wurde diese Methode ständig verbessert und etablierte sich im klinischen Alltag zur Untersuchung vorderer Augenabschnitte, wie der Kornea, der Iris und der Konjunktiva[95-103].
Auch in der Dermatologie hat die konfokale Abbildung ein großes klinisches Potential gezeigt[104-111], z.B. um Follikulitis zu charakterisieren[107] oder die histologische Grenze einer proliferativen Hautläsion in vivo zu bestimmen[108].

White et al.[112] haben die Mukosa der Lippe von 6 Probanden anhand In-vivo-Konfokalmikroskopie untersucht und mit ihren korrespondierenden histologischen Bildern verglichen. Die Aufnahmen wurden in 50 µm, 98 µm und 220 µm Tiefe gemacht. Die konfokalen Bilder korrelierten gut mit den herkömmlichen histologischen Bildern, sowohl qualitativ (visuelle Analyse) als auch quantitativ (Stereologie). Zellen mit deren Organellen einschließlich der Kerne, zirkulierender Blutzellen und extrazellulärer Matrix konnten mit der konfokalen Mikroskopie gezeigt werden.

In der Zahnheilkunde konnten Burmeister et al. unter Verwendung des digital-konfokalen LSM die Oberflächenbeschaffenheit und das Randschlussverhalten dentaler Materialen bzw. Restaurationen sowie die Eigenschaften dentaler Komposita, metallischer und keramischer Restaurationen in Verbindung mit dem Zahnschmelz beurteilen[113].
Ferner konnten sie die Strukturen der oralen Mukosa bis zu einer Tiefe von 200 µm untersuchen. Auch die Blutgefäße und Erythrozyten ließen sich in vivo darstellen.

In der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde haben Just et al. dieses Mikroskop zur Untersuchung der Zunge und des Kehlkopfs angewandt und neue Erkenntnisse auf diesem Gebiet gewonnen[89,114-117]. Sie zeigten, dass fPap und filliforme Pap einfach und schnell mit dem LSM identifiziert werden können. Das Epithel der Zunge mit seinen subzellulären Strukturen (bis zu einer Tiefe von 50 µm), zellulären Strukturen (bis zu einer Tiefe von 150 µm) und subepithelialen Gefäßen (bis zu einer Tiefe von 300 µm) konnte untersucht werden. Sogar der Blutfluss in den subepithelialen Gefäßen war sichtbar[114].
Just et al. haben weiterhin in Ex-vivo-Untersuchungen mit dem LSM den Kehlkopf untersucht.[115,116] Bei diesen vorläufigen ex-vivo Untersuchungen konnten sie das Stimmlippenepithel, die Basalzellschicht und die Lamina propria mit der unterschiedlichen Schichtung, den Reinke-Raum und dem Ligamentum vocale darstellen. Entzündungen, Dysplasien und Karzinome ließen sich zuverlässig vom gesunden Epithel unterscheiden.

Zur Abklärung von Schmeckstörungen im klinischen Alltag ist die LSM aufgrund der erforderlichen seriellen Untersuchungen und dem damit verbundenen Zeitaufwand nicht geeignet. Außerdem konnten anhand dieser Methode die Schmeckzellen der SK nicht differenziert werden. Die 3D-Rekonstruktion der SK-Volumen ist weiterhin sehr zeitaufwendig.

4.1.2 Videomikroskopie vs. LSM

Die Videomikroskopie ist ein Verfahren, mit dem die Zungenoberfläche mit den fPap nicht invasiv untersucht werden kann. SK selbst lassen sich anhand dieser Methode allerdings nicht darstellen.

Bei der Videomikroskopie wird die Zunge mit 0,5% Methylenblau gefärbt und danach die fPap und die Poren mit dem Videomikroskop identifiziert.[84,86,118] Die mit methylenblau-gefärbten Poren (Flecken) sind ein Indikator für die SK. Ob alle Methylenblau-Flecken auf der Oberfläche der fPap tatsächlich SK-Poren sind, ist zweifelhaft. Außerdem verfügen nicht alle fPap über SK. Verschiedene Studien zeigten, dass eine große Variation im Vorhandensein der SK in fPap besteht[79-84,118,119]. Die Anzahl der SK pro gustatorischer fPap variiert zwischen 0-512 SK/cm² auf der Zungenspitze und von 0-86 SK/cm² in der mittleren Region der Zunge. Eine fPap auf der Zungenspitze hat 0-22 SK und in der mittleren Region 0-9 SK[120].

Kullaa-Mikkonen et al.[83] und Arvidson et al.[79] zeigten, dass ca. 55%-63% der fPap keine SK aufweisen. Bei Cheng et al.[119] waren es 68% und bei Miller[118] nur 13% ohne Poren.

Die Identifikation der mit Methylenblau gefärbten Flecken, die SK-Poren, auf der Oberfläche der fPap kann mittels Videomikroskopie beim Vorliegen von anatomischen Formvariationen der Zunge, wie z.B. Faltenzunge, Landkartenzunge oder Haarzunge Schwierigkeiten bereiten. Einige Poren können dann mit epithelialen Zellen verdeckt sein.[83]

Negoro et al. haben anhand der Videomikroskopie fPap von gesunden Probanden und Probanden mit Schmeckstörungen untersucht und die Form mit der gustatorischen Funktionsfähigkeit verglichen. Sie teilten die Form der fPap in 4 Typen ein und haben eine modifizierte Klassifikation der fPap-Form erstellt.[87] Bei den gesunden Probanden zeigten die fPap eine eiförmige Gestalt ohne bzw. mit einer geringeren Zunahme der Oberflächendicke (Typ 1 bzw. Typ 2). Bei den Probanden mit Schmeckstörungen zeigten die fPap eine flache Gestalt mit einer dicken und irregulären Oberfläche (Typ 3) bzw. eine konkave Oberfläche mit einer bemerkenswert atrophischen Oberfläche (Typ 4). Für diesen Zweck ist die Videomikroskopie gut geeignet, allerdings bei der Untersuchung der subepithelialen Gefäße der fPap liefern die Kontaktendoskopie und LSM bessere Ergebnisse als die Videomikroskopie[87,114]. Weiterhin ist die Darstellung der SK bei der Videomikroskopie nicht möglich.

Im Gegensatz zum LSM kann mit dem Videomikroskop die Epitheldicke nicht gemessen werden. Beim LSM ermöglicht der automatische Scan durch das Epithel der fPap bis zum subepithelialen Gefäßscheitel die Messung der Epitheldicke[89].

4.1.3 Kontaktendoskopie vs. LSM

Die Kontaktendoskopie kommt in der HNO-Heilkunde zum Einsatz, u.a. am Kehlkopf während der Mikrolaryngoskopie[121-123], in der Nase[124] und in der Mundhöhle[88,125]. Dieses Verfahren hat sich allerdings im klinischen Alltag nicht durchgesetzt, da es keine diagnostische Bedeutung mehr hat.

In der Mundhöhle kann nichtinvasiv in Kontakt-Verfahren die Morphologie der fungiformen und filiformen Papillen, die subepithelialen Papillengefäße und vereinzelt die Geschmacksporen auf der Oberfläche in 60 – 150 facher Vergrößerung dargestellt werden. Das zeigten Just et al. im Rahmen ihrer Untersuchungen zur Quantifizierung der fPap (fPap/cm²) und Beurteilung der Zungenepithelien. Laut Just et. al. wird das Gewebe durch den undefinierten Druck auf das Oberflächenepithel komprimiert, was deutlich an der sistierenden Blutzirkulation in den subepithelialen Papillengefäßen erkennbar ist. Weiterhin ist es durch das aufgesetzte Kontaktendoskop nicht möglich, gezielte Probeentnahmen der fPap durchzuführen. [88]

Mit dem in den vorliegenden Untersuchungen verwendeten digital-konfokalen LSM kann die Kontaktstelle auf der Zunge per Video kontrolliert werden. Da das Kontaktelement der Zungenoberfläche angelegt und nicht aufgepresst wird, sind die Veränderungen des Epithels zu vernachlässigen.[58,89]

Während die Struktur der Gefäße bei der Kontaktendoskopie ohne Färbung untersucht werden kann, benötigt die Untersuchung der Morphologie und der oberen Schichten des Epithels und der SK-Poren eine Färbung mit Methylenblau. Unter Verwendung der Kontaktendoskopie können die SK-Poren und die SK nur unzureichend visualisiert werden.

4.2 Anzahl der fPap/SK vs. Schmeckvermögen

Um eine Geschmacksqualität richtig erkennen zu können, muss laut Bealer und Smith eine einzelne Papille mit relativ starken Reizen stimuliert werden.[126] Jedoch bei geringeren Konzentrationen sind mehrere Papillen daran beteiligt, um letztlich eine Geschmackssensation auszulösen, da die Stimuluskonzentration unterhalb der Schwelle der einzelnen Papille liegt.
Diese Erkenntnis kann nach Ansicht von Miller et al. erklären, warum Probanden mit weniger Papillen und weniger SK pro Papille Reize weniger intensiv wahrnehmen als Probanden mit mehr Papillen und mehr SK in derselben Region.[86]
Smith et al. bewiesen bereits 1971, dass die Geschmacksintensität bei konstanten Stimuluskonzentrationen proportional zur Anzahl der fPap in einem bestimmten Zungenareal ist.[127] Außerdem ist die Anzahl der Geschmacksqualitäten, die durch Stimulation einer einzelnen fPap hervorgerufen werden, größer bei fPap mit mehreren SK.[80]

Eine verminderte Geschmacksintensität bei Menschen ist auf genetische Faktoren[128], das Alter[129-131] und verschiedene Krankheiten[132] zurückzuführen.
Das Riech- und Schmeckvermögen ändert sich mit dem Alter. Seit langem ist die altersbedingte Reduktion der chemosensorischen Funktionen bekannt.
Die Fähigkeit zu riechen wird als selbstverständlich betrachtet, bis sie sich verschlechtert[133]. Verschiedene Studien zeigten, dass unsere olfaktorische Funktion mit dem Alter abnimmt[134-137]. Doty et al. zeigten, dass die Fähigkeit, Gerüche zu identifizieren, ihre Spitze zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr erreicht und danach gleichbleibend zu sinken beginnt. Außerdem ist der größte Anteil der älteren Personen anosmisch[134].
Hummel et al. berichteten darüber, dass die funktionelle Anosmie bei 5-6% der Gesamtbevölkerung zu finden ist. Außerdem ist das Riechvermögen bei 25% der Menschen ab 55 Jahre eingeschränkt.[137]

Untersuchungen aus den 1980ern Jahren bei Nagetieren[138], Primaten[139] und Menschen[79] zeigten keine signifikante Abnahme in der Anzahl der SK als Funktion des Alters ; d.h. das Schmeckvermögen nimmt im Vergleich zum Riechvermögen mit zunehmenden Alter weniger deutlich ab.

Pingel et al.[44] bestätigen in ihrer Studie aus dem Jahre 2010 die altersabhängige Abnahme der gustatorischen Sensibilität, so wie es bei mehreren anderen Autoren beschrieben wurde[40,42,43,140].

Den Untersuchungen der vorliegenden Dissertation zufolge ändert sich das Volumen einzelner SK innerhalb einer fPap während eines 10-wöchigen Zeitraums unterschiedlich. Das Volumen mancher SK nimmt zu, wohingegen das Volumen anderer SK abnimmt oder unverändert bleibt. Demnach gibt es keine Korrelation zwischen SK-Volumen und Alter der Probanden. Außerdem korreliert der Durchmesser der fPap weder mit dem Volumen einzelner SK noch mit dem Volumen aller SK der selben fPap[141]. Diese Volumenänderungen gilt es, bei zukünftigen Studien zur Testung der Regenerationsfähigkeit von SK nach Entnahme von Papillen zu berücksichtigen.

4.3 Schmeckstörungen

Schmeckstörungen steigen mit zunehmendem Alter[142]. Das kann durch Änderungen an den sensorischen Organen, den Nervenbahnen oder Projektionsarealen, andererseits durch altersbedingte Abweichungen kognitiver Funktionen verursacht sein[143]. Zahlreiche Medikamente können Schmeckstörungen hervorrufen[25,143]. Einige internistische und zentralnervöse Erkrankungen, z.B. M.Parkinson, sind mit Schmeck- und Riechstörungen verbunden[144,145]. Zudem ist in allen Altersstufen ein schlechter Gesundheitszustand mit Riech- und Schmeckstörungen assoziiert[146,147].

Mikrobielle Zersetzungsprodukte bei schlechter Mundhygiene können die gustatorischen Rezeptorzellen beeinträchtigen.

Daher besteht ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der Geschmackspapillen und –knospen auf der Zunge und der Wahrnehmung der Schmeckintensität[118,148].

Patienten mit Schmeckstörungen haben bedeutend weniger fPap als gesunde Menschen[149].

Die verminderten Schmecksensitivitäten im Alter betreffen die vier Grundgeschmacksqualitäten süß, salzig, sauer und bitter meist nicht in gleichem Ausmaß[131,150-153]. Ältere Menschen haben bei sauren und bitteren Stimuli größere Schmeckschwellenveränderungen als bei salzigen und süßen [152-154]. Am besten ist die Wahrnehmung süßer Stimuli bis ins hohe Alter erhalten. Möglicherweise sind deshalb süße Speisen bei Senioren so beliebt.

In der hier vorgestellten Promotionsarbeit konnte ein Patient mit Schmeckstörungen untersucht werden[60], der Hypogeusie und seitenabweichende Messwerte der gustatorischen Tests aufwies.

Der Vergleich des zeitlichen Verlaufs der Volumenänderungen offenbarte Unterschiede entsprechend der gustatorischen Sensitivität. Das Muster der Volumenänderung der SK war bei diesem Patienten mit der Schmeckstörung auf der betroffenen Seite verändert. Diese Resultate deuten an, dass der zeitliche Verlauf der Volumenänderung und eben nicht die morphologischen Veränderungen der fPap die Schmeckstörung bei unseren Patienten anzeigte.

Die interessante Fragestellung, wie sich das periphere Schmeckorgan nach Denervierung ändert, z.B. nach Chorda-tympani-Durchtrennung, kann mit der beschriebenen in-vivo-Methode untersucht werden.

5 Zusammenfassung

Die Untersuchung des peripheren Schmeckorgans anhand des in Rostock modifizierten digital-konfokalen LSMs ist eine neuartige Methode, mit der die fPap mit deren SK in vivo und in Echtzeit untersucht werden können. Diese nichtinvasive Methode liefert qualitative Aufnahmen der fPap bzw. SK, die für die Volumenbestimmung der SK anhand des Programms Amira® verwendet werden.
Die Volumenbestimmung der SK wurde zuerst anhand der Volumenformel eines Zylinders berechnet: Volumen einer SK = $\pi \times r^2 \times h/10^3$ (mm^3), wobei „r“ der Durchmesser und „h“ die Höhe der SK ist. Diese Daten wurden anhand des Programms Amira® gemessen. Diese Methode war allerdings ungenau, da die realen Ausmaße der SK nicht berücksichtigt wurden. Deswegen wurde eine zweite Methode verwendet, bei der das Volumen der SK durch das Ausmalen der Fläche auf jeder xy-Ebene der SK und anschließendes Addieren aller Flächen berechnet wurde. Die Ergebnisse beider Methoden korrelierten miteinander.
Die Anwendbarkeit dieser Methode ist für den klinischen Alltag aufgrund des Zeitaufwandes nicht geeignet. Dagegen eignet sich die Methode zur Klärung spezifischer wissenschaftlicher Fragestellungen, wie beispielsweise die Regenerationsfähigkeit nach Resektion einzelner Papillen.

Zielsetzung dieser Dissertation war die Gewinnung und Interpretation verlässlicher Daten zur In-vivo-Volumenveränderung der SK unter Verwendung eines digital-konfokalen LSMs.
Untersucht wurden 5 gesunde Probanden, zwei Frauen und drei Männer im Alter von 23 bis 38 Jahren, die über ein altersentsprechendes Schmeckvermögen verfügten. Das Durchschnittsalter der Probanden betrug 26,4 ± 6 Jahre. Insgesamt verfügten sie über 43 SK in 11 fPap. Davon wurden 2 Probanden mit 4 fPap und 18 SK wöchentlich über 10 Wochen untersucht. Zum Vergleich wurde ein Patient mit Schmeckstörungen herangezogen, bei dem 4 fPap (2 fPap pro Zungenseite) mit insgesamt 15 SK wöchentlich untersucht wurden. Der Untersuchungszeitraum betrug 8 Wochen.

Die Volumina der SK bei den gesunden Probanden haben sich während des 10-wöchigen Untersuchungszeitraums unterschiedlich verändert. Die Volumina mancher SK nahmen zu

oder ab, wohingegen die Volumina anderer SK fast unverändert blieben. Das Intervall zwischen zwei Volumenmaxima beträgt im Durchschnitt 3-5 Wochen.
Phänomene wie die Vergrößerung einer einzelnen SK und deren anschließendes Verschwinden, das Auftreten neuer SK und Formveränderung der fPap sind bei den gesunden Probanden beobachtet worden.

Bei dem Patienten mit Schmeckstörungen zeigte der Volumenverlauf der SK auf der betroffenen rechten Seite die Schmeckstörung an und eben nicht die morphologischen Veränderung der fPap. Der Volumenverlauf der SK war auf der rechten Seite auffällig. Es ließ sich in der 6 und 8 Woche keine SK darstellen. Folglich können Seitendifferenzen in der Volumetrie hinweisend für Schmeckstörungen sein, insbesondere dann, wenn auch Seitendifferenzen in der Schmecktestung vorliegen.

6 Verzeichnisse

6.1 Literaturverzeichnis

1. Rollin H. [Evaluating function and disorders of taste]. *Arch Otorhinolaryngol* 1975;210:165-218.
2. Chandrashekar J, Hoon MA, Ryba NJ, Zuker CS. The receptors and cells for mammalian taste. *Nature* 2006;444:288-294.
3. Heckmann JG, Heckmann SM, Lang CJ, Hummel T. Neurological aspects of taste disorders. *Arch Neurol* 2003;60:667-671.
4. Murray RG, Murray A. Fine structure of taste buds of rabbit foliate papillae. *J Ultrastruct Res* 1967;19:327-353.
5. Yamaguchi S. Basic properties of umami and effects on humans. *Physiol Behav* 1991;49:833-841.
6. Laugerette F, Passilly-Degrace P, Patris Bet al. CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions. *J Clin Invest* 2005;115:3177-3184.
7. San Gabriel A, Uneyama H, Maekawa T, Torii K. The calcium-sensing receptor in taste tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;378:414-418.
8. Nelson G, Hoon MA, Chandrashekar J, Zhang Y, Ryba NJ, Zuker CS. Mammalian sweet taste receptors. *Cell* 2001;106:381-390.
9. Nelson G, Chandrashekar J, Hoon MAet al. An amino-acid taste receptor. *Nature* 2002;416:199-202.
10. Hoon MA, Adler E, Lindemeier J, Battey JF, Ryba NJ, Zuker CS. Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell* 1999;96:541-551.
11. Adler E, Hoon MA, Mueller KL, Chandrashekar J, Ryba NJ, Zuker CS. A novel family of mammalian taste receptors. *Cell* 2000;100:693-702.
12. Huang AL, Chen X, Hoon MAet al. The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature* 2006;442:934-938.
13. Avenet P, Kinnamon SC. Cellular basis of taste reception. *Curr Opin Neurobiol* 1991;1:198-203.
14. Slavkin HC. Reflections on taste for oral health professionals. *J Am Dent Assoc* 1997;128:1697-1701.
15. Behrens M, Bartelt J, Reichling C, Winnig M, Kuhn C, Meyerhof W. Members of RTP and REEP gene families influence functional bitter taste receptor expression. *J Biol Chem* 2006;281:20650-20659.
16. Behrens M, Meyerhof W. Bitter taste receptors and human bitter taste perception. *Cell Mol Life Sci* 2006;63:1501-1509.

17. Li X, Staszewski L, Xu H, Durick K, Zoller M, Adler E. Human receptors for sweet and umami taste. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:4692-4696.

18. Soter A, Kim J, Jackman A, Tourbier I, Kaul A, Doty RL. Accuracy of self-report in detecting taste dysfunction. *Laryngoscope* 2008;118:611-617.

19. Gent JF, Goodspeed RB, Zagraniski RT, Catalanotto FA. Taste and smell problems: validation of questions for the clinical history. *Yale J Biol Med* 1987;60:27-35.

20. Deems DA, Doty RL, Settle RGet al. Smell and taste disorders, a study of 750 patients from the University of Pennsylvania Smell and Taste Center. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991;117:519-528.

21. Hoffman HJ, Ishii EK, MacTurk RH. Age-related changes in the prevalence of smell/taste problems among the United States adult population. Results of the 1994 disability supplement to the National Health Interview Survey (NHIS). *Ann N Y Acad Sci* 1998;855:716-722.

22. Welge-Luessen A. A study about the frequency of taste disorders. *J Neurol* submitted.

23. Just T, Pau HW, Bombor I, Guthoff RF, Fietkau R, Hummel T. Confocal microscopy of the peripheral gustatory system: comparison between healthy subjects and patients suffering from taste disorders during radiochemotherapy. *Laryngoscope* 2005;115:2178-2182.

24. Lang NP, Catalanotto FA, Knopfli RU, Antczak AA. Quality-specific taste impairment following the application of chlorhexidine digluconate mouthrinses. *J Clin Periodontol* 1988;15:43-48.

25. Henkin RI. Drug-induced taste and smell disorders. Incidence, mechanisms and management related primarily to treatment of sensory receptor dysfunction. *Drug Saf* 1994;11:318-377.

26. Temmel AF, Quint C, Schickinger-Fischer B, Klimek L, Stoller E, Hummel T. Characteristics of olfactory disorders in relation to major causes of olfactory loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;128:635-641.

27. Landis BN, Lacroix JS. Taste disorders. *B-ENT* 2009;5 Suppl 13:123-128.

28. Sakagami M, Sone M, Tsuji K, Fukazawa K, Mishiro Y. Rate of recovery of taste function after preservation of chorda tympani nerve in middle ear surgery with special reference to type of disease. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003;112:52-56.

29. Nin T, Sakagami M, Sone-Okunaka M, Muto T, Mishiro Y, Fukazawa K. Taste funktion after section of chorda tympani nerve in middle ear surgery. *Auris Nasus Larynx* 2006;33:13-17.

30. Miuchi S, Sakagami M, Tsuzuki K, Noguchi K, Mishiro Y, Katsura H. Taste disturbance after stapes surgery--clinical and experimental study. *Acta Otolaryngol Suppl* 2009:71-78.

31. Tomofuji S, Sakagami M, Kushida K, Terada T, Mori H, Kakibuchi M. Taste disturbance after tonsillectomy and laryngomicrosurgery. *Auris Nasus Larynx* 2005;32:381-386.

32. Griffin JP. Drug-induced disorders of taste. *Adverse Drug React Toxicol Rev* 1992;11:229-239.

33. Reiter ER, DiNardo LJ, Costanzo RM. Toxic effects on gustatory function. *Adv Otorhinolaryngol* 2006;63:265-277.

34. Terada T, Sone M, Tsuji K, Mishiro Y, Sakagami M. Taste function in elderly patients with unilateral middle ear disease. *Acta Otolaryngol Suppl* 2004:113-116.

35. Just T, Steiner S, Pau HW. Oral pain perception and taste in burning mouth syndrome. *J Oral Pathol Med*;39:22-27.

36. Negoro A, Umemoto M, Fujii Met al. Taste function in Sjogren's syndrome patients with special reference to clinical tests. *Auris Nasus Larynx* 2004;31:141-147.

37. Henkin RI, Gill JR, Bartter FC. Studies on Taste Thresholds in Normal Man and in Patients with Adrenal Cortical Insufficiency: The Role of Adrenal Cortical Steroids and of Serum Sodium Concentration. *J Clin Invest* 1963;42:727-735.

38. Gudziol H, Hummel T. Normative values for the assessment of gustatory function using liquid tastants. *Acta Otolaryngol* 2007;127:658-661.

39. Richter H. Vergleichende Bestimmung des Gesamtschmeckvermögens bei Normalpersonen mit Hilfe von Schmecktabletten und Tropfen. *Dissertation, Med Fak Univ Jena* 2002.

40. Ahne G, Erras A, Hummel T, Kobal G. Assessment of gustatory function by means of tasting tablets. *Laryngoscope* 2000;110:1396-1401.

41. Hummel T, Erras A, Kobal G. A test for the screening of taste function. *Rhinology* 1997;35:146-148.

42. Mueller C, Kallert S, Renner Bet al. Quantitative assessment of gustatory function in a clinical context using impregnated "taste strips". *Rhinology* 2003;41:2-6.

43. Landis BN, Welge-Luessen A, Bramerson Aet al. "Taste Strips" - a rapid, lateralized, gustatory bedside identification test based on impregnated filter papers. *J Neurol* 2009;256:242-248.

44. Pingel J, Ostwald J, Pau HW, Hummel T, Just T. Normative data for a solution-based taste test. *Eur Arch Otorhinolaryngol*;267:1911-1917.

45. Krarup B. Electro-gustometry: a method for clinical taste examinations. *Acta Otolaryngol* 1958;49:294-305.

46. Krarup B. On the technique of gustatory examinations. *Acta Otolaryngol Suppl* 1958;140:195-200.

47. Krarup B. Electrogustometric examinations in cerebellopontine tumors and on taste pathways. *Neurology* 1959;9:53-61.

48. Haberland EJ, Fikentscher R, Roseburg B. Ein neues Elektrogustometer. *Mschr Ohrenheilk* 1974;108:254-258.

49. Just T, Pau HW, Steiner S, Hummel T. Assessment of oral trigeminal sensitivity in humans. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007;264:545-551.

50. Just T, Steiner S, Strenger T, Pau HW. Changes of oral trigeminal sensitivity in patients after middle ear surgery. *Laryngoscope* 2007;117:1636-1640.

51. Funakoshi M, Kawamura Y. Summated cerebral evoked responses to taste stimuli in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1971;30:205-209.

52. Kobal G. Gustatory evoked potentials in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1985;62:449-454.

53. Min BC, Sakamoto K. Influence of sweet suppressing agent on gustatory brain evoked potentials generated by taste stimuli. *Appl Human Sci* 1998;17:9-17.

54. Hummel T, Genow A, Landis BN. Clinical assessment of human gustatory function using event related potentials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*;81:459-464.

55. Small DM, Gregory MD, Mak YE, Gitelman D, Mesulam MM, Parrish T. Dissociation of neural representation of intensity and affective valuation in human gustation. *Neuron* 2003;39:701-711.

56. Spetter MS, Smeets PA, de Graaf C, Viergever MA. Representation of sweet and salty taste intensity in the brain. *Chem Senses*;35:831-840.

57. Just T, Pau HW, Witt M, Hummel T. Contact endoscopic comparison of morphology of human fungiform papillae of healthy subjects and patients with transected chorda tympani nerve. *Laryngoscope* 2006;116:1216-1222.

58. Just T, Srur E, Stachs O, Pau HW. Volumetry of human taste buds using laser scanning microscopy. *J Laryngol Otol* 2009;123:1125-1130.

59. Astback J, Fernstrom A, Hylander B, Arvidson K, Johansson O. Taste buds and neuronal markers in patients with chronic renal failure. *Perit Dial Int* 1999;19 Suppl 2:S315-323.

60. Srur E, Pau HW, Just T. Changes in taste bud volume during taste disturbance. *Auris Nasus Larynx*.

61. Helms JA, Della-Fera MA, Mott AE, Frank ME. Effects of chlorhexidine on human taste perception. *Arch Oral Biol* 1995;40:913-920.

62. Bromley S, Doty R. Clinical disorders affecting taste: Evaluation and managment. In: Doty R, ed. *Handbook of olfaction and gustation*. Basel: Marcel Dekker New York, 2003:479-493.

63. Deems DA, Yen DM, Kreshak A, Doty RL. Spontaneous resolution of dysgeusia. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;122:961-963.

64. Stoll AL, Oepen G. Zinc salts for the treatment of olfactory and gustatory symptoms in psychiatric patients: a case series. *J Clin Psychiatry* 1994;55:309-311.

65. Henkin RI, Schecter PJ, Friedewald WT, Demets DL, Raff M. A double blind study of the effects of zinc sulfate on taste and smell dysfunction. *Am J Med Sci* 1976;272:285-299.

66. Heckmann SM, Hujoel P, Habiger Set al. Zinc gluconate in the treatment of dysgeusia--a randomized clinical trial. *J Dent Res* 2005;84:35-38.

67. Bull TR. Taste and the Chorda Typani. *J Laryngol Otol* 1965;79:479-493.

68. Formaker BK, Mott AE, Frank ME. The effects of topical anesthesia on oral burning in burning mouth syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 1998;855:776-780.

69. Ackerman BH, Kasbekar N. Disturbances of taste and smell induced by drugs. *Pharmacotherapy* 1997;17:482-496.

70. Mahajan SK, Prasad AS, Lambujon J, Abbasi AA, Briggs WA, McDonald FD. Improvement of uremic hypogeusia by zinc: a double-blind study. *Am J Clin Nutr* 1980;33:1517-1521.

71. Heckmann SM, Heckmann JG, Ungethum A, Hujoel P, Hummel T. Gabapentin has little or no effect in the treatment of burning mouth syndrome - results of an open-label pilot study. *Eur J Neurol* 2006;13:e6-7.

72. Just T, Homoth J, Graumüller S, Pau HW. Schmeckstörung und Erholung der Schmeckfunktion nach Mittelohroperation. *Laryngorhinootologie* 2003;82:494-500.

73. Mitteilungen. Arbeitsgemeinschaft "Olfaktologie und Gustologie". Empfehlungen zur Bestimmung des Riech- und Schmecksinns. *HNO-Praxis* 1980;5:62-67.

74. Pingel J, Ostwald J, Pau HW, Hummel T, Just T. Gustatory function in a large group of healthy subjects. *J Neurol* 2009;submitted.

75. Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A. Normative data for the "Sniffin' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007;264:237-243.

76. Kobal G, Klimek L, Wolfensberger Met al. Multicenter investigation of 1,036 subjects using a standardized method for the assessment of olfactory function combining tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000;257:205-211.

77. Guthoff R, Baudouin C, stave J, . *Atlas of confocal laser scanning in-vivo microscopy in ophtalmology.* Berlin/Heidelberg/New York: Springer-Verlag, 2006.

78. Spielman AI, Pepino MY, Feldman R, Brand JG. Technique to collect fungiform (taste) papillae from human tongue. *J Vis Exp*.

79. Arvidson K. Location and variation in number of taste buds in human fungiform papillae. *Scand J Dent Res* 1979;87:435-442.

80. Arvidson K, Friberg U. Human taste: response and taste bud number in fungiform papillae. *Science* 1980;209:807-808.

81. Miller IJ, Jr. Variation in human fungiform taste bud densities among regions and subjects. *Anat Rec* 1986;216:474-482.

82. Miller IJ, Jr. Human fungiform taste bud density and distribution. *Ann N Y Acad Sci* 1987;510:501-503.

83. Kullaa-Mikkonen A, Koponen A, Seilonen A. Quantitative study of human fungiform papillae and taste buds: variation with aging and in different morphological forms of the tongue. *Gerodontics* 1987;3:131-135.

84. Miller IJ, Jr., Reedy FE, Jr. Human taste pore quantification with videomicroscopy. *Chem Senses* 1988;13:719.

85. Segovia C, Hutchinson I, Laing DG, Jinks AL. A quantitative study of fungiform papillae and taste pore density in adults and children. *Brain Res Dev Brain Res* 2002;138:135-146.

86. Miller IJ, Jr., Reedy FE, Jr. Variations in human taste bud density and taste intensity perception. *Physiol Behav* 1990;47:1213-1219.

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

88. Just T, Gafumbegete E, Kleinschmidt EG, Pau HW. Kontaktendoskopische Quantifizierung der fungiformen Papillen - Korrelation zum Schmeckvermögen? *Laryngorhinootologie* 2003;82:501-507.

89. Just T, Zeisner C, Stave J, Pau HW. Konfokale Laser-Scanning Mikroskopie zur Beurteilung des Zungenepithels. *Laryngorhinootologie* 2004;83:108-112.

90. Minsky M. "Microscopy Apparatus". [#3013467]. U.S. Patent, 1957.

91. Lemp MA, Dilly PN, Boyde A. Tandem-scanning (confocal) microscopy of the full-thickness cornea. *Cornea* 1985;4:205-209.

92. Cavanagh DH, Jester JV, Mathers W. In vivo confocal microscopy of the eye. *Proc Int Soc Eye Res* 1988;5:133.

93. Jester JV, Cavanagh DH, Lemp MA. In vivo confocal imaging of the eye using tandem scanning confocal microscopy. *Elect Micros Soc Am* 1988:56-57.

94. Jester JV, Cavanagh DH, Mathers W. In vivo responses to injury using confocal microscopy. *Proc Int Soc Eye Res* 1988;5:133.

95. Petroll WM, Jester JV, Cavanagh HD. In vivo confocal imaging: general principles and applications. *Scanning* 1994;16:131-149.

96. Berlau J, Becker HH, Stave J, Oriwol C, Guthoff RF. Depth and age-dependent distribution of keratocytes in healthy human corneas: a study using scanning-slit confocal microscopy in vivo. *J Cataract Refract Surg* 2002;28:611-616.

97. Stave J, Slowik C, Somodi S, Hahnel C, Grummer G, Guthoff R. Keratozytendichte der in vivo-Kornea: Automatische Messung mit einem modifiziertem konfokalen Mikroskop MICROPHTHAL®. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1998;213:38-44.

98. Cavanagh HD, Petroll WM, Alizadeh H, He YG, McCulley JP, Jester JV. Clinical and diagnostic use of in vivo confocal microscopy in patients with corneal disease. *Ophthalmology* 1993;100:1444-1454.

99. Knappe S, Stachs O, Guthoff R. [Corneal changes after wearing orthokeratology contact lenses: an investigation using in vivo, confocal laser scanning microscopy]. *Ophthalmologe* 2007;104:681-687.

100. Petroll WM, Jester JV, Cavanagh HD. In vivo confocal imaging: general principles and applications. *Scanning* 1994;16:131-149.

101. Stachs O, Zhivov A, Kraak R, Stave J, Guthoff R. In vivo three-dimensional confocal laser scanning microscopy of the epithelial nerve structure in the human cornea. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:569-575.

102. Stave J, Slowik C, Somodi S, Hahnel C, Grummer G, Guthoff R. [Keratinocyte density of the cornea in vivo. Automated measurement with a modified confocal microscopy MICROPHTHAL]. *Klin Monbl Augenheilkd* 1998;213:38-44.

103. Stave J, Zinser G, Grummer G, Guthoff R. [Modified Heidelberg Retinal Tomograph HRT. Initial results of in vivo presentation of corneal structures]. *Ophthalmologe* 2002;99:276-280.

104. Corcuff P, Leveque JL. In vivo vision of the human skin with the tandem scanning microscope. *Dermatology* 1993;186:50-54.

105. Kaufman SC, Beuerman RW, Greer DL. Confocal microscopy: a new tool for the study of the nail unit. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:668-670.

106. Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, Webb RH, Anderson RR. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol* 1995;104:946-952.

107. Gonzalez S, Rajadhyaksha M, Gonzalez-Serva A, White WM, Anderson RR. Confocal reflectance imaging of folliculitis in vivo: correlation with routine histology. *J Cutan Pathol* 1999;26:201-205.

108. Gonzalez S, Rajadhyaksha M, Anderson RR. Non-invasive (real-time) imaging of histologic margin of a proliferative skin lesion in vivo. *J Invest Dermatol* 1998;111:538-539.

109. Gonzalez S, Gonzalez E, White WM, Rajadhyaksha M, Anderson RR. Allergic contact dermatitis: correlation of in vivo confocal imaging to routine histology. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:708-713.

110. Gonzalez S, White WM, Rajadhyaksha M, Anderson RR, Gonzalez E. Confocal imaging of sebaceous gland hyperplasia in vivo to assess efficacy and mechanism of pulsed dye laser treatment. *Lasers Surg Med* 1999;25:8-12.

111. Rajadhyaksha M, Anderson RR, Webb RH. Video-rate confocal scanning laser microscope for imaging human tissues in vivo. *Appl Opt* 1999;38:2105-2115.

112. White WM, Rajadhyaksha M, Gonzalez S, Fabian RL, Anderson RR. Noninvasive imaging of human oral mucosa in vivo by confocal reflectance microscopy. *Laryngoscope* 1999;109:1709-1717.

113. Burmeister M, von Schwanewede H, Stave J, Guthoff RF. [Intraoral diagnostics using confocal laser scanning microscopy]. *Biomed Tech (Berl)* 2009;54:23-28.

114. Just T, Stave J, Pau HW, Guthoff R. In vivo observation of papillae of the human tongue using confocal laser scanning microscopy. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2005;67:207-212.

115. Just T, Stave J, Boltze Cet al. Laser scanning microscopy of the human larynx mucosa: a preliminary, ex vivo study. *Laryngoscope* 2006;116:1136-1141.

116. Just T, Stave J, Kreutzer HJ, Guthoff R, Pau HW. Confocal microscopic evaluation of epithelia of the larynx. *Laryngorhinootologie* 2007;86:644-648 (in German).

117. Just T, Stave J, Bombor I, Kreutzer HJ, Guthoff R, Pau HW. [In vivo diagnosis of epithelial changes of the oropharynx using confocal microscopy]. *Laryngorhinootologie* 2008;87:174-180.

118. Miller IJ, Jr., Reedy FE, Jr. Quantification of fungiform papillae and taste pores in living human subjects. *Chem Senses* 1990;15:281-294.

119. Cheng LH, Robinson PP. The distribution of fungiform papillae and taste buds on the human tongue. *Arch Oral Biol* 1991;36:583-589.

120. Miller IJ, Jr. Variation in human taste bud density as a function of age. *Ann N Y Acad Sci* 1989;561:307-319.

121. Andrea M, Dias O, Santos A. Contact endoscopy during microlaryngeal surgery: a new technique for endoscopic examination of the larynx. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995;104:333-339.

122. Andrea M, Dias O, Santos A. Contact endoscopy of the vocal cord: normal and pathological patterns. *Acta Otolaryngol* 1995;115:314-316.

123. Arens C, Malzahn K, Dias O, Andrea M, Glanz H. [Endoscopic imaging techniques in the diagnosis of laryngeal carcinoma and its precursor lesions]. *Laryngorhinootologie* 1999;78:685-691.

124. Andrea M, Dias O, Macor C, Santos A, Varandas J. Contact endoscopy of the nasal mucosa. *Acta Otolaryngol* 1997;117:307-311.

125. L'Estrange P, Bevenius J, Williams L. Intraoral application of microcolpohysteroscopy. A new technique for clinical examination of oral tissues at high magnification. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989;67:282-285.

126. Bealer SL, Smith DV. Multiple sensitivity to chemical stimuli in single human taste papillae. *Physiol Behav* 1975;14:795-799.

127. Smith DV. Taste intensity as a function of area and concentration: differentiation between compounds. *J Exp Psychol* 1971;87:163-171.

128. Kalmus H. Genetics of taste. In: Handbook of Sensory Physiology: Chemical Senses 2. L.M. Beidler, ed. Springer-Verlag. New York, 1971:165-179.

129. Murphy C. The effect of age on taste sensitivity. In: Special Senses in Aging: A Current Biological Assessment. S. Han and D. Coons, eds. Inst. of Gerontol., U. Michigan, Ann Arbor, pp. 21-33. 1979.

130. Schiffman S, Orlandi M, Erickson RP. Changes in taste and smell with age: Biological aspects. In: Sensory Systems and Communication in the Elderly. J.M. Ordy and K. Brizze, eds. Raven Press. New York, 1979:247-266.

131. Grzegorczyk PB, Jones SW, Mistretta CM. Age-related differences in salt taste acuity. *J Gerontol* 1979;34:834-840.

132. Snow JB, Jr. Clinical problems in chemosensory disturbances. *Am J Otolaryngol* 1983;4:224-227.

133. Boyce JM, Shone GR. Effects of ageing on smell and taste. *Postgrad Med J* 2006;82:239-241.

134. Doty RL, Shaman P, Applebaum SL, Giberson R, Siksorski L, Rosenberg L. Smell identification ability: changes with age. *Science* 1984;226:1441-1443.

135. Doty RL, Snow JB, Jr. Age-related alterations in olfactory structure and function. *Molecular neurobiology of the olfactory system* 1988:355-374.

136. Mistretta CM. Aging effects on anatomy and neurophysiology of taste and smell. *Gerodontology* 1984;3:131-136.

137. Hummel T, Hahner A, Witt M, Landis BN. [Examination of the sense of smell]. *Hno* 2007;55:827-837; quiz 838.

138. Mistretta CM, Baum BJ. Quantitative study of taste buds in fungiform and circumvallate papillae of young and aged rats. *J Anat* 1984;138 (Pt 2):323-332.

139. Bradley RM, Stedman HM, Mistretta CM. Age does not affect numbers of taste buds and papillae in adult rhesus monkeys. *Anat Rec* 1985;212:246-249.

140. Fukunaga A, Uematsu H, Sugimoto K. Influences of aging on taste perception and oral somatic sensation. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005;60:109-113.

141. Srur E, Stachs O, Guthoff R, Witt M, Pau HW, Just T. Change of the human taste bud volume over time. *Auris Nasus Larynx*;37:449-455.

142. Welge-Lussen A. Ageing, neurodegeneration, and olfactory and gustatory loss. *B-ENT* 2009;5 Suppl 13:129-132.

143. Plattig KH, Kobal G, Thumfart W. [The chemical senses of smell and taste in the course of life - changes of smell and taste perception]. *Z Gerontol* 1980;13:149-157.

144. Doty RL, Stern MB, Pfeiffer C, Gollomp SM, Hurtig HI. Bilateral olfactory dysfunction in early stage treated and untreated idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992;55:138-142.

145. Quinn NP, Rossor MN, Marsden CD. Olfactory threshold in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1987;50:88-89.

146. Baum BJ. Current research on aging and oral health. *Spec Care Dentist* 1981;1:105-109.

147. Weiffenbach JM. Taste and smell perception in aging. *Gerodontology* 1984;3:137-146.

148. Prutkin J, Fisher EM, Etter Let al. Genetic variation and inferences about perceived taste intensity in mice and men. *Physiol Behav* 2000;69:161-173.

149. Wockel L, Jacob A, Holtmann M, Poustka F. Reduced number of taste papillae in patients with eating disorders. *J Neural Transm* 2008;115:537-544.

150. Bartoshuk LM, Rifkin B, Marks LE, Bars P. Taste and aging. *J Gerontol* 1986;41:51-57.

151. Moore LM, Nielsen CR, Mistretta CM. Sucrose taste thresholds: age-related differences. *J Gerontol* 1982;37:64-69.

152. Cowart BJ. Relationships between taste and smell across the adult life span. *Ann N Y Acad Sci* 1989;561:39-55.

153. Murphy C, Gilmore MM. Quality-specific effects of aging on the human taste system. *Percept Psychophys* 1989;45:121-128.

154. Weiffenbach JM, Baum BJ, Burghauser R. Taste thresholds: quality specific variation with human aging. *J Gerontol* 1982;37:372-377.

6.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 mögliche Einteilung der Schmeckstörungen nach der neuen Leitlinie 12

Abb. 2 Skizze der Zunge mit eingezeichneten fPap (n =2), die über einen Zeitraum von 9 Tagen täglich untersucht wurden. 23

Abb. 3 Abbildung der Zunge mit dargestellten fPap (n=4) beider Probanden, die über 10 Wochen untersucht wurden. 24

Abb. 4 Skizze der Zunge mit den eingezeichneten und abgebildeten vier fPap mit 16 SK bei einem Patienten mit primären BMS und konsekutiver Schmeckstörung. 25

Abb. 5 Proband mit durch die Plexisglasscheibe herausgesteckter Zunge; (1) parabole Plexiglasscheibe; (2) Das Kontaktelement. (mit freundlicher Genehmigung von PD Dr. T. Just, Rostock)..... 26

Abb. 6 Referenzpapille mit einer schmetterlingsförmigen Gestalt..... 27

Abb. 7 Fungiforme Papille mit T-förmiger Anordnung der SK. Auf dem oberen Bild ist der maximale Durchmesser einer SK dargestellt, wobei auf dem unterem Bild deren Höhe zu sehen ist..... 29

Abb. 8 Ein Screenshot des Programms Amira mit einer in allen 3 Ebenen dargestellten Referenzpapille. Die 6 SK sind mit unterschiedlichen Farben markiert (oben rechts, A-F). Die Volumina der SK sind in der Tabelle dargestellt (oben rechts). 30

Abb. 9 Eine konfokale Laser-Scaning-Mikrophotographie der B-fPap mit 6 sichtbaren SK-Poren (gekennzeichnet ‚A' bis ‚F') auf ihrer Oberfläche (400 x 400 µm)..... 31

Abb. 10 Das durchschnittliche Volumen (±1 SE) der 6 SK (‚A' bis ‚F') der B-fPap, berechnet nach den Messungen der 9-tägigen Pilotuntersuchung..... 32

Abb. 11 Eine konfokale Laser-Scanning-Mikrophotographie einer T-fPap mit 4 sichtbaren SK- Poren (gekennzeichnet ‚A' bis ‚D') auf ihrer Oberfläche (400 x 400 µm) 33

Abb. 12 Das durchschnittliche Volumen (±1 SE) der 4 SK (‚A' bis ‚D') der T-fPap, berechnet nach den Messungen der 9-tägigen Pilotuntersuchungen. 34

Abb. 13 Eine konfokale Laser-Scaning-Mikrophotographie der X-fPap mit 5 sichtbaren SK- Poren (gekennzeichnet ‚A' bis ‚E') auf ihrer Oberfläche (400 x 400 µm) 35

Abb. 14 Eine konfokale Laser-Scaning-Mikrophotographie der E-fPap mit 3 sichtbaren SK-Poren (gekennzeichnet ‚A' bis ‚C') auf ihrer Oberfläche (400 x 400 µm) 36

Abb. 15 Das durchschnittliche Volumen (±1 SE) der 6 SK (‚A' bis ‚F') der B-fPap, berechnet nach den Messungen, die einmal pro Woche über 10 Wochen gemacht wurden. 37

Abb. 16 Das durchschnittliche Volumen (±1 SE) der 4 SK (‚A' bis ‚D') der T-fPap, berechnet nach den Messungen, die einmal pro Woche über 10 Wochen gemacht wurden. 38

Abb. 17 Das durchschnittliche Volumen (±1SE) der 5 SK (‚A' bis ‚E') der X-fPap, berechnet nach den Messungen, die einmal pro Woche über 10 Wochen gemacht wurden. 38

Abb. 18 Das durchschnittliche Volumen (±1 SE) der 3 SK (‚A' bis ‚C') der E-fPap, berechnet nach den Messungen, die einmal pro Woche über 10 Wochen gemacht wurden. 39
Abb. 19 Skizze der phänomenologischen Veränderungen der T-fPap. Auf der linken Abbildung ist der Ausgangszustand der T-fPap dargestellt; auf der mittleren Abbildung ist die Vergrößerung der SK und das Auftreten einer neuen SK zu sehen; die rechte Abbildung zeigt das Verschwinden derselben SK. 40
Abb. 20 Drei konfokale Laser-Scaning-Mikrophotographien der E-fPap. Links: Ausgangsform; mitte und rechts: zwei Variationen der Formveränderung der E-fPap 40
Abb. 21 Ergebnisse der Korrelationsanalysen zwischen Volumen der SK C der E-fPap und Durchmesser der E-fPap. Hier korroliert das Volumen der SK C mit dem Volumen der E-fPap 41
Abb. 22 Volumen (± 1 SE) der 3 Schmeckknospen (A-C) der fPap 1 separat (linke Zungenseite). 42
Abb. 23 Mittleres Volumen (± 1 SE) der 3 Schmeckknospen (A-C) der fPap 1 (linke Zungenseite). 43
Abb. 24 Volumen (± 1 SE) der 5 Schmeckknospen (A-E) der fPap 2 separat (linke Zungenseite). 44
Abb. 25 Mittleres Volumen (± 1 SE) der 5 Schmeckknospen (A-E) der fPap 2 (linke Zungenseite). 45
Abb. 26 Volumen (± 1 SE) der 3 Schmeckknospen (A-C) der fPap 3 separat (rechte Zungenseite). 46
Abb. 27 Mittleres Volumen (± 1 SE) der 3 Schmeckknospen (A-C) der fPap 3 (rechte Zungenseite). 47
Abb. 28 Volumen (± 1 SE) der 5 Schmeckknospen (A-E) der fPap 4 separat (rechte Zungenseite). 48
Abb. 29 Mittleres Volumen (± 1 SE) der 5 Schmeckknospen (A-E) der fPap 4 (rechte Zungenseite). 49
Abb. 30 Mittleres Volumen (± 1 SE) aller Schmeckknospen 49
Abb. 31 Ergebnisse der Korrelationsanalysen zwischen den Ergebnissen der Elektrogustometrie (EGM) und den Volumina der Schmeckknospen separat für die linke und rechte Seite. Auf beiden Seiten korrelieren die EGM-Ergebnisse und die Volumina der Schmecknospen (jeweils $P < 0,05$). 50

6.3 Tabellenverzeichnis

TABELLE 1 MITTLERER DURCHMESSER DER 4 FPAP ÜBER EINEN ZEITRAUM VON 10 WOCHEN 37
TABELLE 2 MESSPROTOKOLL 77

7 Thesen

1. Bislang können die Schmeckknospen eines Menschen nicht in vivo untersucht werden. Die einzige Möglichkeit, das periphere Schmeckorgan darzustellen, ist die chirurgische Entnahme von fungiformen Papillen und die histologische Aufarbeitung.

2. Aufgrund der Tatsache, dass nur etwa 50% der fPap Schmeckknospen tragen, erscheint dieses Vorgehen zur Abklärung von Schmeckstörungen im klinischen Alltag nicht sinnvoll.

3. Die digital-konfokale Laser Scanning Mikroskopie ist eine nichtinvasive Methode, mit der es möglich ist, u.a. Epithelien der Mundhöhle in vivo darzustellen. Im sogenannten Tiefenscan kommen zelluläre Strukturen zur Darstellung, die dem Querschnitt einer Schmeckknospe entsprechen.

4. Diese Methode sollte erstmalig zur in vivo Darstellung der Schmeckknospen eingesetzt werden. Hauptziel war hierbei die Morphologie der fPap und deren Schmeckknospen sowie die Volumenänderung derselben in vivo zu untersuchen.

5. Es wird erstmalig beschrieben, dass die Identifikation von Referenzpapillen es überhaupt ermöglicht, ein und dieselbe fungiforme Papille auf der Zunge über einen längeren Zeitraum zu untersuchen. Es handelt sich um Papillen, die entweder selbst eine charakteristische Form haben oder eine charakteristische Anordnung ihrer Schmeckknospen aufweisen.

6. Ein Oberflächenmapping, d.h. eine Kartierung der fungiformen Papillen, sowie die Identifikation von nicht-gustatorischen Papillen (fungiforme Papillen ohne Schmeckknospen) ist hierbei hilfreich.

7. Mittels spezieller Software (Amira®) wird erstmalig dargestellt, wie aus den seriellen Volumenscans der Referenzpapillen das Volumen der Schmeckknospen einer

fungiformen Papille gemessen werden kann. Diese Methode ist geeignet, um Volumenveränderungen im Zeitverlauf darzustellen.

8. Es wurden von 5 gesunden Probanden insgesamt 11 fungiforme Papillen mit insgesamt 43 Schmeckknsopen über einen Zeitraum von 8-10 Wochen gescannt und die Volumen der Schmeckknospen berechnet sowie zusätzlich mittels Software gemessen.

9. Die Volumina der Schmeckknospen bei den gesunden Probanden haben sich während des 10-wöchigen Untersuchungszeitraums unterschiedlich verändert. Die Volumina mancher SK nahmen zu oder ab, wohingegen die Volumina anderer Schmeckknospen nahezu unverändert blieben. Das Intervall zwischen zwei Volumenmaxima beträgt im Durchschnitt 3-5 Wochen.

10. Phänomene, wie die Vergrößerung einer einzelnen Schmeckknospe und deren anschließendes Verschwinden, das Auftreten neuer Schmeckknospen und Formveränderung der fPap sind bei den gesunden Probanden vereinzelt beobachtet worden.

11. Bei einem Patienten mit einer ipsilateralen Schmeckstörung ändert sich das Volumen der Schmecknospen über die Zeit im Vergleich zur gesunden Seite anders. Es ließ sich in der 6. und 8. Woche keine SK in den Referenzpapillen darstellen. Folglich können Seitendifferenzen in der Volumetrie hinweisend für Schmeckstörungen sein, insbesondere dann, wenn auch Seitendifferenzen in der Schmecktestung vorliegen.

12. Die Ergebnisse gesunder Probanden und eines Patienten geben einen ersten Hinweis, dass dieses methodische Vorgehen geeignet ist, morphologische Veränderungen des peripheren Schmeckorgans in vivo zu erkennen.

13. Die Laser Scanning Mikroskopie ist als neue in vivo-Methode geeignet, morphologische Veränderungen des peripheren Schmeckorgans zu erfassen. Rückschlüsse von Volumenänderungen über die Zeit auf das Ausmaß einer

Schmeckstörung sind allerdings nicht zulässig. Eine prospektive Studie mit Patienten mit Schmeckstörung ist erforderlich, um dieses zu untersuchen.

8 Anhang

8.1 Tabellen

Tabelle 2 Messprotokoll

Knospe / Datum		A	B	C	D	E	F
	Ø-Pore						
	Ø-Knospe						
	Höhe-Knospe						
	Ø-fPap						
	Volumen						
	Ø-Pore						
	Ø-Knospe						
	Höhe-Knospe						
	Ø-fPap						
	Volumen						
	Ø-Pore						
	Ø-Knospe						
	Höhe-Knospe						
	Ø-fPap						
	Volumen						
	Ø-Pore						
	Ø-Knospe						
	Höhe-Knospe						
	Ø-fPap						
	Volumen						
	Ø-Pore						
	Ø-Knospe						
	Höhe-Knospe						
	Ø-fPap						
	Volumen						

8.2 Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere an Eides Statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinn nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche kenntlich gemacht.
Ich versichere außerdem, dass ich keine andere als die angegebene Literatur verwendet habe. Diese Versicherung bezieht sich auch auf alle in der Arbeit enthaltenen Zeichnungen, Skizzen, bildlichen Darstellungen und dergleichen.

Die Arbeit wurde bisher keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch noch nicht veröffentlicht.

Ehab Srur

Rostock,