

Aus der Klinik für Hals- Nasen- Ohrenheilkunde

Direktor: Prof. Dr. Thomas Zahnert

Standardisierung gustatorisch ereigniskorrelierter Potentiale

DISSERTATIONSSCHRIFT

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus

der Technischen Universität Dresden

von

Franziska Broy

aus Döbrichau

Dresden 2015

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1.	Der Schmecksinn	1
1.1.1.	<i>Das periphere Schmeckorgan</i>	1
1.1.2.	<i>Die zentrale Verarbeitung von Geschmacksreizen</i>	5
1.2.	Klinische Prüfung von Schmeckstörungen	7
1.3.	Schmecktests.....	8
1.3.1.	<i>Psychophysikalische Schmecktests</i>	9
1.3.1.1.	8- Gläser- Methode	9
1.3.1.2.	Drei- Tropfen- Methode	9
1.3.1.3.	Schmeckoblaten	10
1.3.1.4.	Schmecktabletten	11
1.3.1.5.	Schmeckstreifen/ Taste strips	11
1.3.1.6.	Elektrogustometrie (EGM)	12
1.3.2.	<i>Elektrophysiologische Schmecktest</i>	13
1.3.2.1.	Ereigniskorreliertes Potential	13
1.3.2.2.	Gustatorisch evoziertes Potential.....	15
2.	Fragestellung/ Arbeitshypothese	17
3.	Material und Methoden	18
3.1.	Die Probanden.....	18
3.2.	Die Schmecklösungen	19
3.3.	Das Gustometer.....	19
3.4.	Die EEG- Aufnahme	20
3.5.	Die EEG- Analyse.....	21
3.6.	Ablauf.....	22
3.6.1.	<i>Pilotstudie</i>	22
3.6.2.	<i>Sitzung (a)</i>	23
3.6.3.	<i>Sitzung (b)</i>	24
4.	Ergebnisse.....	25
4.1.	Pilotstudie – Festlegung der Basiskonzentrationen der Schmecklösungen.....	25
4.2.	Sitzung (a) – Bestimmung der Verdünnung der Schmecklösungen für Sitzung (b).....	27
4.3.	Sitzung (b) – EEG- Registrierung.....	28
5.	Diskussion	35
5.1.	Allgemeine Testbedingungen.....	35

5.2.	Isointense Konzentration für die fünf Grundsckmeckrichtungen	35
5.3.	Hauptergebnisse aus Sitzung (b)	36
5.3.1.	<i>(1) Verarbeitung der Schmeckstimuli durch vier grundlegende elektrische Maps, (2) Beginn des Verarbeitungsprozesses unabhängig vom Geschmack, (3) geschmacksabhängige Weiterverarbeitung ab 370 ms</i>	36
5.3.2.	<i>(4) Quellenanalyse enthält primäre und sekundäre gustatorische Cortexareale, (5) Bestätigung des „posterior shifts“</i>	38
5.4.	Einfluss der Bildgebung auf die Ermittlung der Lokalisation des gustatorischen Kortexes ...	39
6.	Zusammenfassung.....	40
6.1.	Zusammenfassung in deutscher Sprache	40
6.2.	Zusammenfassung in englischer Sprache	42
7.	Abbildungsverzeichnis	46
8.	Tabellenverzeichnis	47
9.	Abkürzungsverzeichnis	48
10.	Literaturverzeichnis	50
11.	Anhang.....	57
11.1.	Einverständniserklärung	57
11.2.	Anamnesebogen	58
11.3.	Protokollblatt	61
11.4.	Evaluationsbogen der Pilotstudie.....	62
11.5.	Sniffin' Sticks- Erkennungstest	63
11.6.	Schmecktest mit Geschmacksprays, Taste strip- Test (Schmeckstreifentest 16'er)	64

1. Einleitung

1.1. Der Schmecksinn

Essen und Trinken gehören zu den Grundbedürfnissen eines Menschen. Eine entscheidende Rolle bei der Nahrungsaufnahme spielt dabei, wie das Essen oder Trinken schmeckt. Dabei muss die Sinnesqualität „Schmecken“ von dem in der Umgangssprache genutzten Begriff Geschmack abgegrenzt werden. Schmecken kann man süß, sauer, salzig, bitter und umami. Das Geschmackserlebnis hingegen ist zusätzlich beeinflusst durch das Aussehen, die Konsistenz und den Duft der Speise, die Stärke des Schmeckreizes oder das Alter und Geschlecht des Essenden. Der Geschmack an und für sich entsteht somit aus einem komplexen Erregungsmuster der Sinneszellen für Schmecken, Riechen und Sensorik. Heutzutage werden die fünf Grundschmeckrichtungen süß, sauer, salzig, bitter und umami unterschieden. Dabei dient süß zur Erkennung von Zucker und salzig zur Erfassung von Natrium – wichtige Stoffe für die Energiezufuhr und das Ionengleichgewicht. Sauer hingegen hat eine Warnfunktion vor unreifen oder verdorbenen Früchten, bitter wiederum weist auf pflanzliche Alkaloide oder andere giftige Stoffe hin (Kinnamon, 2012). Die Qualität umami (japanisch für wohlschmeckend) wurde erst vor hundert Jahren durch Kikunae Ikeda beschrieben (Ikeda, 1909). Umami charakterisiert den Geschmack von Na- L- Glutamat, ein Baustein von Proteinen (Kinnamon, 2009). Andere Geschmackserlebnisse, wie z.B. scharf oder metallisch, sind eine Mischung aus diesen fünf Schmeckqualitäten, einer retronasalen olfaktorischen Komponente oder einer trigeminalen Komponente.

1.1.1. Das periphere Schmeckorgan

Sinneszellen für das Schmecken sind in den sogenannten Geschmacksknospen zu finden. Dabei sind in einer Geschmacksknospe zwischen 15 – 1000 Geschmackssinneszellen anzutreffen. Die Geschmacksknospen wiederum sind in den Papillen auf der Zunge, der Schleimhaut der Wangen, Gaumen, Pharynx und Larynx verteilt (Müller & Kaupp, 2013). Schmeckrezeptoren finden sich nicht nur in Geschmacksknospen auf der Zunge, sondern auch in anderen Geweben wie z.B. im Verdauungstrakt (Iwatsuki, et al., 2012), Pankreas (Nakagawa, et al., 2009) oder im Epithel der Atemwege (Finger, et al., 2003; Tizzano, et al., 2010; (Deshpande, et al., 2010). Ihre Funktion in diesen Geweben ist an und für sich aber nicht das Schmecken. So sind z.B. Bitter- Rezeptoren auf den Zilien der Atemwege zur

Detektion irritierender Substanzen und zum Schutz über die Aktivierung des Hustenreflexes nützlich (Shah et al., 2009).

Auf der Zungenoberfläche eines Erwachsenen sind 15 – 30 Papillae foliatae (Blätterpapillen) mit je 50 – 100 Geschmacksknospen am hinteren Seitenrand der Zunge zu finden. 7 – 15 Papillae vallatae (Wallpapillen) mit je 100 – 150 Geschmacksknospen sind am Zungengrund lokalisiert. Mehrere hundert Papillae fungiformes (Pilzpapillen) mit je zwei – vier Geschmacksknospen sind auf der gesamten Zungenoberfläche verteilt. Die Papillae filiformes (Fadenpapillen), die auf der gesamten Zungenoberseite zu finden sind, tragen keine Geschmacksknospen (Frings & Müller, 2012). Kinder haben kleinere Papillae fungiformes als Erwachsene, dafür aber eine höhere Papillendichte und damit eine höhere Dichte an Geschmacksporen (Segovia et al., 2002). Mit dem Alter nimmt die Zahl der Geschmacksknospen über 3000 – 5000 im Erwachsenenalter bis auf ca. 2000 Stück beim älteren Menschen ab (Draguhn, 2010).

Die Geschmacksknospe ist aus modifizierten Epithelzellen, den Schmeckzellen, sowie aus Stützzellen und teilungsfähigen Basalzellen aufgebaut. Mit zwei Wochen hat die Schmeckzelle eine kurze Lebensdauer. Neue Sinneszellen werden aber durch die Basalzellen ständig regeneriert (Frings & Müller, 2012). Da die Schmeckzellen umgewandelte Epithelzellen sind, besitzen sie keine ableitenden Axone und zählen zu den sekundären Sinneszellen.

Abbildung 1: Geschmacksknospe (Draguhn, 2010)

Abbildung 2: *Verteilung der Papillen auf der Zunge und ihre Innervation (Draguhn, 2010)*

Die Schmeckzellen entsenden jeweils bis zu 50 Mikrovilli zur apikal gelegenen, flüssigkeitsgefüllten Geschmackspore (Porus), wo die Mikrovilli mit der Nahrung in Kontakt treten können. Die Mikrovilli dienen neben der Oberflächenvergrößerung v.a. der gustatorischen Signaltransduktion, da sie die Rezeptoren für die Geschmacksstoffe tragen (Müller & Kaupp, 2013).

Am basalen Pol der Sinneszellen befinden sich afferente Nervenfasern, die das Aktionspotential (AP) bilden und weiterleiten. Eine Sinneszelle kann dabei auf mehrere Axone und ihre Nachbarzellen wirken. Die Axone wiederum können Reize aus mehreren Sinneszellen aufnehmen, meist spezifisch für eine Geschmacksqualität (Draguhn, 2010).

Bei den Schmeckzellen unterscheidet man drei Typen: Die „Glia- ähnlichen“ Typ I-Zellen spielen eine unterstützende Rolle. Sie enthalten Enzyme, die das aus den Typ II-Zellen freigesetzte Adenosintriphosphat (ATP) abbauen (Bartel et al., 2006). Außerdem könnten Typ I-Zellen eine Rolle in der Transduktion von salzig spielen, da sie den epithelialen Natrium- Kanal ENaC exprimieren (Vandenbeuch et al., 2008). Typ II- Zellen sind die Rezeptorzellen, die G-Protein-gekoppelte Rezeptoren und die sekundären Signaltransduktionsmechanismen für bitter, süß und umami enthalten (Clapp et al., 2004; DeFazio, et al., 2006). Sie setzen ATP frei, welches P2X- Rezeptoren auf afferenten Nervenfasern (Finger, et al., 2005) und P2Y- Rezeptoren auf Nachbarzellen aktiviert (Huang et al., 2009; Hayatoet al., 2007). Die präsynaptischen oder Typ III- Zellen übertragen den

Stimulus sauer (Huang, et al., 2006; Huang et al., 2008) und antworten auf ATP, das aus Typ II-Zellen freigesetzt wird (Huang et al., 2009).

Die einzelnen Schmeckqualitäten bedienen sich verschiedener Transduktionsmechanismen. Dabei erfolgt die Chemotransduktion für salzig und sauer ionotrop, d.h. über Ionenkanäle. Die Transduktion von süß, bitter und umami hingegen findet metabotrop über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren und „second messenger“ statt. Das Ende des gustatorischen Signalweges in einer Schmecksinneszelle wiederum ähnelt sich. Nach der Depolarisation kommt es zur Erhöhung des intrazellulären Calciumspiegels und zur Freisetzung der Transmitter aus den Vesikeln. Diese Transmitter vermitteln an den afferenten Nervenfasern dann das AP.

Am häufigsten mit der Entstehung von dem Geschmack „salzig“ wird das Salz Natriumchlorid (NaCl) in Verbindung gebracht. Es dissoziiert in der Speichelflüssigkeit in Natrium- Ionen (Na^+) und Chlorid- Ionen (Cl^-). Das Na^+ -Ion strömt durch Na^+ - Kanäle der ENaC- Familie auf den Schmeckzellen in die Sinneszelle ein und depolarisiert diese damit. Das Cl^- Ion hingegen strömt vermutlich in die Stützzellen ein und überträgt von diesen über Gap-Junctions ihre Potentialänderung auf die Schmeckzelle. Aber auch andere Ionen wie z.B. Kaliumionen oder Sulfationen können einen Salzgeschmack auslösen, wobei die genauen Transduktionsmechanismen hierfür bis jetzt noch nicht bekannt sind (Kinnamon, 2012).

Bei der Auslösung des Geschmacks „sauer“ spielen Protonen (H^+) eine große Rolle. Bei erhöhter H^+ - Konzentration (und damit vermindertem pH-Wert) werden spezielle Kationenkanäle der sogenannten „transient receptor potential (TRP)“- Familie aktiviert. Durch die geöffneten Kanäle strömen v.a. Na^+ - Ionen und Calcium- Ionen (Ca^{2+}) in die Zelle und depolarisieren diese. Andererseits hemmen die H^+ spezielle Kaliumkanäle, wodurch die Kaliumleitfähigkeit dieser Kanäle sinkt und der Kaliumanstieg in der Zelle zur Depolarisation führt (Kinnamon, 2012).

Substanzen wie Zucker oder andere süßschmeckende Stoffe wie D-Aminosäuren können den Geschmack „süß“ über G- Protein- gekoppelte Rezeptoren auslösen. Auch umami und bitter werden über G- Protein- gekoppelte Rezeptoren vermittelt. Das für das gustatorische System spezifische G-Protein ist das Gustducin. Bei den G-Protein- gekoppelten Rezeptoren unterscheidet man auf molekularer Ebene T1- Rezeptoren (T1R) und T2-Rezeptoren (T2R). Die verschiedenen Kombinationen der T1R- Subtypen sind bei der Entstehung der Qualitäten süß und umami entscheidend. Der Geschmack „bitter“ wird hingegen über T2R vermittelt (Kinnamon, 2012).

T1R sind sogenannte C- Typ- Rezeptoren, die eine lange N-terminale Ligandenbindungsstelle besitzen. Der T1R wird in drei verschiedene Subtypen unterteilt:

T1R1, T1R2 und T1R3 (Max, et al., 2001; Montmayeur et al., 2001; Nelson, et al., 2001; Nelson, et al., 2002; Sainz et al., 2001). Ein Rezeptor ist nur als Heterodimer funktionsfähig. Die Rezeptoren für umami werden dabei aus T1R1 und T1R3 und die Rezeptoren für süß aus T1R2 und T1R3 gebildet. T2R zählen zu den A-Typ- Rezeptoren. Sie haben eine kurze N-terminale Domäne und binden den Liganden über extrazelluläre Schlingen oder transmembranöse Domänen. T2R sind als Monomere und als Oligomere funktionsfähig (Kuhn, et al., 2010). Sowohl T1R als auch T2R aktivieren den folgenden Signalweg in der Sinneszelle (Zhang, et al., 2003): Der Gβγ- Teil des Gustducin aktiviert die Phospholipase Cβ2 (PLCβ2) (Rossler et al., 1998), die das Membranlipid Phosphatidylinositol- 4,5-bisphosphat (PIP2) in die „second messenger“ 1,4,5-Inositol-trisphosphat (IP3) und Diacylglycerol spaltet. IP3 wiederum bindet an IP3- Rezeptoren von intrazellulären Ca⁺-Speichern und führt darüber zur Ca⁺- Freisetzung (Clapp et al., 2001; Miyoshi et al., 2001). Dieser Ca⁺- Anstieg intrazellulär vermittelt die Öffnung von dem Ca⁺- abhängigen selektiven Kationenkanal TRP- Kanal M5 (Perez, et al., 2002; Zhang et al., 2007). Es kommt zur Membrandepolarisation und Generierung eines APs (Vandenbeuch & Kinnamon, 2009; Yoshida, et al., 2009), sowie der Freisetzung von ATP aus der Sinneszelle.

1.1.2. Die zentrale Verarbeitung von Geschmacksreizen

Ist die Sinneszelle depolarisiert und hat ATP ausgeschüttet, dann kann darüber in einer am basalen Pol der Geschmacksknospe ansetzenden afferenten Nervenfaser ein AP gebildet werden. Dieses AP wird zum Hirnstamm und von da aus über den Thalamus in den primären und sekundären gustatorischen Cortex geleitet.

Am basalen Pol der Geschmacksknospen mit den Sinneszellen docken die afferenten Nervenfasern an, als sogenannte pseudounipolare Neuronen. Die Schmeckinformationen werden über die Hirnnerven VII (N. facialis), IX (N. glossopharyngeus) und X (N. vagus) weitergeleitet. Dabei versorgt der N. facialis über den Nervenast Chorda tympani die Papillen im vorderen Drittel der Zunge und über den N. petrosus majos ein Teil der Papillen am Gaumen. Der N. glossopharyngeus hingegen erreicht v.a. die Papillen am Zungengrund und z.T. an den Zungenseiten. Der andere Teil der Papillen am Gaumen sowie Papillen im Rachen versenden ihre Signale über den N. vagus. Die mechanischen, thermischen und reizenden Komponenten einer Speise werden v.a. über den N. trigeminus im vorderen Zungendrittel und über den N. glossopharyngeus und N. vagus im mittleren bzw. hinteren Drittel vermittelt (Draguhn, 2010).

Die erste Schaltstelle der oben genannten Hirnnerven und ihrer gustatorischen Signale liegt im ipsilateralen Ncl. tractus solitarius im dorsalen Anteil des Hirnstamms (Goto et al., 1983; Witt et al., 2003). Von dort aus geht es zum ventroposteromedialen und mediodorsalen Kern des Thalamus (Beckstead et al., 1980; Cavada et al., 2000). Noch immer wird diskutiert, ob die Neurone auf ihrem Weg vom Ncl. tractus solitarii zum Thalamus auf der ipsilateralen Seite verbleiben (Landis et al., 2006; Shikama, et al., 1996; Uesaka et al., 1998), ob sie zur kontralateralen Seite kreuzen (Fujikane et al., 1998; Lee et al., 1998; Onoda & Ikeda, 1999) oder ob sie sowohl ipsi- als auch kontralateral zum Thalamus führen (Aglioti et al., 2000).

Der Thalamus sendet die gustatorischen Signale direkt in den primär gustatorischen Kortex (PGC). In vielen Studien konnte die Inselrinde und das darüberliegende Operculum als PGC beschrieben werden (Kobayakawa, et al., 1996; Small et al., 1997a; Frey & Petrides, 1999; De Araujo et al., 2003a; De Araujo et al., 2003b; Schoenfeld, et al., 2004). Eine präzise Lokalisation innerhalb dieser Regionen steht noch immer aus (Veldhuizen, et al., 2011).

Die Identifikation des PGC innerhalb der Inselrinde wird u.a. durch die Heterogenität dieser in Funktion und Aufbau erschwert. Dabei spielen neben der eigentlichen Verarbeitung des gustatorischen Reizes nicht nur die thermischen (Craig et al., 2000; Guest, et al., 2007), somatosensorischen (Iannilli et al., 2008) und olfaktorischen Komponenten (Gottfried, 2010) eine Rolle, sondern auch die Intensität und Angenehmheit (Grabenhorst & Rolls, 2008; Grabenhorst et al., 2008) und die Qualität (Schoenfeld, et al., 2004) des Schmeckstimulus.

Auch die Bildgebungstechniken können durch ihre unterschiedlichen Auflösungsvermögen die präzise Lokalisation des PGC beeinflussen: Vorteil der Positronen- Emissions- Thomographie (PET) und der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) ist dabei eine gute räumliche Auflösung. Dies liegt u.a. daran, dass die PET und die fMRT hämodynamische und metabolische Veränderungen registrieren, die durch neuronale Aktivität entstehen. Dafür ist die zeitliche Auflösung dieser Bildgebungen geringer. Im Gegensatz dazu werden im Elektroenzephalogramm (EEG) und Magnetenzephalogramm (MEG) direkt die elektrischen bzw. magnetischen Felder, die durch den Schmeckreiz entstehen, abgeleitet und besitzen somit eine höhere zeitliche Auflösung.

Neben dem PGC kann ein Schmeckreiz weitere Areale im Gehirn aktivieren. Dazu zählt u.a. der sekundäre gustatorische Kortex. Dieser befindet sich bilateral im orbitofrontalen Kortex (Small et al., 1997a; De Araujo et al., 2003a; O' Doherty et al., 2001). Der orbitofrontale Kortex spielt eine Rolle bei Funktionen höherer Ordnung, wie Belohnung (O' Doherty et al., 2002; Felsted et al., 2010), Schmackhaftigkeit (Kringelbach et al., 2003) und Integration der

Schmeckinformation mit Riechinformationen (Small & Prescott, 2005; De Araujo et al., 2003c).

Bei der Präsentation von Schmeckstimuli kann auch die Amygdala aktiviert werden. Dabei ist die Amygdala von Bedeutung, wenn Hunger und Sättigungsgefühl (Haase et al., 2009) oder Belohnung und Schmackhaftigkeit der Nahrung (O' Doherty et al., 2001) mit in den Verarbeitungsprozess einspielen. Wie die Amygdala ist auch der pregenuale anteriore cinguläre Kortex mit der Inselrinde, dem darüberliegenden Operculum und dem orbitofrontalen Kortex verknüpft. Die Antworten im pregenualen anterioren cingulären Kortex korrelieren v.a. mit der Angenehmheit des Schmeckreizes (Grabenhorst & Rolls, 2008; Grabenhorst et al., 2008).

1.2. Klinische Prüfung von Schmeckstörungen

Die meisten Menschen nehmen den Schmecksinn als selbstverständlich an. Aber was, wenn der Schmecksinn nicht mehr funktioniert? Zum einen kann die Schmeckfähigkeit vermindert sein (Hypogeusie) oder vollkommen verloren gehen (Ageusie). Zum anderen kann ein Schmeckreiz als ein anderer Geschmack wahrgenommen werden (Parageusie) oder als ein anhaltender Geschmack interpretiert werden, ohne zu Grunde liegenden Schmeckreiz (Phantogeusie). Hypogeusie und Ageusie zählen zu den quantitativen Schmeckstörungen, die mit Hilfe von psychophysiologischen Schmecktests, wie dem Taste strip- Test, untersucht werden können. Oftmals werden quantitative Schmeckstörungen durch den Patienten selbst nicht wahrgenommen. So zeigt eine Studie von Welge- Lüssen et al., dass bei 5% der 761 getesteten Personen eine reduzierte Schmeckfunktion vorlag, die Teilnehmer aber ihre Schmeckfähigkeit als normal ansahen (Welge- Lüssen, et al., 2011). Parageusie und Dysgeusie sind qualitative Schmeckstörungen (Dysgeusie). Sie werden von den Betroffenen wahrgenommen, sind aber nicht messbar (Landis & Heckmann, 2014). Schmeckstörungen können nicht nur Folge von Erkrankungen sein, wie z.B. nach Schlaganfall (Nakajima et al., 2010), als paraneoplastisches Symptom (Marinella, 2008) oder nach Fraktur des Schläfenbeins (Landis & Guinand, 2009a). Sie können auch durch Gewichtsverlust oder verminderter Freude am Essen den Allgemeinzustand reduzieren und die Lebensqualität beeinflussen.

Zur Diagnostik der Schmeckstörungen zählen neben den Schmecktests zur Evaluation der Stärke des Schmeckdefizits auch die detaillierte Anamnese, neurologische, zahnärztliche und otolaryngologische Abklärung. Zusätzlich kann eine Bildgebung mittels MRT zum Ausschluss einer Neoplasie und Beurteilung der Hirnnerven erfolgen. Ebenso können

Laborwerte für Leber-, Nieren-, Schilddrüsenfunktion untersucht werden, wenn ein Anhalt für systemische Beteiligung gegeben ist (Landis & Heckmann, 2014).

Im Laufe der Jahre wurden verschiedene Testformen zur Evaluation des Schmecksinns entwickelt. Dabei ist die Suche nach einem objektivierenden Schmecktest, der universell anwendbar ist, noch nicht abgeschlossen. Der Vorteil eines objektivierenden Testverfahrens ist, dass unabhängig von den individuellen Eigenschaften der getesteten Person, wie Alter, kognitiven Eigenschaften oder emotionalen Verknüpfungen zu einem bestimmten Geschmack, allein die Schmeckfunktion getestet werden kann. So sind die bisher in der klinischen Routine genutzten Testverfahren stark von der Mitarbeit und der Fähigkeit der Patienten abhängig, welche z.B. bei Demenzerkrankten, Kindern oder gerichtsmedizinischen Beurteilungen eingeschränkt sein können.

Eine entscheidende Rolle in der objektivierenden Testung des Schmecksinns spielt die Beschreibung gustatorisch ereigniskorrelierter Potentiale (gEKPs) durch Kobal (Kobal, 1985).

In dem folgenden Kapitel werden neben den herkömmlichen, zurzeit im klinischen Alltag eingesetzten Schmecktests auch vereinzelt schon wieder verlassene Methoden der Schmecktestung beschrieben.

1.3. Schmecktests

Es gibt Schmecktests, die den gesamten Mund testen und welche, die nur bestimmte Regionen auf der Zunge testen. Vorteil eines regionalen Tests ist, dass die genaue Lokalisation der Dysfunktion ermittelt werden kann. Die Ganzmundtestung ermöglicht hingegen eine bessere Einschätzung über die Beeinträchtigung des Schmeckens im Alltag.

Es kann einerseits direkt mit chemischen Stimuli gereizt werden, andererseits kann mit Hilfe von elektrischen Stimuli ein Schmeckreiz gesetzt werden. Der Nachteil der chemischen Testsubstanzen ist, dass sie eine gewisse Haltbarkeitsgrenze haben. Der Vorteil gegenüber der elektrischen Stimulation ist, dass durch die Präsentation chemischer Reize die für die jeweilige Schmeckqualität adäquate Reizung über die jeweiligen Chemorezeptoren möglich ist (Ikui, 2002).

Zu den Tests für den gesamten Mund zählen u.a. die Methode nach Harris und Kalmus (Harris & Kalmus, 1949) und die Schmecktabletten von Ahne et al. (Ahne et al., 2000). Mit der Drei-Tropfen-Methode nach Henkin (Henkin et al., 1963), den Schmeckoblaten (Hummel et al., 1997) und Taste strips (Mueller, et al., 2003) ist sowohl eine Ganzmundtestung als

auch eine regionale Testung möglich. Die Elektrogustometrie (Krarup, 1958) ermöglicht eine präzise regionale Testung.

Alle oben genannten Verfahren benötigen die Mitarbeit vom Probanden, der getestet wird, da er dem Untersucher mitteilen muss, ob er etwas geschmeckt hat oder nicht bzw. was er geschmeckt hat (psychophysikalische Schmecktests). Gibt es auch ein Verfahren bei dem ohne Hilfe des Probanden die Reaktion auf einen Schmeckreiz mit Hilfe bestimmter Messwerte ermittelt werden kann (elektrophysiologische Schmecktests)? Ja, bei der Ermittlung von gEKP handelt es sich um ein solches elektrophysiologisches Verfahren (Kobal, 1985).

1.3.1. Psychophysikalische Schmecktests

1.3.1.1. 8- Gläser- Methode

Harris und Kalmus entwickelten 1949 eine Methode um die Wahrnehmungsschwelle für den Bitterstoff Phenylthioharnstoff zu ermitteln. Dazu wurden dem Probanden jeweils vier Gläser mit dem Schmeckstoff und vier Gläser mit reinem Wasser angeboten. Diese sollten dann in die Gruppen „Geschmack“ und „kein Geschmack“ eingeordnet werden. Wenn alle Gläser richtig zugeordnet wurden, wurde der Test mit einer geringeren Konzentration wiederholt, so lange bis nicht mehr alle acht Gläser richtig zugeordnet werden konnten. Die letzte Stufe, an der eine richtige Einteilung der Gläser erfolgte, wurde als Wahrnehmungsschwelle festgelegt. Die Reliabilität der Methode wurde getestet, indem der Proband einige Wochen nach der ersten Testung erneut geprüft wurde. Die Übereinstimmung gegenüber dem ersten Test war gut, in wenigen Fällen vermutlich durch den Lerneffekt verbessert (Harris & Kalmus, 1949).

Die Methode wies einige Nachteile auf: das Testen der vielen Becher senkte die Compliance des Probanden. Denn je besser sie schmeckten, desto mehr Becher mussten sie demzufolge testen, ehe die Schwelle gefunden wurde. Außerdem mussten die Schmecklösungen immer frisch zubereitet werden. Studien über die Anwendung der Methode von Harris und Kalmus für alle Schmeckrichtungen fehlten. Durch die Entwicklung neuer Testverfahren hat der Einsatz dieser Methode an Bedeutung verloren.

1.3.1.2. Drei- Tropfen- Methode

1963 beschrieb Henkin seine Drei-Tropfen-Methode für die Schmeckqualitäten salzig (NaCl, KCl, NaHCO₃), süß (Sucrose), bitter (Harnstoff) und sauer (HCl). Dabei wurden drei Tropfen

auf die Mitte der Zunge des Probanden gegeben, wobei ein Tropfen mit Geschmack und zwei geschmacklos waren. Bei korrekter Zuordnung des Tropfens mit Geschmack, wurde eine niedrigere Konzentration gewählt und der Test erneut durchgeführt. Als Wahrnehmungsschwelle wurde die Konzentration festgelegt, an der bei dreimaligem wiederholtem Testen mindestens zweimal der Tropfen mit Geschmack richtig erkannt wurde und bei geringerer Konzentration mindestens zweimal falsch geantwortet wurde (Henkin et al., 1963).

Nachteil ist, dass die Flüssigkeit sich über die ganze Zunge verteilt und so verdünnt wird, dass die quantitative Evaluation und Lokalisierung von Schmeckdefiziten schwer fällt (Mueller, et al., 2003). Der Versuch mit getränktem Filterpapier (Tomita et al., 1986) oder Wattestäbchen (Bartoshuk, 1989) die Flüssigkeit gezielt auf der Zunge zu platzieren wurde gemacht. Es blieb aber immer das Problem, dass die Testlösung frisch zubereitet werden musste und der Test einen hohen Zeitaufwand erforderte (Mueller, et al., 2003).

Trotzdem wird auch heute noch die Drei-Tropfen-Methode oft dazu genutzt, neue Testverfahren zu überprüfen und zu vergleichen. Gudziol und Hummel publizierten dafür zu dem Drei-Tropfen-Test altersabhängige Normwerte (Gudziol & Hummel, 2007).

2010 testeten Pingel et al. 944 gesunde Probanden um normative Daten für einen ähnlichen Lösungs-basierten Schmecktest zu erhalten. Dabei wurden Lösungen von sauer, salzig, bitter und süß in vier verschiedenen Konzentrationen hergestellt und jeweils nur ein Tropfen davon dem Probanden dargeboten, der den Geschmack benennen sollte. Mit einer Test-Retest- Reliabilität von 0.78 erzielte dieser Test einen besseren Wert als die Drei- Tropfen-Methode mit einer Test- Retest- Reliabilität von 0.67, den „Taste strips“ mit 0.68 und den Schmecktabletten mit 0.69 (Pingel et al., 2010; Mueller, et al., 2003; Ahne et al., 2000).

1.3.1.3. Schmeckoblaten

Auf der Suche nach Testmethoden für die Schmeckfunktion bei der keine flüssigen Substanzen sondern essbare Geschmacksträger verwendet wurden, entwickelten Hummel et al. 1997 sogenannte Oblaten mit Geschmack (Hummel et al., 1997).

Für das Screening der Schmeckfunktion wurden dünnen Oblaten genutzt, die aus Mehl und Wasser gefertigt und somit nahezu geschmacklos waren. Durch Versetzung des Teigs mit NaCl, Saccharin, Chininhydrochlorid oder Zitronensäure nahmen die Oblaten die verschiedenen Schmeckrichtungen an. Zuerst wurde das dünne Plättchen auf das vordere Drittel der Zunge gelegt und der Proband musste sagen, ob er süß, sauer, salzig, bitter oder gar nichts schmeckt („forced- choice“). Danach wurde die Zunge in den Mund genommen, die Oblate für 10 Sekunden gekaut und wieder der Geschmack bestimmt. Zwischen den

einzelnen Oblaten konnte der Proband den Mund mit Wasser spülen. Mit den Schmeckplättchen kann regional auf der Zunge oder auch den ganzen Mund getestet werden. Sie sind leicht zu handhaben und haben mit zwei – drei Jahren eine längere Haltbarkeit als flüssige Testlösungen (Hummel et al., 1997).

1.3.1.4. Schmecktabletten

Die längere Haltbarkeit fester Geschmacksträger gegenüber Flüssigkeiten erwies sich als ein großer Vorteil, woraufhin weiter nach anderen Möglichkeiten der Schmecktestung in dieser Richtung geforscht wurde.

2000 entwickelten Ahne et al. Schmecktabletten mit den Qualitäten salzig (NaCl), süß (Sucrose), bitter (Koffein) und sauer (Zitronensäure) in jeweils sechs Dosierungen sowie geschmacklose Tabletten. Die Tabletten wurden dem Probanden in einer randomisierten Reihenfolge angeboten und dieser musste den Geschmack identifizieren. Damit ein Vergleich zur herkömmlichen Drei-Tropfen-Methode möglich war, wurde die Schmeckfunktion des Probanden zusätzlich durch diese Methode geprüft. Die Schmeckwahrnehmungsschwellen, die per Tablette ermittelt wurden, waren höher als die der Drei-Tropfen-Methode. Eine mögliche Erklärung dafür wäre, dass die Tabletten erst durch den Speichel aufgelöst werden müssen, die Tropfen bereits flüssig sind (Ahne et al., 2000). Ein Nachteil der Schmecktabletten ist, dass nur der gesamte Mund und nicht einzelne Regionen auf der Zunge getestet werden können. Andererseits ist gerade die Testung des gesamten Mundes nützlich, wenn es darum geht alltägliche Schmeckerlebnisse zu bewerten (Ahne et al., 2000).

1.3.1.5. Schmeckstreifen/ Taste strips

„Taste strips“ sind Filterpapierstreifen, die in Lösungen mit Saccharose (süß), Zitronensäure (sauer), Natriumchlorid (salzig) oder Chininhydrochlorid (bitter) getaucht und danach getrocknet werden. Jeden Geschmack gibt es in vier verschiedenen Konzentrationen. Die Streifen werden in einer randomisierten Folge und in aufsteigenden Konzentrationen auf die Zunge gelegt. Der Proband muss daraufhin die Schmeckrichtungen wählen, die seiner Meinung nach dem Schmeckeindruck entspricht. Zwischen den einzelnen Teststreifen sollte der Mund mit einem Schluck Wasser gespült werden (Landis, et al., 2009b; Mueller, et al., 2003).

Eine ähnliche Idee hatten bereits Nishimoto et al. mit imprägnierten Streifen, die salzigen Geschmack imitieren sollten (Nishimoto et al., 1996). Da sie aber keinen identischen Test

für süß, sauer und bitter anbieten konnten, war der Test für den klinischen Einsatz nicht vollständig.

Vorteile der „Taste strips“ sind die lange Haltbarkeit, leichte Durchführung des Tests, kurze Testdauer und die Möglichkeit jede Zungenseite einzeln zu testen (Mueller, et al., 2003). 2008 entwickelten Smutzer et al. dann die ersten essbaren Taste strips (Smutzer, et al., 2008), die den weiteren Vorteil haben, dass die Streifen nach der Testung nicht entsorgt werden müssen.

Normwerte für sowohl Testung des gesamten Mundes, als auch für seitengetrennte Testung der Zunge mit Hilfe von „Taste strips“ wurden 2009 durch Landis et al. erhoben (Landis, et al., 2009b). Einen Einfluss auf die Bewertung des Schmeckens scheint auch die Art der Präsentation der „Taste strips“ zu haben. Neusten Studien zu Folge sollten die Schmeckstreifen quer über das vordere Drittel der ausgestreckten Zunge gestrichen werden, um sowohl die Exaktheit als auch die Intensität zu optimieren. Ein geschlossener Mund reduziert die Fehlerfreiheit (Manzi & Hummel, 2014). Damit eine statistische Signifikanz sichergestellt wird, müssen weitere Studien mit einer größeren Kohorte folgen.

1.3.1.6. Elektrogustometrie (EGM)

Neben der chemischen Stimulation der Zunge zur Erzeugung von Schmeckwahrnehmungen gibt es auch eine Methode, um mit elektrischen Stimuli Schmeckreize auszulösen.

Der elektrische Geschmack wurde 1754 das erste Mal von Sulzer erwähnt (Krarup, 1958). Aber erst 1958 wurde das erste Elektrogustometer durch Krarup beschrieben. Dafür nutzte er eine Apparatur mit einer differentiellen Elektrode, die auf die Zunge gesetzt wurde, und einer indifferenten Elektrode, die am Handgelenk befestigt werden konnte. Dabei stellte Krarup fest, dass der Geschmack durch Stimulation mit der Anode sauer- metallisch war und eine geringere Reizstärke bedarf als bei Stimulation mit der Kathode, die eher eine komplexe uncharakteristische Reaktion hervorrief. Das war die Grundlage dafür, dass er die Anode zur differentiellen Elektrode erklärte (Krarup, 1958). Bujas und Chweitzer vermuteten, dass der Unterschied daher kommt, dass die Anode zur Freisetzung von H^+ - Ionen und damit zum sauren Geschmack führt, wohingegen die Kathode direkt die Schmeckzellen stimuliert (Bujas & Chweitzer, 1934).

In verschiedenen Studien konnte bei anodischer Stimulation saurer, salziger oder metallischer Geschmack und bei kathodischer Stimulation bittere, süße, metallische, saure, salzige Empfindungen ausgelöst werden. Zusätzlich wurden somatosensorische Sensationen wie Brennen, Prickeln oder Summen wahrgenommen (Bujas & Mayer, 1977).

Doch wie viel Einfluss hat die sensomotorische Reizung des N. trigeminus auf die Schmeckwahrnehmung über den N. facialis? Es ist immer noch ungeklärt, in welchem Ausmaß die elektrogustometrische Stimulation der Zunge trigeminale Nervenbündel zusätzlich zur Chorda tympani, einem Ast des Nervus facialis, aktiviert (Ohla et al., 2009). Es sind über 5 $\mu\text{A}/\text{mm}^2$ notwendig um eine trigeminale Antwort sicher auszulösen, aber schon bei Reizung mit mehr als 50 μA kann das Signal durch trigeminale Beteiligung beeinflusst werden (Stillman et al., 2003). Ein weiterer Nachteil der EGM ist, dass es nicht möglich ist, die einzelnen Schmeckqualitäten zu testen. Trotzdem hat die EGM klinisch in der Testung der Schmeckschwelle seinen Platz gefunden, da sie Schmeckdysfunktionen identifizieren kann, einfach zu handhaben ist und mit weniger Kosten verbunden ist (Ohla et al., 2009). Die elektrogustometrische Stimulation kann ebenso zur objektivierenden Schmecktestung verwendet werden, indem nach elektrischer Stimulation der Zunge das entsprechende ereigniskorrelierte Potential abgeleitet wird.

1.3.2. Elektrophysiologische Schmecktest

Die größte Aufmerksamkeit bei der Suche nach einem elektrophysiologischem Schmecktest gilt dem gustatorisch ereigniskorrelierten Potential (gEKP). Durch Applikation einer Schmecklösung oder durch elektrische Stimulation können dieses Potential bzw. gustatorisch- evozierte Felder ausgelöst werden und mit Hilfe von EEG oder MEG nicht-invasiv aufgenommen werden.

Um eine objektive Beurteilung des reinen Schmeckreizes zu erhalten, müssen die olfaktorischen und sensiblen Einflüsse, wie Temperatur- oder Berührungsempfindungen, bei der gustatorischen Testung soweit es geht minimiert werden.

1.3.2.1. Ereigniskorreliertes Potential

Ereigniskorrelierte Potentiale (EKPs) sind Spannungsänderungen, die vor, während oder nach einem sensorischen, motorischen oder psychischen Ereignis als Antwort des Gehirns im EEG messbar sind (Rösler, 1982).

In der klassischen Einteilung unterscheidet man zwischen exogenen (von außen erzeugte) und endogenen (von innen erzeugten) Komponenten des EKPs (Donchin et al., 1978). Dabei sind die exogenen Komponenten allein von den physikalischen Eigenschaften des Reizes, wie der Reizintensität, Reizdauer oder Reizdarbietung, abhängig. Endogene Komponenten hingegen können durch psychische Einflüsse, wie Aufmerksamkeit, Gedächtnisspanne oder anderen Eigenschaften des Organismus, moduliert werden. Eindeutig exogene

Komponenten sind die frühen Potentiale. Ab 50 ms spielen immer endogene Anteile eine Rolle (Seifert, 2005). Neben der kürzeren Latenz zeigen die exogenen Komponenten meist eine reizspezifische Topographie, die endogenen hingegen haben eine eher unspezifische topographische Verteilung (Stöhr et al., 1995).

Typische exogene Komponenten sind die evozierten Potentiale (EP). Klinisch in Gebrauch sind davon häufig akustische EPs, somatosensorische EPs und visuelle EPs. Die Bedeutung von olfaktorischen EPs und gEKPs nimmt nicht nur in der Forschung zu.

Die Komponenten des EKP können beschrieben werden durch die Polarität der Auslenkung (P = positiv, N = negativ), ihre Position in der Sequenz (P1 = erster positiver Peak, N1 = erster negativer Peak), die Latenz (P300 = positive Auslenkung 300ms nach Stimulus) und Dauer des Potentials, die Amplitude und die Topographie (Seifert, 2005).

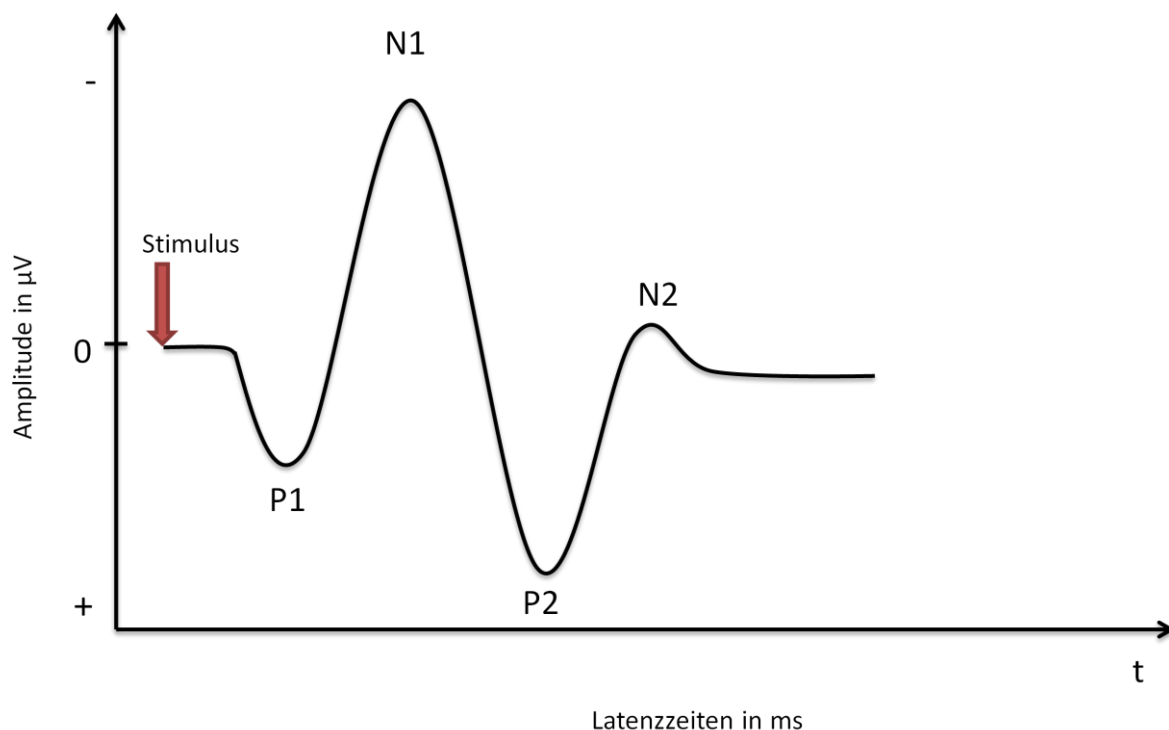


Abbildung 3: Schematische Darstellung eines evozierten Potentials

EKPs werden über die Kopfhaut mittels EEG abgeleitet. In vielen Fällen variiert die Spannungsänderung zwischen ca. 1 - 15 μV . Häufig wird ein EKP von spontanen EEG-Schwankungen (200 μV) überlagert. Deshalb wird eine Mittelung (Averaging) durchgeführt. Der gleiche Reiz wird mehrmals wiederholt, wobei das Gehirn darauf immer zur gleichen Zeit nach Stimulusbeginn eine Antwort zeigt, das Störsignal aber immer unterschiedlich verteilt ist. Eine Mittelung reduziert den Signal-Rausch-Abstand, das Spontan-EEG wird vermindert und die spezifische kortikale Reaktion wird erkennbar (Seifert, 2005).

1.3.2.2. Gustatorisch evoziertes Potential

gEKPs sind Potentiale, die nach Präsentation eines Schmeckreizes im Gehirn auftreten.

Die Geschichte der gEKPs ist relativ jung. Sie begann im Jahre 1971 als Funakoshi und Kawamura Schmeckstoffe auf die Zunge von Probanden tropften und Potentiale mittels EEG ableiteten. Den ersten Teil des Potentials führten sie auf den taktilen Reiz zurück, den zweiten positiven Teil nannten sie gustatorisch evoziertes Potential. Diese Potentiale konnten für sauer und salzig, jedoch nicht für bitter und süß nachgewiesen werden (Funakoshi & Kawamura, 1971). Potentiale dieser Art waren weder in weiteren Studien von Schaupp (Schaupp, 1971) und Bujas (Bujas, 1980) reproduzierbar, noch glichen sie in ihrem Muster anderen sensorisch evozierten Potentialen. Da der Einfluss von Augenbewegungen, Hautresistenz, mechanischer und thermischer Stimulation vernachlässigt wurden, beruhten die ausgelösten Potentiale nicht nur auf der gustatorischen Stimulation und sind deswegen keine reinen gEKPs.

Weitere Versuche gEKPs zu gewinnen basierten auf elektrischer Stimulation der Zunge (Plattig, 1969). Aber auch hier konnte eine taktile Beeinflussung nicht ausgeschlossen werden (Schaupp, 1971; Bujas, 1980).

Der erste sichere Nachweis von gEKPs gelang Kobal 1985 (Kobal, 1985). Dabei wurden Schmeckstoffe in gasförmiger Konsistenz als Stimuli verwendet. Diese Schmeckstoffe wurden in einen konstanten Luftstrom mit kontrollierter Temperatur (36,5°C) und Feuchtigkeit gepulst eingegeben, um so den taktilen Reiz auf der Zunge zu minimieren. Parallel leitete Kobal ein EEG nach dem 10/20 – System (Referrenz A1) und die Hautresistenz ab. Als Ergebnis konnte er ein für evozierte Potentiale typisches Muster mit initialer positiver Auslenkung (nach 302 ms, P300), einer negativen Auslenkung nach einer Latenz von 410 ms (N410), eine zweite positive Auslenkung (P660) und einer späten negativen Auslenkung (N860) aufnehmen. Des Weiteren fand Kobal heraus, dass die Latenz mit höherer Konzentration des Schmeckreizes abnimmt und die Amplitude und die Größe des erregten Areals zunimmt. Die maximale Amplitude war über Position der Elektrode Cz ableitbar (Kobal, 1985).

In einer Studie von Mizoguchi et al. wurden gEKPs gleichzeitig mit gustatorisch- evozierten magnetischen Feldern aufgezeichnet und verglichen. Dabei bestätigten sich Kobals Beschreibungen von P1 (nach 127 ms), N1 (nach 263 ms) und P2 (nach 432 ms) als Komponenten des gEKPs und auch die maximale Potentialamplitude in Cz konnte nachgewiesen werden (Mizoguchi et al., 2002).

In den folgenden Jahren wurden weitere Verfahren entwickelt, um den taktilen sowie den thermischen Reiz, andere Störgrößen und Adaption an den Schmeckreiz zu minimieren.

Allen voran entwickelte die Firma Burghart Medizintechnik das Gu001 Gustometer (2009), von dem bereits der Nachfolger das Gu002 Gustometer (2010) auf dem Markt ist.

Einige der ersten gEKPs, die mit dem Gu002 Gustometer ausgelöst wurden, beschrieben Singh et al. (Singh et al., 2011):

Es stellte sich ein signifikanter Größenunterschied der Amplituden P1N1 ($p = 0.036$) und N1P2 ($p = 0.004$) bei einer Stimulation mit salzig gegenüber umami dar, wobei salzig eine höhere Amplitude provozieren konnte. Die größten Amplituden für P1N1 und N2P1 für umami und salzig konnten an der Position Pz gefunden werden. Weitere Aktivitäten für salzigen Geschmack zeigten sich im frontalen Cortex, für umami im zentralen Cortex (Singh et al., 2011). Dass die verschiedenen Schmeckqualitäten unterschiedliche Gehirnareale aktivieren können, zeigen vorangegangene Studien: „sauer“ aktiviert im Vertex (Kobal, 1985), „süß“ hingegen konnte keine Aktivität im zentralen Sulcus zeigen (Kobayakawa, et al., 1999). Diese Studienergebnisse deuten bereits an, dass die Verarbeitung gustatorischer Reize eine unterschiedliche räumliche Verteilung aufweisen könnte. Im Vergleich konnten in der rechten Hemisphäre größere Antworten registriert werden als in der linken Hemisphäre. Die Konzentration des Schmeckstimulus zeigte keinen signifikanten Effekt ($p < 0.04$) auf Amplitude und Latenz des gERPs. Auch zwischen den Geschlechtern waren keine signifikanten Unterschiede zu erkennen, wobei die Frauen jedoch zu einer höheren Amplitude P1N1 ($p = 0,078$) und N1P2 ($p = 0,093$) tendierten als Männer (Singh et al., 2011)

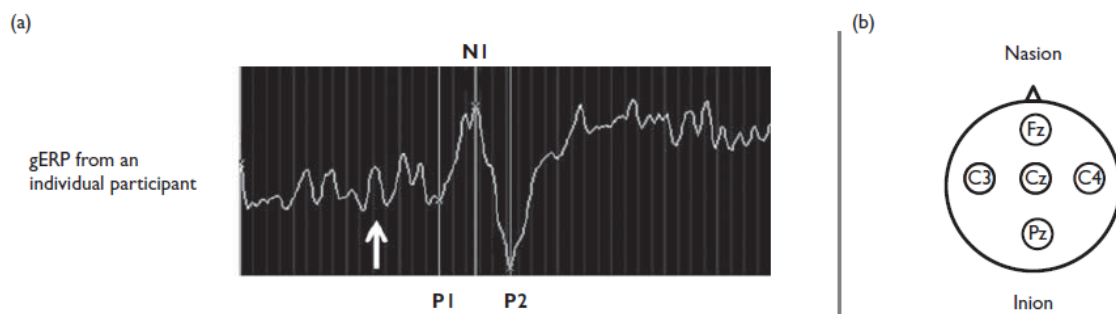


Abbildung 4: Beispiel eines aufgenommenen gEKPs

(a) Beispiel eines gERPs eines Probanden, das bei der Stimulation mit salzig an Position Cz/ A1+A2 aufgenommen wurde. Zu beachten ist die inverse Polarität bei der negativ (N) nach oben zeigt. (b) Schematische Darstellung der EEG- Aufnahmepunkte (Singh et al., 2011).

2. Fragestellung/ Arbeitshypothese

Für die objektivierende Bewertung der Geschmacksfunktion hat sich im klinischen Alltag noch kein Standardtestverfahren etablieren können. Bisher basiert die Bewertung von Geschmacksstörungen auf einer ausführlichen Anamnese und verschiedenen psychophysiologischen Tests (Schuster et al., 2009). Vorteile dieser Tests sind, dass sie schnell und einfach zu handhaben sind. Nachteile hingegen sind, dass sie nur bei kooperativen Patienten und Patienten, die detailliert und verlässliche Auskunft geben können, durchgeführt werden können. Diese psychophysiologischen Tests sind insbesondere in speziellen klinischen Situationen, wie bei Patienten mit Demenz oder Kindern, aber auch bei der gerichtsmedizinischen Beurteilung von Patienten problematisch.

Unter verschiedenen objektivierenden Methoden zur klinischen Bewertung von Beeinträchtigungen des Geschmackssinnes gilt als der beste Anwärtler das gEKP, das eine Art Antwort des Gehirns auf sensorische - hier gustatorische - Reize repräsentiert und aus dem von der Kopfhaut abgeleiteten EEG gewonnen wird. Dabei stand im Mittelpunkt dieser Studie die Ermittlung optimaler Lösungskonzentrationen der fünf Grundschmeckrichtungen für die gustometrische Diagnostik, v.a. im Hinblick auf die Gewinnung dieser gEKPs. Weiterhin bestand die Frage, ob diese gEKPs sich in ihren räumlich- zeitlichen Eigenschaften zwischen den Schmeckrichtungen unterscheiden.

3. Material und Methoden

Ziel der Studie war es die optimale Lösungskonzentration für die fünf Grundgeschmacksrichtungen zu finden, insbesondere in Hinblick auf die Gewinnung von gEKPs.

Dazu wurden 30 gesunde, junge Probanden mit definierten Ein- und Ausschlusskriterien getestet. Die Studie unterteilte sich in drei Teile: eine Pilotstudie, in der die Basiskonzentrationen für Sitzung (a) ermittelt wurden; Sitzung (a), in der die Ermittlung der schlussendlich in Sitzung (b) eingesetzten Verdünnungen stattfand; Sitzung (b) mit Aufzeichnung der EEGs.

3.1. Die Probanden

An der Studie nahmen 30 gesunde, junge Probanden teil. Die 15 männlichen und 15 weiblichen Probanden waren zwischen 18 und 28 Jahre alt. Der Altersdurchschnitt lag bei 23 Jahren (s.d. = 2,1). Ein- und Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie sind in der nachfolgenden Tabelle 1 dargestellt.

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none">- mindestens 18 Jahre alt- normales Riech- und Schmeckvermögen- Rechtshändigkeit- Nichtraucher- normaler Body- Mass- Index	<ul style="list-style-type: none">- gesundheitliche Beeinträchtigungen, die die olfaktorische oder gustatorische Funktion stören können- ausgeprägte chronische Entzündungen, Vor- bzw. Begleiterkrankungen im Hals-Nasen-Ohren- Bereich- Schwangerschaft

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien

Im Rahmen des Einführungsgesprächs haben die Probanden einen Anamnesebogen ausgefüllt, wurden über Ziele und Ablauf der Studie informiert und haben ihre freiwillige Teilnahme per Unterschrift bestätigt.

Für die Teilnahme an der Studie mussten die Teilnehmer ein normales Riech- und Schmeckvermögen vorweisen. Die olfaktorische Funktion wurde dazu mittels Sniffin' Sticks-Test geprüft (Normbereich: > 12/ 16 Punkten). Zur Ermittlung der gustatorischen Funktion wurden Geschmackssprays (süß, sauer, bitter, salzig und umami) und Taste strips (Normbereich: > 12/16 Punkten) verwendet. Alle Probanden, die in die Studie

eingeschlossen wurden, haben sowohl im Riechen als auch im Schmecken Werte im Normbereich erzielt.

3.2. Die Schmecklösungen

Als Stimuli wurden wässrige Lösungen mit Geschmack verwendet. Für salzig wurde Natriumchlorid (NaCl , Molekulargewicht 58,44 g/mol), für süß Saccharin ($\text{C}_7\text{H}_5\text{NO}_3\text{S}$, Molekulargewicht 183,18 g/mol), für sauer Zitronensäure ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\text{H}_2\text{O}$, Molekulargewicht 210,14 g/mol), für bitter Chininhydrochlorid ($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2\text{HCl}$, Molekulargewicht 324,17 g/mol) und für umami Natriumglutamat ($\text{MSG} = \text{C}_5\text{H}_8\text{NNaO}_4\text{H}_2\text{O}$, Molekulargewicht 187,13g/mol) (Aldrich-Chemistry – Steinheim) aufgelöst in Wasser zur Herstellung von Injektionslösungen (Aqua ad injectabilia. Braun – Melsungen) genutzt.

Die Lösungen für süß und umami wurden alle zwei Tage erneuert, die für sauer, salzig und bitter alle sieben Tage. Über Nacht wurden die Testlösungen im Kühlschrank gelagert.

3.3. Das Gustometer

In dieser Studie fand das Gustometer GU002/GM5 von Burghart Messtechnik Verwendung.

Das Gustometer ist ein Gerät, mit dem mittels Präsentation wässriger Lösungen der Schmecksinn getestet werden kann.

Das Gerät gibt gepulst Sprühstöße von Flüssigkeiten, die über ein Schlauchsystem zum Gustometerausgang - einer Art Düse - gelangen, auf die Zunge des Patienten. Die Darbietung der Lösung durch Aufsprühen der Flüssigkeit soll den taktilen Stimulus minimieren. Durch die gepulsten Sprühstöße ist eine klare Trennung zwischen Stimulation mit Schmecklösung und Wasser möglich. Durch die hohe Frequenz kann die Zunge während des gesamten Experimentes feuchtgehalten werden. Um die thermische Stimulation so gering wie möglich zu halten, werden die Lösungen auf 37°C (innere Körpertemperatur) erwärmt, ehe sie auf die Zunge gesprüht werden. Durch Minimierung der mechanischen und thermischen Stimulation kann so nahezu von einer rein gustatorischen Stimulation der Zunge bei Präsentation der Schmecklösung ausgegangen werden.

Als Testlösungen können alle Flüssigkeiten verwendet werden, die in ihrer Viskosität Wasser gleichen. Je nach Art des Gustometers können bis zu fünf Schmecklösungen getestet werden. Diese können dabei gleichzeitig oder nacheinander präsentiert werden. Außerdem kann die Konzentration der Schmecklösungen durch Mischen mit Wasser zw. 1 – 100% variieren.

Über eine unterstützende Computersoftware können Einstellungen wie die Konzentration, Pulsdauer, Interstimulusdauer oder die Reihenfolge der Testlösungen gesteuert werden. Gleichzeitig ist es möglich diese Daten zu speichern und zu einem späteren Zeitpunkt wieder aufzurufen, wodurch eine Wiederholung der Versuchsreihe vereinfacht wird (Burghardt Messtechnik).

In Sitzung (a) und (b) wurden dem Probanden die Schmeckreize mit Hilfe dieses computergesteuerten Gustometers (GU 002, Burghart, Wedel) dargeboten. Während der Sitzungen saß der Proband bequem und sein Mund war auf Höhe des Gustometerausgangs. Die Zungenspitze wurde während des gesamten Experiments herausgestreckt und mit der Testlösung bzw. Wasser durch besprüht (**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**).

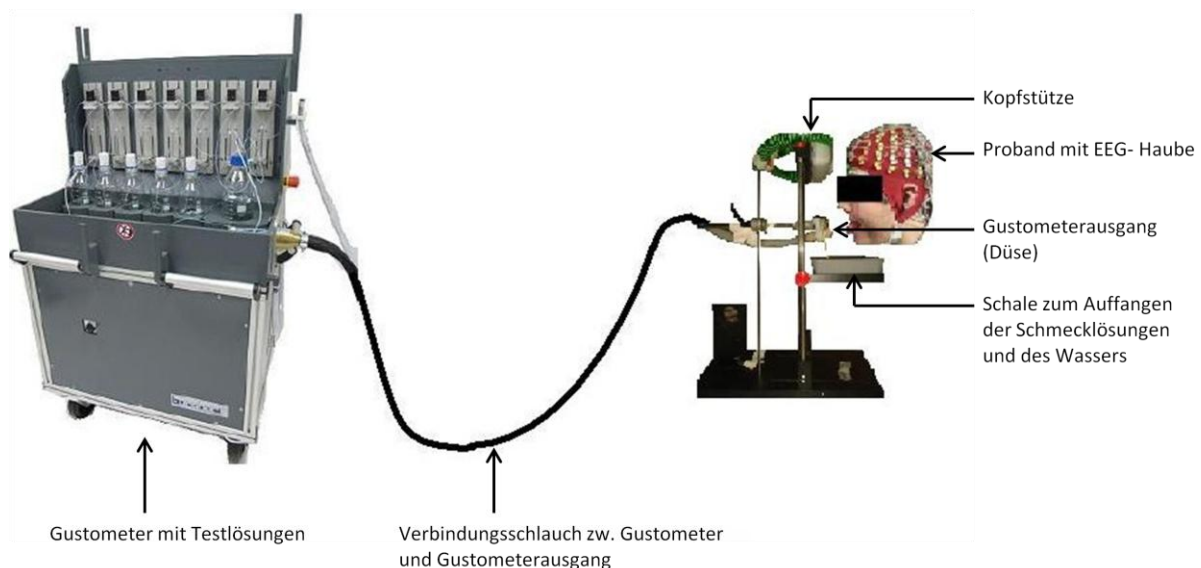


Abbildung 5: Experimentelles Setup Sitzung (a) und (b)

3.4. Die EEG- Aufnahme

Für die Aufnahme der gEKPs wurden dem Probanden in Sitzung (b) 128 Elektroden (Ag-AgCl active- electrodes, BioSemi, Amsterdam, NL) über eine Elektrodenhaube (BioSemi-CAP) in Standard 10/20- Positionen angelegt. Die Größe der Haube wurde je nach Kopfumfang zwischen MS (52-56cm), M (54-58cm) und ML (56-60cm) gewählt. Vier externe Elektroden wurden supra- und infraorbital bzw. auf der Nasenspitze angebracht, um vertikale und horizontale Augenbewegungen aufzunehmen (Elektrookulogramm). Zusätzlich wurden zwei weitere externe Elektroden an den Ohrläppchen und zwei auf den Mastoiden

angebracht. Zur Maximierung der Leitfähigkeit und Minimierung der Impedanz an der Elektrode wurde ein Elektrodengel verwendet (Signa gel—Parker laboratories, Inc. Fairfield, USA). Jeder Kanal wurde verstärkt (BioSemi Active Two AD-box) und über eine optische Faser zu einem USB2 Receiver (BioSemi) geschickt, der mit einem PC verbunden war. Schlussendlich wurden die Daten mittels einer Aufnahme- Software (BioSemi ActiveView 605) registriert und gespeichert. Die Abtast- Frequenz des Signals wurde mit 512 Hz festgelegt. Der Triggerzeitpunkt durch den Geschmacksreiz wurde parallel zu den Elektrodenaufnahmen registriert.

3.5. Die EEG- Analyse

Die EEG-Aufzeichnungen wurden mit Hilfe von dem Computerprogramm Cartool 3.51 (Denis Brunet) ausgewertet.

Vor der Ermittlung der eigentlichen gEKPs wurden die EEG- Rohdaten vorbearbeitet.

Im sogenannten Mittlungsprozess (Averaging) wurden die Aufnahmen gefiltert (low pass: 15Hz, high pass: 0,1 Hz) und zeitlich begrenzt (auf 200 ms vor dem Stimulus bis 1000 ms nach dem Stimulus). Danach folgte die Elimination von Artefakten durch visuelle Inspektion aller EEG- Daten.

Aus den bearbeiteten EEG- Daten konnte nun der „Grand Mean- Wert“ (GM) berechnet werden. Der GM ist der Mittelwert aller Mittelwerte einer Elektrode aller Probanden.

Neben dem GM konnten auch die „Global Field Power“ (GFP) und die „Microstate“- Segmentierung durch die Cartool- Software ermittelt werden.

Bei der Analyse eines topographischen Verteilungsmusters lag die Annahme zu Grunde, dass die Aktivität und mit ihr das elektrische Feld nicht wahllos wechseln, sondern für eine bestimmte Zeit in einer stabilen Konfiguration verharrt. Diese stabilen Phasen reflektieren jeweils einen Schritt in dem neuronalen Verarbeitungsprozess. Lehmann et al. beschrieben diese Erscheinung als „functional microstates“ (Lehmann, 1971; Lehmann et al., 1987). Funktionelle Microstates repräsentieren die Grundsteine der Informationsverarbeitung, die „Atome der Gedanken“ (Lehmann et al., 2009). Im Hinblick auf gEKPs bedeutete das, dass jedes nachfolgende Microstate einen Schritt weiter in der Verarbeitung von der Wahrnehmung des Geschmacksreizes zur Erkennung bedeutet. Wird ein funktionelles Microstate instabil, folgt ein neues Microstate, welches wiederum für gewisse Zeit stabil ist.

Das Ergebnis der Microstate- Segmentierung wird unter der GFP- Kurve farbcodiert dargestellt, wobei jede Farbe eine eigene Map präsentiert (Brunet et al., 2011).

Die GFP ist eine Messgröße, die einem erlaubt die Stärke des elektrischen Feldes, welches von der Kopfhaut abgeleitet wird, zu quantifizieren. Die GFP ist die Standardabweichung der

Potentiale aller Elektroden zu einer gemittelten Referenz- Map. Eine hohe GFP ergibt sich aus prominenten Spitzen und Tälern des elektrischen Feldes auf der Kopfhaut (Brunet et al., 2011).

3.6. Ablauf

Das Experiment wurde in zwei Sitzungen eingeteilt: (a) psychophysikalische Bewertung der Intensität bei Präsentation der Geschmackslösung mit dem Gustometer und Training; (b) EEG- Aufnahmen von gEKPs.

Dem Experiment geht eine Pilotstudie voraus, in der die Konzentrationen für die Schmecklösungen ermittelt wurden, die in Sitzung (a) Verwendung fanden.

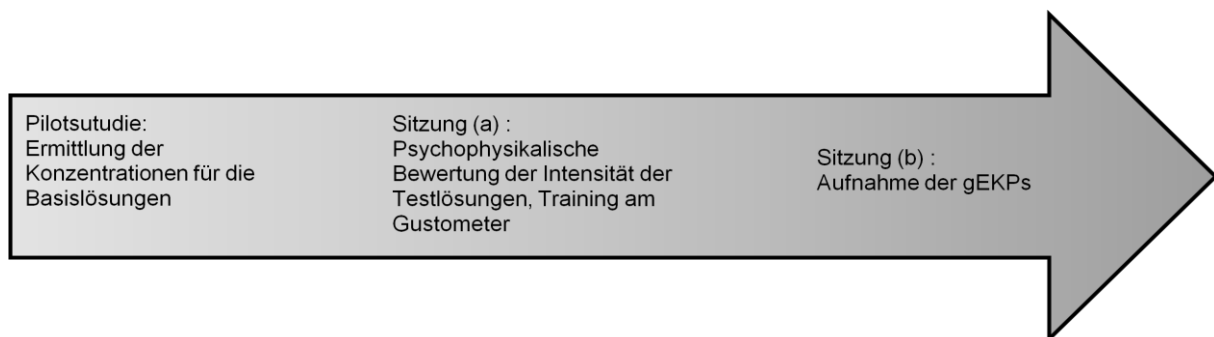


Abbildung 6: Graphische Darstellung des Versuchsablaufs

3.6.1. Pilotstudie

In einer Pilotstudie wurden die Konzentrationen der Schmecklösungen ermittelt, die ein gleiches Intensitätslevel haben und als Basislösung für das Experiment am Gustometer dienen sollten. Dazu wurden für alle fünf Schmeckrichtungen Lösungen in fünf verschiedenen Konzentrationen von sehr geringer bis sehr hoher Geschmacksstärke hergestellt (Tabelle 2). Mit Hilfe eines in der Geschmackslösung getränkten Wattestäbchens wurde die Lösung auf der Zunge präsentiert.

Geschmack	salzig	sauer	umami	bitter	süß
	NaCl	Zitronen- säure	MSG	Chininhydrochlorid	Saccharin
Konzentration (C in mM)	10	0,5	10	0,01	0,11
	100	5	100	0,1	0,43
	200	12,5	200	0,32	1,4

	300	25	300	0,5	3
	400	50	400	1	7

Tabelle 2: Schmeckstoffe und Verdünnungen in der Pilotstudie

An der Pilotstudie nahmen 32 normalgewichtige Personen teil (Durchschnittsalter: 25; s.d. = 4,5). Sie sollten die Intensität der Geschmackslösungen mit Hilfe einer numerischen Rating-Skala von 0 (kein Geschmack) bis 10 (sehr starker Geschmack) bewerten. Zusätzlich haben die Tester die Angenehmheit der Lösungen zwischen -5 (sehr unangenehm) und +5 (sehr angenehm) eingeschätzt.

Aus den erworbenen Daten konnte eine Grafik erstellt werden, in der die evaluierte Intensität in Abhängigkeit der Konzentration für jede Schmeckrichtung aufgetragen wurde. Aus der Trendline dieser Daten konnte die iso- intense Konzentration für die Intensität 7, die Basiskonzentration für Sitzung (a), extrapoliert werden. Nachdem die Basiskonzentration mit Hilfe der Pilotstudie gefunden wurde, konnte Sitzung (a) durchgeführt werden.

3.6.2. Sitzung (a)

Die Testpersonen wurden gebeten, ab 60 Minuten vor der Sitzung nicht zu essen oder zu trinken (außer Wasser).

Im Training wurde der Proband mit dem experimentellen Aufbau vertraut gemacht. Der Proband saß entspannt mit ausgestreckter Zunge vor dem Gustometerausgang. Nun wurde jeder Geschmack jeweils viermal mittels Gustometer in einer überschwelligten Konzentration angeboten und der Proband musste den passenden Geschmack benennen. Somit konnte der Proband die Schmecklösungen kennenlernen. Zeitgleich zur Präsentation der Geschmacksstimuli bzw. Wassersprühstöße führte der Proband ein Computerspiel aus, bei dem er mit der Maus einem grünen Kästchen, das in zufälligen Bewegungen über den Bildschirm lief, folgen sollte. Damit sollte seine Konzentration und Aufmerksamkeit aufrecht erhalten werden. Außerdem konnte der Proband trainieren, so wenig wie möglich zu blinzeln. Dies war eine wichtige Vorbereitung auf die EEG- Aufnahmen in Sitzung (b), da Blinzeln eine große Rolle in der Artefaktproduktion im EEG spielt.

Die Kammern des Gustometers wurden mit den fünf Schmecklösungen und reinem Wasser gefüllt. Das Gustometer hat die Möglichkeit die in die Kammern eingefüllten Lösungen zu verdünnen, von Level 100 (volle Basiskonzentration) bis Level 0 (reines Wasser). Für jeden Geschmack wurden die folgenden drei Level gewählt: 20%, 50%, 90%. Die fünf Geschmackslösungen wurden in den drei Konzentrationen jeweils fünfmal mittels

Gustometer dargeboten. Somit ergab sich eine Sequenz von 75 Stimuli, die in einer randomisierten Reihenfolge präsentiert wurde. Diese 75 Stimuli wurden durch den Probanden anhand einer visuellen Analogskala von 0 (kein Geschmack) bis 10 (sehr starker Geschmack) in ihrer Intensität evaluiert. Aus Sitzung (a) konnte eine Verdünnungs-Intensitäts- Kurve für jeden Geschmack gebildet werden, aus der wiederum die iso-intensiven Konzentrationen für Sitzung (b) mittels Bildung einer Trendline ermittelt werden konnte.

3.6.3. Sitzung (b)

Dem Probanden wurden in Sitzung (b) erneut die Schmecklösungen durch das Gustometer angeboten. Für die Aufnahme der gEKPs wurde dem Probanden eine EEG- Haube auf dem Kopf montiert. Während der Messung wurde über Kopfhörer weißes Rauschen eingespielt, das die gleichzeitig mit der Reizgabe auftretenden Schaltgeräusche des Gustometers verdecken und den Probanden vor anderen akustischen Reizen abschirmen sollte. Auch in Sitzung (b) führte der Proband das Computerspiel zur Vigilanzstabilisierung aus.

In Sitzung (b) wurde nur in einer Intensität (Intensität 50) mit jeweils 60 Wiederholungen pro Geschmack gereizt. Dies ergibt insgesamt 300 Stimuli, die in einer randomisierten Reihenfolge dargeboten wurden. Da eine Präsentation der 300 Stimuli ca. 50 min gedauert hätte, wurde das Experiment auf zwei Teilsitzungen aufgetrennt, um eine durchhaltende Konzentration und Aufmerksamkeit zu gewährleisten.

Die Einstellungen für die Reizpräsentation wurden wie folgt gewählt: Die Stimulusdauer betrug 250 ms, bei einer Gesamtdauer des Pulses von 500 ms. Das Interstimulusintervall lag zw. 18 s und 22 s (Mittelwert: 20 s). Das Pulsvolumen betrug 100 µl.

4. Ergebnisse

4.1. Pilotstudie – Festlegung der Basiskonzentrationen der Schmecklösungen

In der Pilotstudie wurden den 32 Freiwilligen von jeder der fünf Geschmacksrichtungen jeweils fünf verschiedene Konzentrationen präsentiert. Diese wurden in ihrer Intensität bewertet und in Abhängigkeit von ihrer Konzentration in einem Diagramm aufgetragen. Eine lineare Interpolation wurde genutzt um eine Funktion zwischen Intensität und Konzentration für jede Schmecklösung zu ermitteln (Tabelle 3, Abbildung 7)

Geschmack	Konzentration (mM)	Mittelwert Intensität (a.u.)	s.d.	s.e.
<u>salzig</u>	10	0,4054	0,6855	0,1193
	100	2,9730	1,7557	0,3056
	200	5,0541	1,9571	0,3407
	300	6,1892	2,0795	0,3620
	400	7,3243	2,1480	0,3739
<u>bitter</u>	0,01	1,1622	1,5003	0,2612
	0,1	2,2973	2,1968	0,3824
	0,32	4,1351	2,3114	0,4024
	0,5	6,7027	2,0932	0,3644
	1	8,0811	1,8315	0,3188
<u>sauer</u>	0,5	0,5405	0,9308	0,1620
	5	1,8649	1,5305	0,2664
	12,5	3,6486	1,6703	0,2908
	25	5,8919	2,2084	0,3844
	50	7,7838	2,1620	0,3764
<u>umami</u>	10	1,0270	1,1899	0,2071
	100	2,8378	2,1410	0,3727
	200	4,5405	2,3522	0,4095
	300	5,3243	2,2491	0,3915
	400	6,2973	2,3317	0,4059
<u>süß</u>	0,11	1,5	1,8247	0,3176
	0,43	3,53125	1,5023	0,2615
	1,4	6,5625	1,9836	0,3453
	3	8,125	1,5263	0,2657
	7	9,28125	1,4591	0,2540

Tabelle 3: Ergebnisse der Pilotstudie

Mittelwerte der Intensität, Standardabweichung (s.d.) und Standardfehler (s.e.) in Abhängigkeit der Konzentration der Schmecklösung.

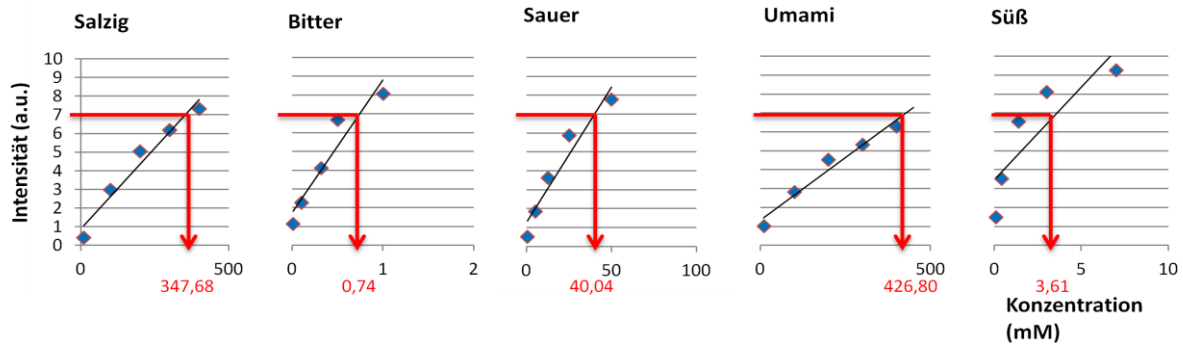


Abbildung 7: Ergebnisse der Pilotstudie

Intensität des Geschmacks (a.u.) in Abhängigkeit von der Konzentration (mM) der Schmecklösungen. Die Basiskonzentration für Sitzung (a) wurde aus der linearen Trendlinie bei einer Iso- Intensität von 7 für alle Geschmacksrichtungen hochgerechnet.

Die eingesetzte Konzentration der verschiedenen Schmecklösungen variiert stark, um eine von den Testpersonen als gleich stark bewertete Intensität zu erzielen. Zum Beispiel ist für bitter eine Konzentration von 0,74 mM ausreichend um eine Intensität von 7 zu erreichen, während für umami eine Konzentration von 426,80 mM eingesetzt werden muss und für salzig eine von 347,683 mM benötigt wird. Süß mit 3,61 mM und sauer mit 40,035 mM bedürfen hingegen wieder einer geringeren Konzentration als umami und salzig um mit einer Intensität von 7 eingeschätzt zu werden (Tabelle 4).

Geschmack	Trendline	Konzentration (mM) für Intesität 7
<u>salzig</u>	$I = 0,0176 K + 0,8807$	347,68
<u>bitter</u>	$I = 7,059 K + 1,751$	0,74
<u>sauer</u>	$I = 0,1425 K + 1,295$	40,04
<u>umami</u>	$I = 0,0133 K + 1,3235$	426,80
<u>süß</u>	$I = 0,9642 K + 3,5224$	3,61

Tabelle 4: Konzentration K (mM) für Intensität I von 7 (a.u.) mit Trendlinie

4.2. Sitzung (a) – Bestimmung der Verdünnung der Schmecklösungen für Sitzung (b)

In Sitzung (a) wurde jeder Geschmack mit Hilfe des Gustometers in drei verschiedenen Verdünnungsstufen präsentiert und durch den Probanden mittels visueller Analogskala (0 = kein Geschmack, 10 = sehr starker Geschmack) in der Intensität beurteilt (Tabelle 5).

	Verdünnung (%)		
	20	50	90
Geschmack	Mittelwert \pm s.e. Intensität (a.u.)		
<u>salzig</u>	45 \pm 2	57 \pm 2	68 \pm 2
<u>bitter</u>	30 \pm 3	40 \pm 4	48 \pm 5
<u>sauer</u>	26 \pm 3	50 \pm 3	68 \pm 3
<u>umami</u>	31 \pm 2	41 \pm 3	48 \pm 3
<u>süß</u>	45 \pm 3	62 \pm 3	68 \pm 2

Tabelle 5: Ergebnisse Sitzung (a)

Jeder Geschmack in den Verdünnungen 20%, 50%, 90% und die mittlere Intensität, die von der Probandengruppe durch eine visuelle Analogskala evaluiert wurde \pm Standardfehler (s.e.).

Eine Verdünnung von 20% bedeutet, dass 20% Schmecklösung mit 80% geschmacksneutralem Wasser gemischt werden, bevor sie dem Probanden auf die Zunge gesprüht werden.

Je höher die Verdünnungsstufe und damit je höher der Anteil an Schmecklösung ist, desto stärker wurde die Intensität des Stimulus bewertet. Die Verdünnung 20% erzielte dabei Intensitätswerte von 26 (sauer) über 30 (bitter, umami) bis 45 (salzig, süß). Mit einer Intensität von 48 (bitter, umami) bis 68 (salzig, sauer, süß) wurde die Verdünnungsstufe 90% bewertet.

Für die Ermittlung der Verdünnungen bei der alle Schmecklösungen mit der gleichen Intensität (50) bewertet werden, wurden folgende Grafik und Tabelle erstellt: Abbildung 8, Tabelle 6.

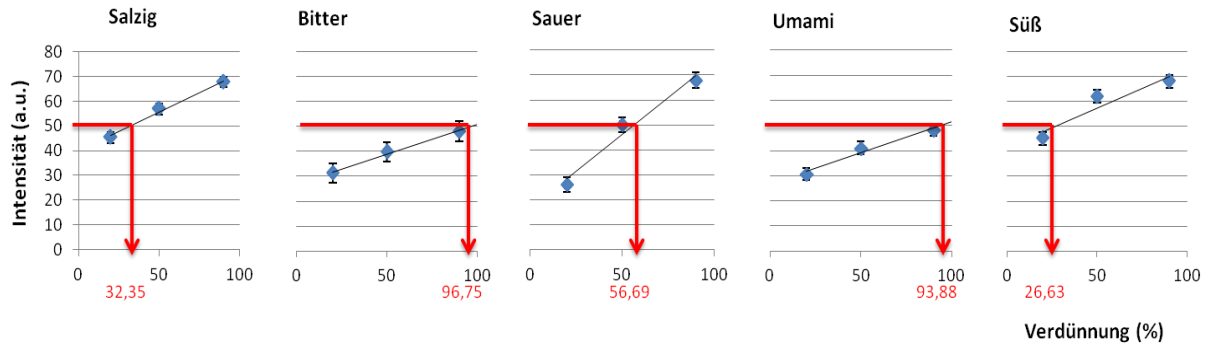


Abbildung 8: Ergebnisse Sitzung (a)

Intensität (a.u.) in Abhängigkeit von der Verdünnung (%). Die Endverdünnung wurde von der linearen Trendlinie bei einer Isointensität von 50 extrapoliert.

Geschmack	Trendline	Verdünnung (%) für Intensität 50
<u>salzig</u>	$I = 0.3189 V + 39.684$	32,35
<u>bitter</u>	$I = 0.2379 V + 26.983$	96,75
<u>sauer</u>	$I = 0.5919 V + 16.446$	56,69
<u>umami</u>	$I = 0.2476 V + 26.755$	93,88
<u>süß</u>	$I = 0.3172 V + 41.554$	26,63

Tabelle 6: Verdünnung (%) für Intensität 50 (a.u.)

Verdünnung V der Schmecklösung für die Intensität I von 50 für alle fünf Schmeckrichtungen mit zugrunde liegender Trendline.

4.3. Sitzung (b) – EEG- Registrierung

In Sitzung (b) wurden nun die folgenden Lösungen mit der entsprechenden Verdünnung (Tabelle 7) mittels Gustometer dem Probanden präsentiert und zeitgleich ein EEG abgeleitet.

Geschmack	Konzentration (mM)	Verdünnung (%)
<u>salzig</u>	347,68	32,35
<u>bitter</u>	0,74	96,75
<u>sauer</u>	40,04	56,69
<u>umami</u>	426,80	93,88
<u>süß</u>	3,61	26,63

Tabelle 7: Konzentration und Verdünnung der Lösungen in Sitzung (b)

Die EEG- Rohdaten, die in Sitzung (b) von jedem Probanden abgeleitet werden konnten, wurden mit Hilfe der Software Cartool 3.51 bearbeitet.

Der GM konnte nach der Vorverarbeitung der EEG- Rohdaten für jede Geschmacksrichtung für jede der 128 Elektroden berechnet werden und ist in Abbildung 9 dargestellt. Er wurde in einem Butterfly- plot, eine Darstellungsform bei der alle EEG- Kurven übereinander liegen, aufgezeichnet. In der Abbildung 9 ist unter dem jeweiligen Butterfly- plot zu jedem Geschmack die GFP zu erkennen. Das Ergebnis der Microstate- Segmentierung wird unter der GFP- Kurve farbcodiert dargestellt, wobei jede Farbe eine eigene Map präsentiert.

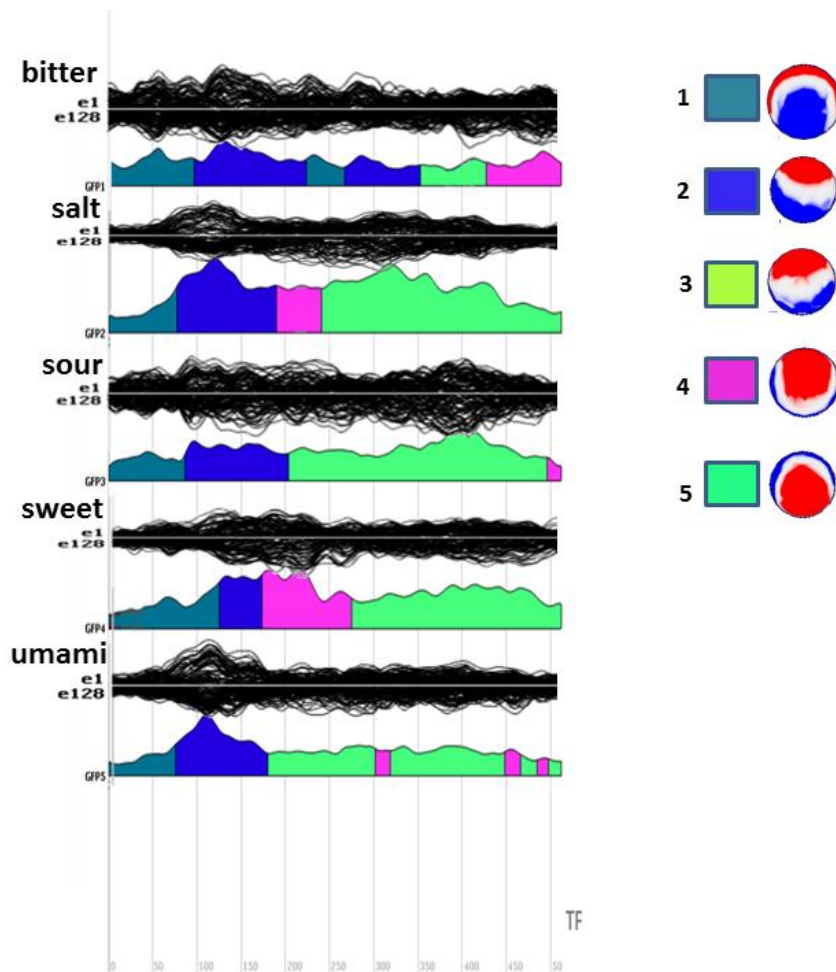


Abbildung 9: Ergebnisse Sitzung (b)

Butterfly plots der Grand Means (GM), Global Field Power (GFP) und Microstate Segmentation für jeden Geschmack bitter, salzig, sauer, süß und umami über die Time Frame (TF).

Wie in der Abbildung 9 dargestellt, spielen bei der Verarbeitung gustatorischer Signale vier Maps eine entscheidende Rolle. Map 3 kann aufgrund hoher Korrelation zu Map 2 (62%) als Übergangs- Map betrachtet werden.

Ein Vergleich der verschiedenen Geschmacksrichtungen lässt erkennen, dass unabhängig von der Geschmacksrichtung die Informationsverarbeitung in Map 1 beginnt und danach zu Map 2 wechselt. Je nach Geschmack kann allerdings der Zeitraum, über den Map 1 bzw. Map 2 stabil ist variieren. So wechselt bei salzig, sauer und umami nach ca. 150 ms der Verarbeitungsprozess zu Map 2, wohingegen bei süß erst nach 250 ms der Wechsel erfolgt. Nach ca. 370 ms wird der Verarbeitungsprozess abhängig vom Geschmack, wobei Map 4 und Map 5 in verschiedenen Reihenfolgen gefunden wurden. Bei der Präsentation von dem Bitter- Stimulus folgte z.B. nach Map 1 und Map 2 erneut Map 1 und Map 2, ehe der Prozess in Map 5 und dann in Map 4 zu sehen war. Bei dem Geschmack salzig und süß hingegen, folgte direkt nach Map 1 und Map 2 die Map 4 und dann Map 5. Bei Sauer- und Umami-Geschmacksreizen hingegen wurde der Prozess nach Map 1 und Map 2 erst in Map 5 und dann in Map 4 dargestellt, wobei sich diese Mapreihenfolge im Falle von umami noch zweimal wiederholte.

Welche Region im Gehirn beschreibt aber eine solche Map? Nach der Quellenanalyse mittels Cartool, können mit Hilfe der Abbildung 10 bis Abbildung 13 die topographische Verteilung der elektrischen Feldpotentiale für die ermittelten Maps und ihre Quellen beschrieben werden.

Die Quellenanalyse für jede Map enthält Regionen des primär- gustatorischen Kortex (Operculum, Insula) und des sekundären gustatorischen Kortex (präfrontaler Kortex) (Small et al., 1997b; Schoenfeld, et al., 2004; Iannilli et al., 2012).

1 

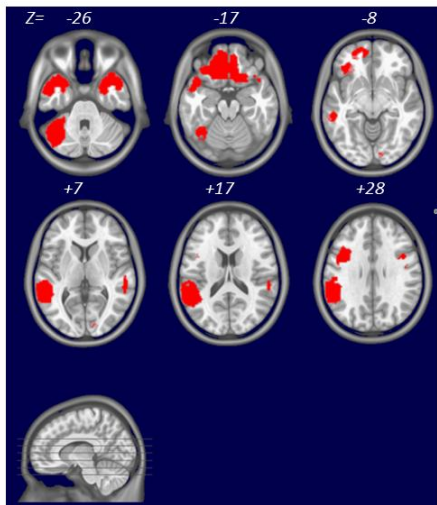


Abbildung 10: Map 1

Aktivierte Regionen: linker und rechter orbitofrontaler/ präfrontaler Kortex, linker inferiorer frontaler Gyrus (Insula & Operculum), linker superiorer temporaler Gyrus, linkes Cerebellum.

2 

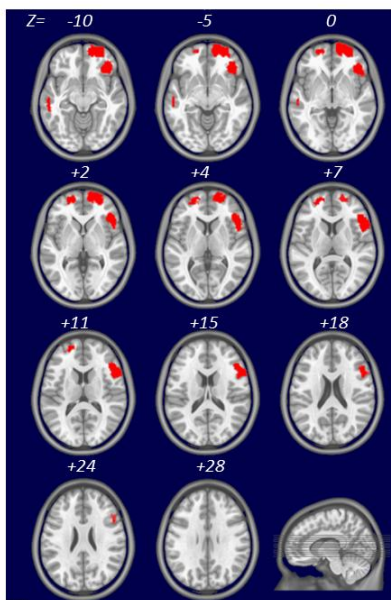


Abbildung 11: Map 2

Aktivierte Regionen: linker und rechter präfrontaler Kortex, rechte Insula & frontales Operculum, rechter inferiorer frontaler Gyrus

4 

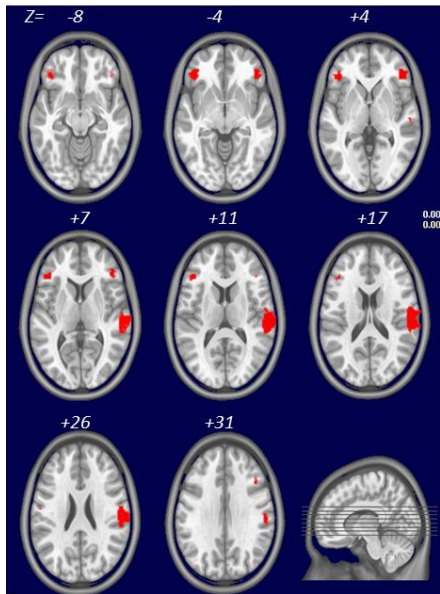


Abbildung 12: Map 4

Aktiviere Regionen: linker und rechter inferiorer frontaler Gyrus, rechter superiorer temporaler Gyrus

5 

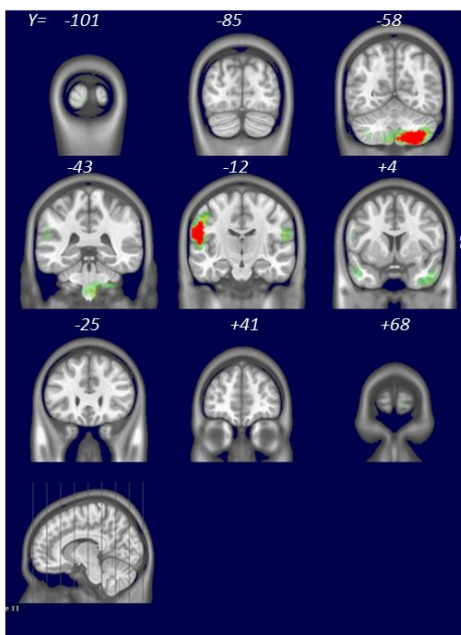


Abbildung 13: Map 5

Aktiviere Regionen: linkes parietales/ frontales Operculum, rechtes Cerebellum

Die Maps zeigen, dass sowohl eine Aktivierung der linken, als auch der rechten Hemisphäre nach Präsentation des Schmeckstimulus auftritt. Beginnend mit einer linksseitigen Aktivierung der Insula und des frontalen Operculums, sowie präfrontaler Gehirnregionen beidseits und des linken Cerebellums, wandert die Erregung nach rechts in die rechte Insula und das rechte frontale Operculum.

5. Diskussion

Ziel der Studie war es optimale Lösungskonzentrationen für alle fünf Grundschmeckrichtungen für die gustometrische Diagnostik zu finden, die eine objektive Messung des Schmecksinns mittels gEKPs ermöglichen. Bisherige Studien mit gEKPs nutzten beliebige überschwellige Konzentrationen der Schmecklösungen um gustatorische Reize zu setzen. Mit Hilfe dieser Studie wurden isointense Konzentrationen für Lösungen mit dem Geschmack süß, sauer, salzig, bitter und umami ermittelt. Die durch die isointensen Schmeckreize ausgelösten gEKPs wurden zusätzlich in Hinblick auf ihre räumlich- zeitlichen Charakteristika untersucht.

5.1. Allgemeine Testbedingungen

Mit Hilfe des Gustometers konnten annähernd reine gustatorische Reize unter kontrollierten Bedingungen ausgelöst werden. Durch die Erwärmung der Schmecklösungen auf Körpertemperatur und die Darbietung über Sprühstöße wurden die thermischen und die mechanischen Reize so minimal wie möglich gehalten. Das zusätzlich über Kopfhörer eingespielte weiße Rauschen senkte die akustischen Einflüsse und die geruchsneutrale Umgebung minderte die olfaktorischen Einflüsse während des Experimentes. Bereits in vorangegangenen Studien wurde das Gustometer erfolgreich eingesetzt um gEKPs auszulösen (Kobayakawa, et al., 1996; Singh et al., 2011). In Sitzung (a) wurde der Proband mit dem Versuchsaufbau vertraut gemacht, sodass er möglichst entspannt und über den Versuchsablauf in Kenntnis gesetzt an der Sitzung (b) mit EEG- Aufnahme teilnehmen konnte.

5.2. Isointense Konzentration für die fünf Grundschmeckrichtungen

Bei der Suche nach Konzentrationen für die Schmecklösungen, die bei den Probanden eine gleichstarke Intensität hervorrufen sollten, wurden die Ergebnisse wie folgt ermittelt: Zuerst wurde jeder Geschmack in der Pilotstudie in fünf Konzentrationen angeboten. Aus der Intensität mit der jede einzelne Probe bewertet wurde, wurden die Konzentrationen für Intensität 7 ermittelt. Dabei kann man davon ausgehen, dass bei einer Intensität von 7 der Schmeckreiz überschwellig ist und von jedem Teilnehmer geschmeckt wurde. Aus diesen mit Intensität 7 bewerteten Konzentrationen wiederum wurden drei Stufen in Sitzung (a) verwendet – 20%, 50%, 90% Verdünnung. Nach erneuter Beurteilung der Intensität dieser drei Stufen wurden am Ende für eine mittlere Intensität von 50 folgende Werte ermittelt:

salzig mit einer Verdünnung (V) von 32,35% bei einer Konzentration (C) von 347,68mM; bitter mit V 96,75% bei C 0,74mM; sauer mit V 56,69% bei C 40,04mM; umami 93,88% bei C 426,8mM; süß mit V 26,63% bei C 3,61mM.

Die Ergebnisse zeigen, dass für bitter bereits eine geringe Konzentration an Schmeckstoff ausreichend ist um die gleiche Intensität hervor zu rufen, wie hohe Konzentrationen an umami oder salzig. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass bitter schon regelhaft mit dem Geschmack von Gift assoziiert ist und die Erkennung von kleinsten Mengen an bitteren Substanzen eine Art warnende Funktion ausübt. Umami hingegen ist ein relativ „neuer“ Geschmack und zählt mit salzig zu den „begehrten Schmeckrichtungen“ (Kinnamon, 2012). Umami wurde erstmals 1909 durch Ikeda (Ikeda, 1909) beschrieben und wird häufig mit dem Geschmack von Brühe und Proteinen verglichen. Umami und salzig werden vom Körper als Proteinbaustein bzw. zur Regulation der Ionenhomeostase abgefordert (Kinnamon, 2012).

Die aus dieser Sitzung (a) ermittelten Schmecklösungen in ihren jeweiligen Konzentrationen bzw. Verdünnungen konnten in Sitzung (b) erfolgreich gEKPs auslösen.

5.3. Hauptergebnisse aus Sitzung (b)

Die Hauptergebnisse dieser Studie sind, dass (1) Die Verarbeitung des Schmeckstimulus durch vier grundlegende elektrische Maps beschrieben werden kann; (2) Unabhängig vom Geschmack der gustatorische Verarbeitungsprozess in Map 1 (frontale Positivität und zentrale/ posteriore Negativität) beginnt, gefolgt von Map 2 (frontal zentrale Positivität und links posteriore Negativität); (3) Nach 370 ms der Prozess geschmacksabhängig wird. Das bedeutet, dass die Reihenfolge der Maps nicht länger kohärent zw. den Schmeckrichtungen ist. Ähnlichkeiten konnten zw. dem Verarbeitungsprozess von salzig und süß gesehen werden. In der sauer- Stimulation war Map 4 fast nicht vorhanden. Bitter und umami präsentierten verschiedene Muster der Mapreihenfolge; (4) Die Quellenanalyse der ersten zwei Maps primäre (frontales Operculum/ Insula) und sekundäre (präfrontaler Cortex) gustatorische Regionen enthält; (5) Für Map 4 und 5 sich Quellen in Regionen im linken und rechten inferioren frontalen Gyrus zeigen, der das parietale Operculum und die mittlere/ posteriore Insula bedeckt.

5.3.1. (1) Verarbeitung der Schmeckstimuli durch vier grundlegende elektrische Maps, (2) Beginn des Verarbeitungsprozesses unabhängig vom Geschmack, (3) geschmacksabhängige Weiterverarbeitung ab 370 ms

Die Verarbeitung von Schmeckinformationen im Großhirn beginnt in Regionen, die durch Map 1 und Map 2 beschrieben werden können: Im Fall von Map 1 sind v.a. der orbitofrontale/ präfrontale Kortex, der linke inferiore frontale Gyrus/ superiore temporale Gyrus (Operculum) und das linke Cerebellum aktiviert. Bei Map 2 findet sich die Aktivität ebenso im präfrontalen Kortex, zusätzlich in der rechten Insula und rechtem frontalem Operculum. Somit kann man sagen, dass die Verarbeitung der gustatorischen Signale in Teilen des PGC, der Insula mit überdeckendem Operculum, und in Teilen des sekundären gustatorischen Kortexes, dem präfrontalen Kortex, beginnt. Dies zeigten auch bereits vorangegangene Studien (Kobayakawa, et al., 1996; Small et al., 1997b; Frey & Petrides, 1999; De Araujo et al., 2003a; De Araujo et al., 2003b; O' Doherty et al., 2001; Schoenfeld, et al., 2004).

Dieser frühe Teil des Verarbeitungsprozesses von gustatorischen Reizen scheint unabhängig von der Geschmacksrichtung zu sein, da bei jedem Geschmack Map 1 vor Map 2 aktiviert wurde. Allein die Zeiten, in denen der Wechsel von Map 1 zu Map 2 erfolgte, sind von Geschmack zu Geschmack unterschiedlich.

Nach spätestens 370ms wechselt die Map- Konfiguration erneut. Nun wird die Lokalisation des Verarbeitungsprozesses abhängig von der Schmeckrichtung.

Salzig und süß ähneln sich stark in der Lokalisation ihrer kortikalen Verarbeitung. Dieselbe Mapreihenfolge für salzig und süß könnte ähnliche, beinahe identische Prozesse reflektieren. Obwohl die Physiologie der peripheren Erkennung dieser zwei Schmeckrichtungen über unterschiedliche Rezeptoren verläuft, scheint es so, als ob die potentielle Wirkung als Nährstoff einen Anteil an der starken Ähnlichkeit auf zentraler Ebene hat. Dabei werden erst Regionen von Map 4 aktiviert, gefolgt von Map 5- Arealen. Auch Singh et al. beobachteten in parietalen und frontalen Gehirnarealen Aktivierungen durch salzige Stimuli (Singh et al., 2011). Bartmuss et al. hingegen beschrieben neben der Aktivierung von frontalem Operculum, Insula und präfrontalem Kortex zusätzlich eine Aktivität in der Amygdala (Bartmuss et al., 2010). Die Amygdala hat einen Einfluss auf das Hunger- und Sättigungsgefühl (Haase et al., 2009) und auf das Belohnungssystem (O' Doherty et al., 2001). Eine Aktivierung der Amygdala in der jetzigen Studie konnte nicht nachgewiesen werden. Eine mögliche Erklärung dafür wäre, dass, wie von einigen EEG- Experten beschrieben, die Amygdala ein geschlossener Kern ist, in dem die Neurone räumlich in chaotischer Weise angeordnet sind. In der finalen Berechnung des elektrischen Feldes, das durch Summation aller elektrischen Felder eines Neurons entsteht, können sich dabei negative und positive Felder aufheben, sodass ein elektrisches Feld mit der Stärke Null entsteht.

Die Stimulation mit saurer Schmecklösung ruft direkt nach der Aktivierung von Map 2-Regionen eine Erregung im linken frontalen und parietalen Operculum und rechtem Cerebellum hervor (Map 5). Map 4 fehlt beinahe bei der elektrophysiologischen Antwort auf den Stimulus sauer. Sie erscheint nach 900 ms, was die Map dahingehend nicht mehr für die Erklärung des Verarbeitungsprozesses an sich relevant macht. Die Erregung in Operculum und rechtem Cerebellum ist teilweise kontrovers zu den Beschreibungen durch vorangegangene Studien, bei denen sauer mit der Aktivierung im Vertexbereich (Kobal, 1985) oder frontozentralen und parietalen Regionen (Hummell et al., 2010) assoziiert ist.

Auch umami aktiviert zuerst Map 5, bevor es den linken und rechten inferioren frontalen Gyrus und den rechten superioren temporalen Gyrus (Map 4) erregt, um dann zw. diesen beiden Regionen mehrfach zu wechseln. Dass umami-Reize v.a. in parietalen Kortexarealen verarbeitet werden, gefolgt von zentralen und frontalen Regionen, zeigten bereits Singh et al. (Singh et al., 2011). Auch Iannilli et al. konnten in der linken Inselrinde und dem linken inferioren frontalen Gyrus, sowie dem rechten frontalen Operculum Aktivität nach gustatorischer Stimulation mit umami und salzig nachweisen (Iannilli et al., 2012).

Im Falle von gEKPs, die durch den Geschmack bitter ausgelöst werden, konnte nach der Aktivierung von Map 1 und Map 2 eine weitere Erregung erneut in Map 1 gefolgt von Map 2 festgestellt werden, bevor die Reizverarbeitung zu Map 5 und Map 4 wechselte. Dies könnte dadurch erklärt werden, dass das Gehirn eine doppelte Kontrolle ausführt um einen potentiell gefährlichen bitteren Stoff zu erkennen (Scott & Plata-Salaman, 1991). Für den Vergleich von gEKPs, die durch bitter ausgelöst wurden, konnte keine Literatur gefunden werden. Dies könnte daran liegen, dass eine Testung mit bitteren Schmeckstoffen nicht leicht ist und in einigen Ländern sogar in der Forschung am Menschen untersagt ist.

5.3.2. (4) Quellenanalyse enthält primäre und sekundäre gustatorische Cortexareale, (5) Bestätigung des „posterior shifts“

In aktuellen Untersuchungen von Iannilli et al. wurde der „posterior shift“ bei der Verarbeitung von gustatorischen Signalen erstmals beschrieben. Dieser Wechsel besagt, dass die Verarbeitung gustatorischer Signale im vorderen (anterioren) Part der Insula lokalisiert ist, bevor die Signalquelle zu einem weiter hinteren (posterioren) Part der Insula zieht (Iannilli et al., 2014). Dieses Phänomen konnte auch in der jetzigen Studie nachgewiesen werden. Eine mögliche Erklärung dafür kann in der Studie von Cauda et al. gefunden werden. In ihrer Arbeit konnten Cauda et al. eine positive „resting state functional connectivity“ – Korrelation zw. Thalamus und anteriorer/ mittlerer Insula – nachweisen, jedoch nicht mit dem posterioren Teil der Insula (Cauda, et al., 2011). D.h. zw. Thalamus und anteriorer Insula ist eine direkte

Verbindung möglich, wohingegen die Informationen in die posteriore Insula nur über weitere Verschaltungen gelangen. Da der PGC seine Informationen direkt vom Thalamus erhält (Shikama, et al., 1996; Uesaka et al., 1998; Aglioti S. , et al., 2001; Iannilli et al., 2012), zählt somit der anteriore/ mittlere Teil der Insula zum PGC, der hintere Teil schon zum sekundären gustatorischen Kortex.

Die Signale aus der anterioren Insula und dem frontalem Operculum werden aber nicht nur zum posterioren Part der Insula weitergeleitet (Iannilli et al., 2014), sondern auch in den orbitofrontalen Kortex (Baylis et al., 1995) und in die Amygdala (Aggleton et al., 1980; Bartmuss et al., 2010) projiziert – weitere Teile des sekundären gustatorischen Kortexes. Zusätzlich konnte in der jetzigen Studie auch eine Aktivierung im Cerebellum nachgewiesen werden. Ob das Cerebellum dabei direkt bei der Geschmacksverarbeitung eine Rolle spielt, bleibt zu diskutieren. Eine Aktivierung des Cerebellums wäre auch durch Zungenbewegung oder Auslösung des Würgereflexes zu erklären (Amarenco et al. 1990, Grodd et al. 2001).

5.4. Einfluss der Bildgebung auf die Ermittlung der Lokalisation des gustatorischen Kortexes

Einen Einfluss auf die exakte Beschreibung der Lokalisation hat auch die Bildgebung, die zur Aufnahme der gustatorischen Antworten genutzt wird: So wurde der PGC in fMRT- und PET-Studien meist im anterioren/ mittleren Part der Insula, die vom frontalen Operculum bedeckt ist, beschrieben (Schoenfeld, et al., 2004; Small, 2010; Veldhuizen, et al., 2011; Iannilli et al., 2012; Iannilli et al., 2014). In EEG- und MEG- Studien wurde der PGC hingegen überwiegend zwischen Insula und parietalem Operculum gefunden (Mizoguchi et al., 2002; Kobayakawa et al., 2012; Iannilli et al., 2014).

6. Zusammenfassung

6.1. Zusammenfassung in deutscher Sprache

Hintergrund Süß, sauer, salzig, bitter, umami – dies sind die fünf Grundschmeckrichtungen des menschlichen Schmecksinns. Aber wie kann man testen, ob der Schmecksinn voll funktionsfähig ist oder nicht? Neben einigen psychophysikalischen Testverfahren, wie der Drei- Tropfen- Methode nach Henkin (Henkin et al., 1963) oder den Taste strips beschrieben durch Landis et al. (Landis, et al., 2009b), gibt es nur wenige bzw. noch keine standardisierten Tests zur objektivierenden Evaluation der Schmeckfunktion. Ein Meilenstein der elektrophysiologischen Schmecktestung sind die gEKPs, die erstmals Mitte der 80er-Jahre beschrieben wurden (Kobal, 1985). Seitdem wurden gEKPs erfolgreich durch verschiedene Arbeitsgruppen reproduziert (Mizoguchi et al., 2002; Hummel et al., 2010). Eine neue Generation der Computer- kontrollierten Reizpräsentation wurde entwickelt (Gustometer GU002/ GM05, Burghart, Deutschland) und ermöglicht die Auslösung von gEKPs (Singh et al., 2011). Jedoch ist eine Anwendung des Gustometers und der gEKPs in der Klinik noch nicht etabliert.

Fragestellung Das Ziel dieser aktuellen Studie war zweiseitig: 1. Die Entwicklung eines standardisierten Messprotokolls mit optimalen Lösungskonzentrationen für alle fünf Grundschmeckrichtungen zur elektrophysiologischen Messung der Schmeckfunktion mittels Gustometer. 2. Die Charakterisierung der gustatorischen elektrophysiologischen Antwort bei gesunden jungen Menschen durch Betrachtung der gEKPs und ihrer räumlich- zeitlichen Eigenschaften.

Material und Methoden 30 junge gesunde Probanden nahmen an der Studie teil (Durchschnittsalter: 23 Jahre; s.d. = 2 Jahre). Das Experiment wurde in zwei Sitzungen geteilt: (a) Festlegung des geeigneten Konzentrationslevels der verwendeten Lösung und die psychophysikalische Bewertung der Intensität bei Präsentation der Geschmackslösung mit Hilfe des Gustometers (GU002/ GM05); (b) Aufnahme von gEKPs der fünf Grundschmeckrichtungen mittels 128- Kanal- EEG- System (BioSemi, Amsterdam, NL).

Ergebnisse In Sitzung (a) wurden die Endkonzentrationen der Lösungen jedes Geschmacks ermittelt. Der psychophysikalische Test hat erfolgreich fünf Kalibrierungskurven für die wahrgenommene Intensität der verschiedenen Verdünnungen jedes Geschmacks erzeugt. Aus diesen Kurven wurde die isointense Verdünnung für den jeweiligen Geschmack für die

mittlere Intensität extrapoliert. Dieser Wert wurde genutzt um gEKPs in Sitzung (b) auszulösen. Die gERPs wurden in ihren räumlich- zeitlichen Eigenschaften beschrieben. Die Hauptergebnisse waren: (1) Die Verarbeitung des Schmeckstimulus kann durch vier grundlegende elektrische Maps beschrieben werden; (2) Unabhängig vom Geschmack startet der gustatorische Verarbeitungsprozess in Map 1, charakterisiert durch eine frontale Positivität und eine zentrale/ posteriore Negativität, gefolgt von Map 2, mit einer frontal zentralen Positivität und einer links posterioren Negativität; (3) Nach 370 ms wird der Prozess geschmacksabhängig, das bedeutet, dass die Reihenfolge der Maps nicht länger kohärent zwischen den Geschmäckern war. Ähnlichkeiten konnten zwischen dem Verarbeitungsprozess von salzig und süß gesehen werden. In der sauer- Stimulation war Map 4 fast nicht vorhanden. Bitter und umami präsentierten verschiedene Muster der Mapreihenfolge; (4) Die Quellenanalyse der ersten zwei Maps enthielt primäre (frontales Operculum/ Insula) und sekundäre (präfrontaler Cortex) gustatorische Regionen; (5) Für Map 4 und 5 zeigten sich Quellen in Regionen im linken und rechten inferioren frontalen Gyrus, der das parietale Operculum und die mittlere/ posteriore Insula bedeckt.

Schlussfolgerung/ Diskussion Es wurden gEKPs für eine gesunde Personengruppe zw. 18 und 30 Jahren für die fünf Grundschmeckrichtungen süß, sauer, salzig, bitter und umami auf einem als isointens wahrgenommenen Level beurteilt. Die zeitlichen und räumlich- kortikalen Eigenschaften der gEKPs wurden analysiert. Dabei müssen weitere Studien untersuchen, ob es einen Unterschied zwischen den Altersgruppen oder Geschlechtern gibt.

Der gustatorische Verarbeitungsprozess findet in vier kortikalen Maps statt. Der Beginn ist unabhängig vom Geschmack und beginnt in Map 1 gefolgt von Map 2. Die kortikalen Regionen, die Map 1 generieren, wurden im orbitofrontalen Gyrus, links inferioren frontalen Gyrus/ superioren temporalen Gyrus (Operculum) und im linkem Kleinhirn gefunden; während die Quellen für Map 2 im präfrontalen Gyrus, der rechten Insula und dem rechten Operculum lokalisiert sind. Dies ist in Übereinstimmung mit vorangegangenen Studien, die die Insula mit darüberliegendem Operculum als PGC und den präfrontalen Cortex als sekundären gustatorischen Kortex beschreiben (Kobayakawa, et al., 1996; Small et al., 1997b; Frey & Petrides, 1999; De Araujo et al., 2003a; De Araujo et al., 2003b; O' Doherty et al., 2001; Schoenfeld, et al., 2004).

Nach 370 ms wird der Verarbeitungsprozess des gustatorischen Reizes abhängig vom Geschmack. Genauer gesagt scheint es, als hätten salzig und süß dieselbe Mapreihenfolge, die den Ablauf ähnlicher, beinahe identischer, Prozesse reflektiert. Obwohl die Physiologie der peripheren Erkennung dieser zwei Schmeckrichtungen über unterschiedliche Rezeptoren verläuft, scheint es so, als ob die potentielle Wirkung als Nährstoff einen Anteil an der

starken Ähnlichkeit auf zentraler Ebene hat. So gesehen sollte auch umami, Proteine signalisierend, eine ähnliche Mapreihenfolge wie süß und salzig haben. Im vorliegenden Fall jedoch löst der umami- Geschmack ein komplexeres bzw. ein anderes Muster bei der Verarbeitung im zentralen Nervensystem aus.

Während der Stimulation mit dem Geschmack bitter konnte eine zweite Wiederholung der Ereignisse von Map 1 und folgender Map 2 beobachtet werden. Dies könnte dadurch erklärt werden, dass das Gehirn eine doppelte Kontrolle ausführt um einen potentiell gefährlichen bitteren Zustand zu erkennen (Scott & Plata- Salaman, 1991).

In der elektrophysiologischen Antwort für sauer fehlt Map 4 beinahe. Sie erscheint nach 900 ms, womit die Map dahingehend nicht mehr für die Erklärung des Verarbeitungsprozesses an sich relevant ist.

Eine weitere Beobachtung ist das schlüssig erscheinende Auftreten von Map 5 im späten Prozess. Die Quellen von Map 5 liegen in der posterioren Insula/ Operculum und Cerebellum. In Bezug zu der erstgenannten Region scheint es in Übereinstimmung mit dem „back- shift“ des gustatorischen Kortex zu sein. Dieser wurde bereits in einer ähnlichen Arbeit basierend auf der Stimulation mit salziger Testlösung gezeigt (Iannilli et al., 2014). Zu bedenken ist, dass die späten EKPs für gewöhnlich mit kognitiven Prozessen assoziiert sind (Pause et al., 1996), woraus geschlossen werden kann, dass diese posteriore Region der Insula eine subjektive Relevanz in der Stimuluswahrnehmung hat. Davon abzugrenzen ist die erste „pure“ Antwort auf einen Schmeckreiz, die in der anterioren Insula/ Operculum präsentiert wird. Die Aktivierung des Cerebellums während des gustatorischen Verarbeitungsprozesses kann mit dem Würgreflex oder Zungenbewegungen zusammenhängen (Amarenco et al., 1990; Grodd et al., 2001).

Die vier topographischen Maps, die mittels Clusteranalyse identifiziert wurden, beschreiben eine stabile Konfiguration im Gehirn einer allgemeinen Population junger gesunder Menschen, während es einen bestimmten Geschmack verarbeitet. Dies lässt die Hypothese folgen, dass im Falle einer Pathologie im gustatorischen System dieselbe Vorgehensweise es ermöglichen könnte, die Dysfunktion auf objektive Weise zu ermitteln. Weitere Untersuchungen auf diesem Forschungsweg müssen dahingehend folgen um ein Verfahren festzusetzen, das im klinischen Alltag zur Diagnostik für gustatorische Dysfunktionen angewendet werden kann.

6.2. Zusammenfassung in englischer Sprache

Background. Sweet, sour, salty, bitter, umami – these are the five basic tastes of the human sense of taste. But how can be tested, if the sense of taste does function properly or not? Besides some psychophysical tests like the Three- Drop- Methode of Henkin (Henkin et al., 1963) or the Taste strips described by Landis et al. (Landis, et al., 2009b), there are just a few standardized tests for the electrophysiological measurement of sense of taste. A milestone in the electrophysiological measurement of gustatory function is the gustatory event related potential (gERP), which was described first in the 1980s (Kobal, 1985). Since that time gERPs were reproduced successfully by different workgroups (Mizoguchi et al., 2002; Hummel et al., 2010). Recently a new generation of computer controlled gustatory stimuli presentation has been developed (Gustometer GU002/ GM05, Burghart, Deutschland) which has been demonstrated eliciting gERPs (Singh et al., 2011). However, a clinical application of the Gustometer and the gERPs has not been established yet.

Aim. The aim of the present study was twofold: First to develop a standardized protocol with optimal concentrations for the solutions of all five basic tastes to enable the electrophysiological measurement of the taste function by the gustometer. Second to characterize the gustatory electrophysiological response on healthy young people looking at the gERPs and their spatio- temporal characteristics.

Materials and methods. 30 healthy young participants took part in the study (mean age: 23 age; s.d.= 2 years). The whole investigation was divided into two experimental sessions: (a) setting the proper concentration level of the solution to be used with the taste delivery system (Gustometer GU002/ GM05) and (b) recording of gERPs for the five basic tastants using a 128-channel- eeg- system (BioSemi, Amsterdam, NL).

Results. In session (a) the final concentrations for the solutions of each tastant were generated. The psychophysical test successful produced five calibration curves describing the perceived intensity versus different dilutions for each tastant. From these curves the isointense dilution for each tastant was extrapolated choosing the middle intensity value. This value was set as stimulus to elicit gERPs in session (b), where the gERPs were described in their spatio- temporal characteristics.

The main results are following: (1) the processing of the taste stimuli can be described by four basic electrical maps; (2) the gustatory process independently from the taste starts with Map 1, characterized by a frontal positivity and a central/ posterior negativity, and is followed by Map 2, with a frontal central positivity and a left posterior negativity; (3) the process becomes taste- dependent after 370 ms, meaning that the occurrence of the maps was no

longer coherent among the tastants. However, similarities were seen between the salt and sweet processing. In the sour condition Map 4 was almost absent. Bitter and umami present different pattern of maps occurrence; (4) the source analyses for the first two maps yielded primary (frontal operculum/ insula) and secondary (prefrontal cortex) gustatory regions; (5) brain sources for Map 4 and 5 highlighted areas in the left or right inferior frontal gyrus, covering the parietal operculum and the middle/ posterior insula.

Discussion and Conclusion. gERPs were assessed for a healthy population sample between 18 and 30 years for the five basic tastes sweet, sour, salt, bitter and umami at the iso-intense perceptual level. The temporal and spatio-cortical characteristics of the gERPs were analyzed. Further studies have to consider if there is a difference between different ages or gender.

The gustatory information process takes place in four cortical maps. The beginning does not dependent on the taste and starts in Map 1 followed by Map 2. The cortical areas generating Map 1 were found in the orbitofrontal gyrus, left inferior frontal gyrus/ superior temporal gyrus (operculum) and the left cerebellum; while for Map 2 the sources were located in the prefrontal gyrus, right insula and right operculum. This is in agreement with past studies describing the insula and the overlying operculum as PGC, and the prefrontal cortex as secondary gustatory cortex (Kobayakawa, et al., 1996; Small et al., 1997b; Frey & Petrides, 1999; De Araujo et al., 2003a; De Araujo et al., 2003b; O' Doherty et al., 2001; Schoenfeld, et al., 2004).

After 370 ms the information process becomes taste- dependent. More in detail salt and sweet appear to have the same subsequent maps, reflecting similar, almost identical, processes. Although the physiology of the periphery detection for the two tastants runs across different receptors, the strong similarity at the central level could be due to the potential nutrient value that sweet and salt have. Considered that way umami, signaling proteins, should have similar subsequence maps as salt and sweet. However, in the presented case umami taste elicit a more complex or simply different central nervous system elaboration.

During the stimulation with the bitter tastant we observe a second repetition of occurrence of Map 1 and subsequent Map 2. That could be speculatively explicated by a double check that the brain does to verify a potential hazardous bitter condition (Scott & Plata- Salaman, 1991). Finally, in the electrophysiological response of sour, map 4 is almost absent. It appears after 900ms which makes the maps almost no more relevant within the explanation of the process in itself.

Another observation can be made on the coherently appearance of map 5 in the late process. Its sources can be found in the posterior insula/operculum and cerebellum. As regards to the first mentioned area this seems to agree with a “back-shift” of the gustatory cortex already observed in a similar work based only on salt solution (Iannilli et al., 2014). Considering that the late ERPs are commonly associated with cognitive process (Pause et al. 1996) we can deduce that this posterior region of the insula has a subjective relevance in the stimulus perception, distinguished from the first “pure –taste” response in the anterior insula /operculum. Additionally, the involvement of the cerebellum in the gustatory process could be related to gag reflex or tongue movement reflex (Amarenco et al. 1990, Grodd et al. 2001).

The four topographical maps identified with the cluster analysis describe the stable configuration of the brain, while it is processing a certain taste on the general population of young healthy people. This let us hypothesize that in a situation of pathology of the gustatory system the same approach could be sensitive to detect the dysfunction in an electrophysiological way. Further investigation on this line of research have to follow in the direction of setting up a procedure that can be applicable in the clinical environment as gustatory dysfunction diagnostic.

7. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Geschmacksknospe (Draguhn, 2010)</i>	<i>2</i>
<i>Abbildung 2: Verteilung der Papillen auf der Zunge und ihre Innervation (Draguhn, 2010).....</i>	<i>3</i>
<i>Abbildung 3: Schematische Darstellung eines evozierten Potentials.....</i>	<i>14</i>
<i>Abbildung 4: Beispiel eines aufgenommenen gEKPs.....</i>	<i>16</i>
<i>Abbildung 5: Experimentelles Setup Sitzung (a) und (b).....</i>	<i>20</i>
<i>Abbildung 6: Graphische Darstellung des Versuchsablaufs</i>	<i>22</i>
<i>Abbildung 7: Ergebnisse der Pilotstudie</i>	<i>26</i>
<i>Abbildung 8: Ergebnisse Sitzung (a).....</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 9: Ergebnisse Sitzung (b).....</i>	<i>30</i>
<i>Abbildung 10: Map 1.....</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 11: Map 2.....</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 12: Map 4.....</i>	<i>33</i>
<i>Abbildung 13: Map 5.....</i>	<i>33</i>

8. Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien.....</i>	<i>18</i>
<i>Tabelle 2: Schmeckstoffe und Verdünnungen in der Pilotstudie</i>	<i>23</i>
<i>Tabelle 3: Ergebnisse der Pilotstudie.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabelle 4: Konzentration K (mM) für Intensität I von 7 (a.u.) mit Trendlinie</i>	<i>26</i>
<i>Tabelle 5: Ergebnisse Sitzung (a)</i>	<i>27</i>
<i>Tabelle 6: Verdünnung (%) für Intensität 50 (a.u.).....</i>	<i>28</i>
<i>Tabelle 7: Konzentration und Verdünnung der Lösungen in Sitzung (b)</i>	<i>28</i>

9. Abkürzungsverzeichnis

AP	Aktionspotential
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
C	Konzentration
ca.	circa
Ca ²⁺	Calcium- Ion
Cl ⁻	Chlorid- Ion
d.h.	das heist
EEG	Elektroenzephalogramm
EGM	Elektrogustometrie
EKPs	ereigniskorrelierte Potentiale
EP	evoziertes Potential
et al.	et ali
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
gERPsgustatorisch evozierte/s Potential/e/	gustatory evoked potential/s
GFP	globale Feldstärke/ global field power
GM	Grand Mean- Wert
H ⁺	Proton, Wasserstoff- Ion
I	Intensität
IP3	1,4,5-Inositol-trisphosphat
MEG	Magnetenzephalogramm
N.	Nervus
Na ⁺	Natrium- Ion
NaCl	Natriumchlorid
Ncl.	Nucleus
PET	Positronen- Emissions- Thomographie
PGC	primär gustatorischer Cortex/ primary gustatory cortex
s.d.	Standardabweichung/ standard deviation
s.e.	Standardfehler/ standard error
TRP	transient receptor potantial
T1R	T1- Rezeptor
T2R	T2- Rezeptor
u.a.	unter anderem
V	Verdünnung
v.a.	vor allem

z.B. zum Beispiel

z.T. zum Teil

zw. zwischen

10. Literaturverzeichnis

10.1. Bücher

- Rösler, F. (1982). *Hirnelektrische Korrelate kognitiver Prozesse*. Heidelberg: Springer Verlag.
- Seifert, J. (2005). *Ereigniskorrelierte EEG-Aktivität*. Lengerich: Pabst Science Publishers.
- Stöhr, M., Dichgans, J., Hess, C., & Buettner, U. (1995). *Evozierte Potentiale*. Heidelberg: Springer Verlag.

10.2. Beiträge in Sammelwerken

- Donchin, E., Ritter, W., & McCallum, W. (1978). Cognitive Psychophysiology: The endogenous components of the ERP. In E. Callaway, P. Teuting, & S. Koslow, *Event-related brain potentials in man*. New York: Academic Press.
- Draguhn, A. (2010). Geschmack und Geruch. In R. Klinke, H. Papa, A. Kurtz, & S. Silbernagl, *Physiologie* (S. 741-749). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Frings, S., & Müller, F. (2012). Gustatorisches und olfaktorisches System. In J. Behrends, J. Bischofberger, R. Deutzmann, H. Ehmke, S. Frings, S. Grissmer, . . . E. Wischmeyer, *Duale Reihe Physiologie* (S. 712-723). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Landis, B., & Heckmann, J. (2014). Taste Disorders. In A. Welge- Luessen, & T. Hummel, *Management of Smell and Taste Disorders* (S. 179-188). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Müller, F., & Kaupp, U. (2013). Gustatorisches System. In E. Speckmann, J. Hescheler, & R. Köhling, *Physiologie* (S. 150-155). München: Elsevier Urban & Fischer.
- Ogawa, H. (2009). Taste and Smell. In S. Ozawa, & K. Fukuda, *Standard Textbook of Physiology*. Tokyo: Igakushoin.
- Scott, T., & Plata- Salaman, C. (1991). Coding of taste quality. In T. Getchel, *Smell and taste in health and disease*. New York: Raven Press.
- Witt, M., Reutter, K., & Miller, I. (2003). Morphology of the Peripheral Taste System. In R. Doty, *Handbook of Olfaction and Gustation*. New York: Marcel Dekker.

10.3. Zeitschriftenartikel

- Aggleton, J., Burton, M., & Passingham, R. (1980). Cortical and subcortical afferents to the amygdala of the rhesus monkey. *Brain Res*(190: 347-368).
- Aglioti, S., Tassinari, G., Corballis, M., & Berlucchi, G. (2000). Incomplete gustatory lateralization as shown by analysis of taste discrimination after callosotomy. *J Cogn Neurosci* (12: 238 – 245).
- Aglioti, S., Tassinari, G., Fabri, M., Del Pesce, M., Quattrini, A., Manzoni, T., & Berlucchi, G. (2001). Taste laterality in the split brain. *Eur J Neurosci*(13 (1): 195-200).
- Ahne, G., Erras, A., Hummel, T., & Kobal, G. (2000). Assessment of Gustatory Function by Means of Tasting Tablets. *Laryngoscope* (110: 1396-1401).
- Amarenco, P., Roullet, E., Hommel, M., Chaine, P., & Marteau, R. (1990). Infarction in the territory of the medial branch of the posterior inferior cerebellar artery. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*(53:731-735).
- Bartel, D., Sullivan, S., Lavoie, E., Sevigny, J., & Finger, T. (2006). Nucleoside triphosphate diphosphohydrolase-2 is the ecto-ATPase of type I cells in taste buds. *J Comp Neurol* (497: 1-12).
- Bartoshuk, L. (1989). Clinical evaluation of the sense of taste. *Ear Nose Throat J* (68(4): 331-337).

- Baylis, L., Rolls, E., & Baylis, G. (1995). Afferent connections of the caudolateral orbitofrontal cortex taste area of the primate. *Neuroscience*(64: 801-812).
- Beckstead, R., Morse, J., & Norgren, R. (1980). The nucleus of the solitary tract in the monkey: projections the thalamus and brain stem nuclei. *J Comp Neurol* (190 (2): 259-282).
- Brunet, D., Murray, M., & Michel, C. (2011). Spatiotemporal Analysis of Multichannel EEG: CARTOOL. *Computational Intelligence and Neuroscience* .
- Bujas, Z. (1980). Adequate stimulation of taste receptors and summated cortical responses in man. *Acta Inst Psychol Univ Zagrab* (87: 3-21).
- Bujas, Z., & Chweitzer, A. (1934). Contribution à l'étude du gout dit électrique. *L'année psychologique* (35:147).
- Bujas, Z., & Mayer, D. (1977). Sensory effects of continuous and iterative electrical stimulation of the tongue. *Acta Inst Psychol Univ Zagrabensis* (87: 11-21).
- Cauda, F., D'Agata, F., Sacco, K., Duca, S., Geminiani, G., & Vercelli, A. (2011). Functional connectivity of the insula in the resting brain. *Neuroimage* (55 (1): 8-23).
- Cavada, C., Company, T., Tejedor, J., Cruz- Rizzolo, R., & Reinoso- Suarez, F. (2000). The anatomical connections of the Macaque Monkey Orbitofrontal Cortex – A review. *Cereb Cortex* (10 (3): 220 – 242).
- Clapp, T., Stone, L., Margolskee, R., & Kinnamon, S. (2001). Immunocytochemical evidence for co-expression of Typ III IP3 receptor with signaling components of bitter taste transduction. *BMC Neurosci* (2: 6).
- Clapp, T., Yang, R., Stoick, C., Kinnamon, S., & Kinnamon, J. (2004). Morphologic characterization of rat taste receptor cells that express components of the phospholipase C signaling pathway. *J Comp Neurol* (468:311–321).
- Craig, A., Chen, K., Bandy, D., & Reiman, E. (2000). Thermosensory activation of insular cortex. *Nat Neurosci* (3(2):184 – 190).
- De Araujo, I., Kringelbach, M., Rolls, E., & Hobden, P. (2003a). Representation of umami taste in the human brain. *J Neurophysiol*(90(1):313–319).
- De Araujo, I., Kringelbach, M., Rolls, E., & McGlone, F. (2003b). Human cortical responses to water in the mouth, and the effects of thirst. *J Neurophysiol*(90(3):1865–1876).
- De Araujo, I., Rolls, E., Kringelbach, M., McGlone, F., & Phillips, N. (2003c). Taste-olfactory convergence, and the representation of the pleasantness of flavour, in the human brain. *Eur J Neurosci* (18 (7):2059–2068).
- DeFazio, R., Dvoryanchikov, G., Maruyama, Y., Kim, J., Pereira, E., Roper, S., & Chaudhari, N. (2006). Separate populations of receptor cells and presynaptic cells in mouse taste buds. *J Neurosci* (26: 3971-3980).
- Deshpande, D., Wang, W., McIlmoyle, E., Robinett, K., Schillinger, R., An, S., . . . Liggett, S. (2010). Bitter taste receptors on airway smooth muscle bronchodilate by localized calcium signaling and reverse obstruction. *Nat Med* (16: 1299 – 1304).
- Felsted, J., Ren, X., Chouinard- Decorte, F., & Small, D. (2010). Genetically determined differences in brain response to a primary food reward. *J Neurosci* (30 (7): 2428 – 2432).
- Finger, T., Bottger, B., Hansen, A., Anderson, K., Alimohammadi, H., & Silver, W. (2003). Solitary chemoreceptor cells in the nasal cavity serve as sentinels of respiration. *Proc Natl Acad Sci USA* (100: 8981 – 8986).

- Finger, T., Danilova, V., Barrows, J., Bartel, D., Vigers, A., Stone, L., . . . Kinnamon, S. (2005). ATP signaling is crucial for communication from taste buds to gustatory nerves. *Science* (310: 1495 – 1499).
- Frey, S., & Petrides, M. (1999). Re-examination of the human taste region: a positron emission tomography study. *Eur J Neurosci* (11(8): 2985–2988).
- Fujikane, M., Nakazawa, M., Ogasawara, M., Hirata, K., & Tsudo, N. (1998). Unilateral gustatory disturbance by pontine infarction. *Rinsho Shinkeigaku* (38: 342 – 343).
- Funakoshi, M., & Kawamura, Y. (1971). Summated cerebral evoked responses to taste stimuli in man. *Electroenceph clin Neurophysiol* (30: 205-209).
- Goto, N., Yamamoto, T., Kaneko, M., & Tomita, H. (1983). Primary pontine hemorrhage and gustatory disturbance: clinicoanatomic study. *Stroke* (14: 507 – 511).
- Gottfried, J. (2010). Central mechanisms of odour object perception. *Nat Rev Neurosci* (11 (9):628–641).
- Grabenhorst, F., & Rolls, E. (2008). Selective attention to affective value alters how the brain processes taste stimuli. *Eur J Neurosci* (27(3):723–729).
- Grabenhorst, F., Rolls, E., & Bilderbeck, A. (2008). How Cognition Modulates Affective Responses to Taste and Flavor: Top-down Influences on the Orbitofrontal and Pregenua Cingulate Cortices. *Cereb Cortex*(18(7):1549–1559).
- Grodd, W., Hu"lsmann, E., Lotze, M., Wildgruber, D., & Erb, M. (2001). Sensorimotor Mapping of the Human Cerebellum: fMRI Evidence of Somatotopic Organization. *Hum Brain Mapp*(13:55–73).
- Gudziol, H., & Hummel, T. (2007). Normative values for the assessment of gustatory function using liquid tastants. *Acta Otolaryngol* (127: 658-661).
- Guest, S., Grabenhorst, F., Essick, G., Chen, Y., Young, M., McGlone, F., . . . Rolls, E. (2007). Human cortical representation of oral temperature. *Physiol Behav* (92(5):975 – 984).
- Haase, L., Cerf- Ducastel, B., & Murphy, C. (2009). Cortical activation in response to pure taste stimuli during the physiological states of hunger and satiety. *Neuroimage* (44 (3): 1008 – 1021).
- Harris, H., & Kalmus, H. (1949). The measurement of taste sensitivity to phenylthiourea (P.T.C.). *Ann Eugen* (15: 24-31).
- Hayato, R., Ohtubo, Y., & Yoshii, K. (2007). Functional expression of ionotropic purinergic receptors on mouse taste bud cells. *J Physiol* (584: 473 – 488).
- Henkin, R., Gill, J., & Bartter, F. (1963). Studies on taste thresholds in normal man and in patients with adrenal cortical insufficiency: the role of adrenal cortical steroids and serum sodium concentration. *J Clin Invest* (42:727-735).
- Huang, A., Chen, X., Hoon, M., Chandrashekar, J., Guo, W., Trankner, D., . . . Zuker, C. (2006). The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature* (442: 934 – 938).
- Huang, Y., Dando, R., & Roper, S. (2009). Autocrine and paracrine roles for ATP and serotonin in mouse taste buds. *J Neurosci* (29: 13909 – 13918).
- Huang, Y., Maruyama, Y., Stimac, R., & Roper, S. (2008). Presynaptic (Type III) cells in mouse taste buds sense sour (acid) taste. *J Physiol* (586: 2903 – 2912).
- Hummel, T., Erras, A., & Kobal, G. (1997). A test for the screening of taste function. *Rhinology* (35: 146-148).
- Hummel, T., Genow, A., & Landis, B. (2010). Clinical assessment of human gustatory function using event related potentials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*(81: 459-464).

- Iannilli, E., Del Gratta, C., Gerber, J., Romani, G., & Hummel, T. (2008). Trigeminal activation using chemical, electrical, and mechanical stimuli. *Pain*(139(2): 376–388).
- Iannilli, E., Noennig, N., Hummel, T., & Schoenfeld, A. (2014). Spatio- temporal correlates of taste processing in the human primary gustatory cortex. *Neuroscience* (273: 92-99).
- Iannilli, E., Singh, P., Schuster, B., Gerber, J., & Hummel, T. (2012). Taste laterality studied by means of umami and salt stimuli: an fMRI study. *Neuroimage*(60 (1): 426-435).
- Ikeda, K. (1909). New seasonings. *J Tokyo Chem* (30: 820–836).
- Ikui, A. (2002). A review of objective measures of gustatory function. *Acta Otolaryngol Suppl* (546: 60-68).
- Iwatsuki, K., Ichikawa, R., Uematsu, A., Kitamura, A., Uneyama, H., & Torii, K. (2012). Detecting sweet and umami tastes in the gastrointestinal tract. *Acta Physiol*(204: 169 – 177).
- Kinnamon, S. (2009). Umami taste transduction mechanisms. *Am J Clin Nutr* (90(3): 753 – 755).
- Kinnamon, S. (2012). Taste Receptor Signaling – From Tongues to Lungs. *Acta Physiol (Oxf)* (204(2): 158 – 168).
- Kobal, G. (1985). Gustatory evoked potentials in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* (62:449-454).
- Kobayakawa, T., Endo, H., Ayabe-Kanamura, S., Kumagai, T., Yamaguchi, Y., Kikuchi, Y., . . . Ogawa, H. (1996). The primary gustatory area in human cerebral cortex studied by magnetoencephalography. *Neurosci Lett* (212: 155–158).
- Kobayakawa, T., Ogawa, H., Kaneda, H., Ayabe- Kanamura, S., Endo, H., & Saito, S. (1999). Spatio-temporal analysis of cortical activity evoked by gustatory stimulation in humans. *Chem Senses* (24: 201-209).
- Kobayakawa, T., Saito, S., & Gotow, N. (2012). Temporal characteristics of neural activity associated with perception of gustatory stimulus intensity in humans. *Chemosens Percept*(5 (1): 80).
- Krarup, B. (1958). Electrogustometry: a method of taste examination. *Acta Otolaryngol (Stockh.)* (49: 294-305).
- Kringelbach, M., O’ Doherty, J., Rolls, E., & Andrews, C. (2003). Activation of the human orbitofrontal cortex to a liquid food stimulus is correlated with its subjective pleasantness. *Cereb Cortex* (13 (10): 1064 – 1071).
- Kuhn, C., Bufe, B., Batram, C., & Meyerhof, W. (2010). Oligomerization of TAS2R bitter taste receptors. *Chem Senses* (35: 395 – 406).
- Landis, B., & Guinand, N. (2009a). Selective taste disorder after temporal bone fracture. *J Clin Neurosci* (16 (4): 605).
- Landis, B., Leuchter, I., San Millan Ruiz, D., Lacroix, J., & Landis, T. (2006). Transient hemiageusia in cerebrovascular lateral pontine lesions. *J Neurol Neurosurg (Psychiatry* 77, 680 – 683).
- Landis, B., Welge- Luessen, A., Brämerson, A., Bende, M., Mueller, C., Nordin, S., & Hummel, T. (2009b). „Taste strips“ – a rapid, lateralized, gustatory bedside identification test based on impregnated filter papers. *J Neurol* (256: 242-248).
- Lee, B., Hwang, S., Rison, R., & Chang, G. (1998). Central pathway of taste: clinical and MRI study. *Eur Neurol* (39: 200 – 203).
- Lehmann, D. (1971). Multichannel topography of human alpha EEG fields. *Clin Neurophysiol* (31: 439-449).
- Lehmann, D., Marqui, P., & Michel, C. (2009). EEG microstates. *Scholarpedia* (4: 7632).
- Lehmann, D., Ozaki, H., & Pal, I. (1987). EEG alpha map series: brain micro-states by space- oriented adaptive segmentation. *Clin Neurophysiol* (67: 271-288).

- Manzi, B., & Hummel, T. (2014). Intensity of regionally applied tastes in relation to administration method: an investigation based on the “Taste strips” test. *Eur Arch Otorhinolaryngol* (271: 411-415).
- Marinella, M. (2008). Paraneoplastic salt dysgeusia. *South Med J* (101 (12): 1275-1276).
- Max, M., Shanker, Y., Huang, L., Rong, M., Liu, Z., Campagne, F., . . . Margolskee, R. (2001). Tas1r3, encoding a new candidate taste receptor, is allelic to the sweet responsiveness locus Sac. *Nat Genet* (28: 58 – 63).
- Miyoshi, M., Abe, K., & Emori, Y. (2001). IP(3) receptor type 3 and PLCbeta2 are co- expressed with taste receptors T1R and T2R in rat taste bud cells. *Chem Senses* (26: 259 – 265).
- Mizoguchi, C., Kobayakawa, T., Saito, S., & Ogawa, H. (2002). Gustatory evoked cortical activity in humans studied by simultaneous EEG and MEG recording. *Chem Senses* (27:629-634).
- Montmayeur, J., Liberles, S., Matsunami, H., & Buck, L. (2001). A candidate taste receptor gene near a sweet taste locus. *Nat Neurosci* (4: 492 – 498).
- Mueller, C., Kallert, S., Renner, B., Stiassny, K., Temmel, A., Hummel, T., & Kobal, G. (2003). Quantitative assessment of gustatory function in a clinical context using impregnated “taste strips”. *Rhinology* (41:2–6).
- Nakagawa, Y., Nagasawa, M., Yamada, S., Hara, H., Mogami, H., Nikolaev, V., . . . Kojima, I. (2009). Sweet taste receptor expressed in pancreatic beta-cells activates the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion. *PLoS One* (4: e5106).
- Nakajima, M., Ohtsuki, T., & Minematsu, K. (2010). Bilateral hypogeusia in a patient with a unilateral paramedian thalamic infarction. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (81 (6): 700-701).
- Nelson, G., Chandrashekar, J., Hoon, M., Feng, L., Zhao, G., Ryba, N., & Zuker, C. (2002). An amino-acid taste receptor. *Nature* (416: 199 – 202).
- Nelson, G., Hoon, M., Chandrashekar, J., Zhang, J., Ryba, N., & Zuker, C. (2001). Mammalian sweet taste receptors. *Cell* (106: 381 – 390).
- Nishimoto, K., Horita, R., Egawa, M., & Furuta, S. (1996). Clinical evaluation of taste dysfunction using salt-impregnated taste strip. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* (58: 258-261).
- O’ Doherty, J., Deichmann, R., Critchley, H., & Dolan, R. (2002). Neural responses during anticipation of a primary taste reward. *Neuron* (33 (5): 815 – 826).
- O’ Doherty, J., Rolls, E., Francis, S., Bowtell, R., & McGlone, F. (2001). Representation of pleasant and aversive taste in the human brain. *J Neurophysiol* (85 (3): 1315 – 1321).
- Ohla, K., Hudry, J., & Coutre, J. (2009). The cortical chronometry of electrogustatory event-related potentials. *Brain Topogr* (22: 73-82).
- Onoda, K., & Ikeda, M. (1999). Gustatory disturbance due to cerebrovascular disorder. *Laryngoscope* (109: 123 – 128).
- Pause, B., Sojka, B., Krauel, K., & Ferstl, R. (1996). The nature of the late positive complex within the olfactory event-related potential (OERP). *Psychophysiology*(33: 376 - 384).
- Perez, C., Huang, L., Rong, M., Kozak, J., Preuss, A., Zhang, H., . . . Margolskee, R. (2002). A transient receptor potential channel expressed in taste receptor cells. *Nat Neurosci* (5: 1169 – 1176).
- Pingel, J., Oswald, J., Pau, H., Hummel, T., & Just, T. (2010). Normative data for a solution-based taste test. *Eur Arch Otorhinolaryngol* (267:1911-1917).
- Plattig, K. (1969). Über den elektrischen Geschmack. Reizstärkeabhängige evozierte Hirnpotentiale nach elektrischer Reizung der Zunge des Menschen. *Z Biol* (116: 161-211).
- Rossler, P., Kroner, C., Freitag, J., Noe, J., & Breer, H. (1998). Identification of a phospholipase C beta subtype in rat taste cells. *Eur J Cell Biol* (77: 253 – 261).

- Sainz, E., Korley, J., Battey, J., & Sullivan, S. (2001). Identification of a novel member of the T1R family of putative taste receptors. *J Neurochem* (77: 896 – 903).
- Schaupp, H. (1971). Probleme der objektiven Gustometrie. *Z Laryng Rhinol* (50: 208-213).
- Schoenfeld, M., Neuer, G., Tempelmann, C., Schüßler, K., Moesselt, T., Hopf, J., & Heinze, H. (2004). Functional magnetic resonance tomography correlates of taste perception in the human primary taste cortex. *Neuroscience* (127(2):347–353).
- Schuster, B., Iannilli, E., Gudziol, V., & Landis, B. (2009). Gustatory testing for clinicians. *B-ENT 5 Suppl*(13: 109-113).
- Segovia, C., Hutchinson, I., Laing, D., & Jinks, A. (2002). A quantitative study of fungiform papillae and taste pore density in adults and children. *Brain Res Dev Brain Res* (138(2): 138 – 146).
- Shah, A., Ben- Shahr, Y., Moninger, T., Knline, J., & Welsh, M. (2009). Motile Cilia of Human Airway Epithelia Are Chemosensory. *Science* , S. 325(5944): 1131-1134.
- Shikama, Y., Kato, T., Nagaoka, U., Hosoya, T., Katagiri, T., Yamaguchi, K., & Sasaki, H. (1996). Localization of the gustatory pathway in the human midbrain. *Neurosci Lett*(218: 198 – 200).
- Singh, P., Iannilli, E., & Hummel, T. (2011). Segregation of gustatory cortex in response to salt and umami taste studied through event-related potentials. *Neuroreport* (22(6):299–303).
- Small, D. (2010). Taste representation in the human insula. *Brain Struct Funct*(214 (5-6): 551-561).
- Small, D., & Prescott, J. (2005). Odor/ Taste integration and the perception of flavor. *Exp Brain Res* (166 (3-4): 345 – 357).
- Small, D., Jones- Gotman, M., Zatorre, R., Petrides, M., & Evans, C. (1997b). A role for the right anterior temporal lobe in taste quality recognition. *J Neurosci* (17: 5136-5142).
- Small, D., Jones-Gotman, M., & al., e. (1997a). Flavor processing: more than the sum of its parts. *Neuroreport* (8(18):3913–3917).
- Smutzer, G., Lam, S., Hastings, L., Desai, H., Abarintos, R., Sobel, M., & Sayed, N. (2008). A test for measuring gustatory function. *Laryngoscope* (118 (8): 1411-1416).
- Stillman, J., Morton, R., Hay, K., Ahmad, Z., & Goldsmith, D. (2003). Electrogustometry: strengths, weakness, and clinical evidence of stimulus boundaries. *Clin Otolaryngol* (28: 406-410).
- Tizzano, M., Gulbransen, B., Vandenbeuch, A., Clapp, T., Herman, J., Sibhatu, H., . . . Finger, T. (2010). Nasal chemosensory cells use bitter taste signaling to detect irritants and bacterial signals. *Proc Natl Acad Sci USA* (107: 3210 – 3215).
- Tomita, H., Ikeda, M., & Okuda, Y. (1986). Basis and practice of clinical taste examinations. *Auris Nasus Larynx* (13: 1-15).
- Uesaka, Y., Nose, H., Ida, M., & Takagi, A. (1998). The pathway of gustatory fibers of the human ascends ipsilaterally in the pons. *Neurology* (50: 827 – 828).
- Vandenbeuch, A., & Kinnamon, S. (2009). Why do taste cells generate action potentials? *J Bio* (8: 42).
- Vandenbeuch, A., Clapp, T., & Kinnamon, S. (2008). Amiloride-sensitive channels in type I fungiform taste cells in mouse. *BMC Neurosci* (9: 1).
- Veldhuizen, M., Albrecht, J., Zelano, C., Boesveldt, S., Breslin, P., & Lundström, J. (2011). Identification of human gustatory cortex by activation likelihood estimation. *Hum Brain Mapp* (32 (12): 2256 – 2266).
- Welge- Lüssen, A., Döring, P., Wolfensberger, M., Krone, F., & Hummel, T. (2011). A study about the frequency of taste disorders. *J Neurol* (258 (3): 386-392).
- Yoshida, R., Miyauchi, A., Yasuo, T., Jyotaki, M., Murata, Y., Yasumatsu, k., . . . Ninomiya, Y. (2009). Discrimination of taste qualities among mouse fungiform taste bud cells. *J Physiol* (587: 4425 – 4439).

- Zhang, Y., Hoon, M., Chandrashekar, J., Mueller, K., Cook, B., Wu, B., . . . Ryba, N. (2003). Coding of sweet, bitter, and umami tastes: different receptor cells sharing similar signaling pathways. *Cell* (112: 293 – 301).
- Zhang, Z., Zhao, Z., Margolskee, R., & Liman, E. (2007). The transduction channel TRPM5 is gated by intracellular calcium in taste cells. *J Neurosci* (27: 5777 – 5786).

10.4. Poster

- Bartmuss, A., Gupta, N., Harju, H., Hummel, T., & Iannilli, E. (2010). Characterization of gustatory event related potentials related to salt and sweet quality.