

Aus der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde
Direktor: Herr Prof. Dr. med. Dr. h.c. Thomas Zahnert

Olfaktorische Gewöhnung an monomolekulare Düfte – periphere
olfaktorische Korrelate

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

Anica Schunke

aus Frankfurt(Oder)

Dresden 2020

2. Blatt (2. Seite)

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der mündlichen Prüfung: (Verteidigungstermin)

gez.: _____
Vorsitzender der Promotionskommission

Anmerkung:

Die Eintragung der Gutachter und Tag der mündlichen Prüfung (Verteidigung) erfolgt nach Festlegung von Seiten der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden. Die oben genannten Eintragungen werden durch die Doktoranden nach der Verteidigung zwecks Übergabe der fünf Pflichtexemplare an die Zweigbibliothek Medizin in gedruckter Form oder handschriftlich vorgenommen.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	7
1.1. Gewöhnung	7
1.2. olfaktorisches System	9
1.2.1. Anatomie der Nase	10
1.2.2. Riechbahn	11
1.3. Elektroolfaktogramm	13
2. Material und Methoden	16
2.1. Probanden	16
2.2. Duftstoffe	16
2.3. Studiendesign	18
2.3.1. Allgemeiner Versuchsaufbau	18
2.3.2. Olfaktometer	20
2.3.3. Psychophysische Messung	22
2.3.4. Elektrophysiologische Messung	23
2.4. Statistische Methoden	27
3. Ergebnisse	29
3.1. Psychophysische Messung	29
3.2. Elektrophysiologische Messung	32
3.2.1. Amplitude	35
3.2.2. Latenzzeit	38
3.3. Lateralisierungstest	40
4. Diskussion	42
4.1. Elektrophysiologische Messung	43
4.2. Lateralisierungstest	48
4.3. Psychophysische Messung	49
5. Zusammenfassung	50
6. Literaturverzeichnis	54
Anhang	58
A. Einwilligungserklärung	59
B. Fragebogen Habituation	62

C. Riechprüfung „Sniffin Sticks“

63

D. Velopharyngeale Atmung

64

Abbildungsverzeichnis

1.1. Aufbau der Riechschleimhaut „Regio olfactoria“ (stark vergrößert)	11
1.2. neuronale Verschaltung im Bulbus olfactorius	12
2.1. Ablauf Versuchstag 1	19
2.2. Ablauf Versuchstag 2	20
2.3. Duftstoffsequenz	21
3.1. Intensitätswahrnehmung in Abhängigkeit von der Reizfolge für PEA	30
3.2. Intensitätswahrnehmung in Abhängigkeit von der Reizfolge für Eugenol	30
3.3. Intensitätswahrnehmung in Abhängigkeit von der Reizfolge für Iso E Super	31
3.4. Intensitätswahrnehmung in Abhängigkeit von der Reizfolge für Manzanate	31
3.5. Aufgezeichnete EOGs einer vollständigen Duftstoffsequenz	32
3.6. Aufgezeichnetes EOG eines einzelnen Duftstimulus	33
3.7. Verteilung der Anzahl abgeleiteter Signale aufgeschlüsselt nach Duftstoff	34
3.8. Mittlere Anzahl abgeleiteter Signale pro Reiznummer unter Berücksichtigung der Standardabweichung als Durchmesser der Datenpunkte	35
3.9. Verteilung der Amplitude je Proband	35
3.10. Verteilung der Amplitude je Proband ohne Proband 2 und 3	36
3.11. Amplitude in Abhängigkeit von der Reizfolge für PEA	36
3.12. Amplitude in Abhängigkeit von der Reizfolge für Eugenol	37
3.13. Amplitude in Abhängigkeit von der Reizfolge für Iso E Super	37
3.14. Amplitude in Abhängigkeit von der Reizfolge für Manzanate	38
3.15. Latenzzeit in Abhängigkeit von der Reizfolge für PEA	39
3.16. Latenzzeit in Abhängigkeit von der Reizfolge für Eugenol	39
3.17. Latenzzeit in Abhängigkeit von der Reizfolge für Iso E Super	40
3.18. Latenzzeit in Abhängigkeit von der Reizfolge für Manzanate	40
3.19. Vergleich der Lokalisierungswahrscheinlichkeiten zwischen PEA (rot) und den anderen verwendeten Duftstoffen (Eugenol, Iso E Super, Manzanate)	41

Abkürzungsverzeichnis

EOG Elektroolfaktogramm

ISI Interstimulus Intervall

ORN olfaktorische Rezeptorneurone

EEG Elektroenzephalogramm

MRT Magnetresonanztomographie

1. Einleitung

1.1. Gewöhnung

Der Mensch ist tagtäglich Tausenden Sinneseindrücken ausgesetzt. Er sieht mit den Augen, hört mit den Ohren, fühlt mit der Haut, schmeckt mit der Zunge und riecht mit der Nase. Mit Hilfe dieser 5 klassischen Sinne ist es dem Menschen möglich, seine Umwelt wahrzunehmen und gegebenenfalls Gefahren zu erkennen. Würden all diese Sinneseindrücke, die zu großen Mengen gleichzeitig auf den Organismus eintreffen, verarbeitet werden, so käme es in kürzester Zeit zu einer Überlastung des Systems. Insbesondere könnten wichtige Alarmsignale in der Masse untergehen und den Menschen gefährden. Aus diesem Grund ist es von besonderer Bedeutung unwichtige und sich wiederholende Umweltreize zu filtern, diese zu ignorieren und somit für neue Sinneseindrücke empfänglich zu sein. Aus eigener Erfahrung ist bekannt, dass der eigene Herzschlag, die Atmung aber z. B. auch der eigene Körpergeruch sowie der Geruch des Partners mit der Zeit nicht mehr wahrgenommen werden. Dieser Prozess nennt sich Gewöhnung.

Gewöhnung im Sinne der Habituation wird klassischerweise definiert als eine Abnahme der Verhaltensreaktion nach wiederholter Stimuluspräsentation, welche keine sensorische Adaptation/Ermüdung oder motorische Ermüdung mit einbezieht ([Rankin et al., 2009](#)). Sie beschreibt eine einfache Form des Lernens und erfolgt beim Menschen in der Regel unterbewusst. In einer Arbeit von Thompson und Spencer ([Thompson & Spencer, 1966](#)) wurden 9 verhaltensbezogene Grundsätze der Habituation beschrieben. Auf Grundlage neuer Forschungsarbeiten wurden diese 2009 in einer Arbeitsgruppe von Rankin und Kollegen ([Rankin et al., 2009](#)) überarbeitet und um einen weiteren Grundsatz ergänzt.

- Merkmal 1: Die wiederholte Darbietung eines Reizes führt zu einer progredienten Abnahme der Reizantwort bis auf ein asymptotisches Niveau. Dabei kann es sich um eine Abnahme der Frequenz und/oder der Größe der Reizantwort handeln. In den meisten Fällen ist diese Abnahme exponentiell. Es gibt jedoch auch lineare Abnahmen der Reizantwort.
- Merkmal 2: Wird der Reiz nach Abnahme der Reizantwort vorenthalten, so kann sich die Reizantwort abhängig vom Beobachtungszeitraum teilweise oder vollständig wiederherstellen (spontane Erholung).
- Merkmal 3: Nach mehrfachen Serien von Stimuluswiederholungen und anschließender spontaner Erholung kommt es dazu, dass sich die Abnahme der Reizantwort sukzessive schneller und/oder ausgeprägter einstellt (Potenzierung der Habituation).

- Merkmal 4: Bei gleichbleibenden Umständen gilt: Stimulationen mit höherer Frequenz führen zu einer schnelleren und/oder ausgeprägteren Abnahme der Reizantwort sowie zu einer schnelleren spontanen Erholung (solange die Antwortabnahme ein asymptotisches Niveau erreicht hat).
- Merkmal 5: Innerhalb einer Stimulusmodalität gilt: Je niedriger die Intensität des Stimulus desto schneller und/oder ausgeprägter ist die Abnahme der Verhaltensreaktion. Bei sehr starken Stimulusintensitäten kann keine signifikante Abnahme der Verhaltensreaktion beobachtet werden.
- Merkmal 6: Die Effekte wiederholter Stimulationen können sich akkumulieren auch wenn die Reizantwort bereits ein asymptotisches Niveau (z. B. Null, nicht Null oder keine Reizantwort) erreicht hat. Dieser Effekt der anhaltenden Stimulation nach Erreichen des asymptotischen Niveaus kann späteres Verhalten ändern (z. B. verzögertes Einsetzen spontaner Erholung).
- Merkmal 7: Innerhalb der selben Stimulusmodalität gilt: Die Abnahme der Reizantwort zeigt einige Stimulusspezifitäten. Um diese Stimulusspezifität/-generalisierung testen zu können, muss ein zweiter (neuer) Stimulus präsentiert und die Unterschiede zwischen der Reizantwort des habituierten Stimulus und der des neuen Stimulus verglichen werden.
- Merkmal 8: Die Präsentation eines andersartigen Stimulus führt zu einer Zunahme der abnehmenden Reizantwort auf den ursprünglichen Stimulus (Dishabituation). Wichtig dabei ist, dass der geeignete Test zur Darstellung der Dishabituation mit einem Anstieg der Reizantwort des ursprünglichen Stimulus einhergeht und nicht mit einer Zunahme der Reizantwort des dishabituierenden Stimulus. Allerdings muss der dishabituierende Stimulus diese Reaktion nicht allein auslösen.
- Merkmal 9: Bei wiederholter Darbietung des dishabituierenden Stimulus führt die Summe der Dishabituationen zu einer Abnahme der Reizantwort (Habituation der Dishabituation).
- Merkmal 10: Manche Formen der Stimuluswiederholung können eine Abnahme der Reizantwort bewirken, welche über Stunden, Tage oder auch Wochen hinweg anhält (Langzeithabituation).

Der Begriff Habituation beschreibt eine Abnahme der Verhaltensreaktion nach wiederholter Stimuluspräsentation. Im Rahmen der klassischen Definition wurden die sensorische und motorische Ermüdung explizit ausgeschlossen. Seit mehreren Jahren ist jedoch bekannt, dass Gewöhnung bereits auf Ebene der Sinnesrezeptoren beginnt. Dieser Vorgang nennt sich Adaptation. Unter dem Begriff Adaptation werden alle Mechanismen zusammengefasst, die zu einer reversiblen, vorübergehenden Anpassung der Empfindlichkeit eines Sinnessystems, Sinnesorgans oder eines Rezeptors und so zu einer Änderungen der Reizintensität führen (Hensel, 1966). Zur genaueren Differenzierung wurde in einer Arbeit von Pellegrino und

Kollegen ([Pellegrino et al., 2017](#)) bezüglich des Geruchssinns zwischen der peripheren und zentralen Adaptation unterschieden. Die periphere Adaptation stellte dabei Veränderungen auf Rezeptorebene (präglomeruläre Neurone) und die zentrale Adaptation auf zerebraler Ebene (postglomeruläre Neurone) dar.

In allen sensorischen Systemen findet Adaptation statt, wie z. B. die Hell-Dunkel-Adaptation des Auges oder die Anpassung des Gehörsinns auf einen konstanten Geräuschpegel. Bei all diesen Prozessen kommt es unter anderem durch die Anpassung der Empfindlichkeit der Sinnesrezeptoren an eine konstante Reizintensität/-dauer zu einer Abnahme des Rezeptorpotentials und darüber zu einer Abnahme der Verhaltensreaktion. Auch der Geruchssinn unterliegt dem Prozess der Adaptation. Ein jedermann bekanntes Beispiel für die Gewöhnung an Gerüche ist die Wahrnehmung von Parfum. Im Moment des Auftragens wird das Parfum auf der eigenen Kleidung intensiv wahrgenommen. Bereits nach wenigen Minuten erlischt diese Geruchswahrnehmung. Erst wenn man sich erneut auf diesen Geruch konzentriert und z. B. an seiner Kleidung riecht, wird das Parfum wieder intensiv wahrgenommen. Nur auf diese Weise ist es uns möglich neue Gerüche wahrzunehmen und zu erkennen. Von besonderer Bedeutung ist die Gewöhnung in Gefahrensituationen. Würden wir dauerhaft nur unser aufgetragenes Parfum wahrnehmen, dann könnten wir z. B. im Falle eines Brandes nicht den neu aufgetretenen Brandgeruch wahrnehmen und auf diesen reagieren. Wie dieses Beispiel zeigen soll, verhindert der Prozess der Gewöhnung nicht nur eine Überlastung des menschlichen Organismus, sondern schützt diesen auch in Gefahrensituationen.

1.2. olfaktorisches System

Der Geruchssinn gehört zu den chemischen Sinnen, da er die Wahrnehmung von chemischen Substanzen (den Duftstoffen) beschreibt. Die Aufgaben des Geruchssinns sind sehr vielfältig. Zum einen informiert er über Nahrungsquellen, leitet Verdauungsreflexe ein und warnt vor Gefahren. Zum anderen findet über die Verschaltung zum limbischen System stets eine subjektive Bewertung der Geruchsempfindung statt. Eine weitere wichtige Aufgabe neben der Geruchswahrnehmung stellt die Filterung dieser Fülle an Informationen dar. Der Mensch ist in der Lage mehrere Tausend Duftstoffe von einander unterscheiden zu können ([Bushdid et al., 2014](#)). Damit es zu keiner Überlastung des olfaktorischen Systems kommt, gibt es, wie bereits in Abschnitt 1.1 erläutert, Mechanismen (Adaptation) um diese Informationen zu filtern.

Aufgrund der großen Anzahl an wahrnehmbaren Duftstoffen ist eine genaue Einteilung in verschiedenen Duftkategorien schwierig und immer willkürlich. Aus diesem Grund gibt es viele verschiedene Klassifizierungssysteme. Eines der am häufigsten verwendeten Systeme stellt das von John E. Amoore dar. Er unterscheidet 7 Grundgerüche „kampferartig, moschusartig, mentholartig, blumig, ätherisch, stechend und faulig“, denen die Duftstoffe zugeordnet werden können.

Die Wahrnehmung der einzelnen Duftstoffe beginnt an der Riechschleimhaut in der Nase, dem olfaktorischen Epithel. Neben dem olfaktorischen System sind hauptsächlich noch das nasal-trigeminale und das gustatorische System an der Geruchswahrnehmung beteiligt. Aber auch die akustische, optische und taktile Wahrnehmung beeinflussen unser Geruchsempfinden.

1.2.1. Anatomie der Nase

Die Nase hat zwei Nasenlöcher (Nares), welche den äußeren Zugang zu der Nasenhöhle (Cavitas nasi) bilden. Die Nasenhöhle wird dabei medial durch das Septum nasi in eine linke und in eine rechte Nasenhöhle unterteilt. An der lateralen Nasenwand befinden sich die Nasenmuschel (Conchae nasalis inferior, media und superior). Jeweils unter den 3 Nasenmuschel befindet sich ein Nasengang (Meatus nasi inferior, medius und superior). Am dorsalen Ende der Nasenhöhle münden diese über zwei trichterförmige Choanae in den Epipharynx. Am Nasenhöhldach befindet sich die Lamina cribrosa, welche eine direkte Verbindung zur vorderen Schädelgrube darstellt. Über diese Struktur können die Fila olfactoria als N. olfactorius zum Bulbus und Tractus olfactorius gelangen.

Topografisch und histologisch lassen sich die Nasenhöhlen in 3 Bereiche gliedern „Regio cutanea, Regio respiratoria und Regio olfactoria“. Die Regio cutanea befindet sich im Naseneingangsbereich (Vestibulum nasi) und wird mit dem mehrschichtigen, verhornten Plattenepithel der Haut ausgekleidet. Die Regio respiratoria und Regio olfactoria werden mit Schleimhaut (Tunica mucosa) überzogen, welche entsprechend der unterschiedlichen Funktionen verschieden aufgebaut ist. Die Regio respiratoria dient der Befeuchtung und Reinigung der Atemluft. Sie stellt den größten Anteil der Nasenschleimhaut dar. Entsprechend ihrer Funktionen wird sie aus einem respiratorischen Flimmerepithel mit intraepithelialen Becherzellen gebildet. Die Regio olfactoria stellt hingegen nur eine wenige Quadratzentimeter große Fläche dar, welche die obere Nasenmuschel, den angrenzenden Teil des Septum nasi und das Nasenhöhldach auskleidet. Diese Schleimhautregion wird auch als Riechschleimhaut oder olfaktorisches Epithel bezeichnet.

Das olfaktorische Epithel ist ein mehrreihiges Epithel mit 4 verschiedenen Zelltypen (Riechsinneszellen, Basalzellen, Stützzellen und Mikrovillizellen), einer Lamina propria und einem speziellen Riechschleim. Der Riechschleim wird von den Bowman-Drüsen (Glandulae olfactoriae) gebildet und überzieht das gesamte olfaktorische Epithel. In diesem Schleimfilm werden die Duftstoffe auf ihrem Weg zu den Rezeptoren der Riechsinneszellen gelöst und zum Teil an spezielle Proteine, den sogenannten olfaktorischen Bindungsproteinen (OBP), gebunden. Die Stützzellen sind Epithelzellen, welche das Gewebe stützen sollen. Einen weiteren Zelltyp des olfaktorischen Epithels stellen die Basalzellen dar. Sie sind undifferenzierte, teilungsfähige Stammzellen aus denen ständig neue Riechsinneszellen gebildet werden können. Das olfaktorische Epithel beinhaltet ca. 10-30 Millionen Riechsinneszellen. Sie stellen die erste Station der Riechbahn dar.

In der Nasenschleimhaut findet man neben den Riechsinneszellen auch Fasern des Nervus trigeminus. Der N. trigeminus ist für die Wahrnehmung der stechenden, beißenden oder kühlenden Eigenschaften wie z. B. von Chlor und Ammoniak verantwortlich.

1.2.2. Riechbahn

Die Riechsinneszellen oder auch olfaktorische Rezeptorneurone (ORN) (Abbildung 1.1) gehören zu den primären Sinneszellen, da sie neben den Rezeptorpotentialen auch Aktionspotentiale generieren können. Das Rezeptorpotential wird am apikalen Pol der Riechsinneszelle, dem Dendriten gebildet. Jede Riechsinneszelle besitzt dabei nur einen einzigen Dendriten. Aus einer Verdickung der Dendriten, dem Riechkegel, entspringen 5-30 Zilien. Diese liegen parallel zur Epitheloberfläche im Riechschleim und tragen die Rezeptormoleküle. Dabei findet man auf den Zilien einer Riechsinneszelle stets nur Rezeptoren eines Typs. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass jeder Rezeptortyp nicht nur einen einzigen, sondern eine Gruppe von Duftstoffen binden kann. Das liegt daran, dass viele Duftstoffe aus unterschiedlichen Molekülen aufgebaut sind, welche an unterschiedliche Rezeptoren binden können (Buck & Axel, 1991).

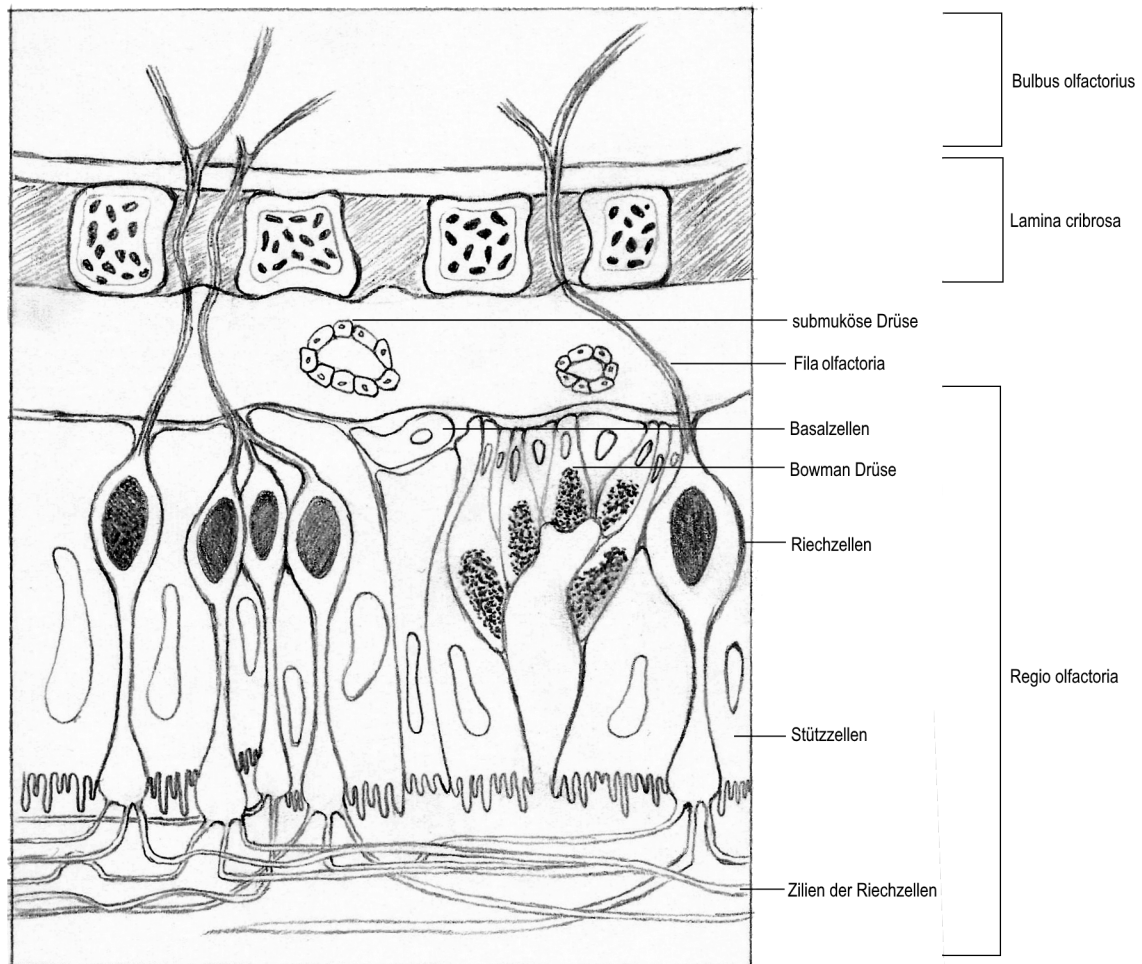


Abbildung 1.1.: Aufbau der Riechschleimhaut „Regio olfactoria“ (stark vergrößert)

Daraus resultiert die große Bandbreite an wahrnehmbaren Düften. Die Dendriten der Riechsinneszellen gehen am Fuß der Riechschleimhaut ins Soma über. Aus dem Soma jeder Riechsinneszelle entspringt ein dünnes, markloses Axon. In ihnen wird das Aktionspotential gebildet. Die marklosen Axone der Riechsinneszellen stellen somit das 1. Neuron der Riechbahn dar.

Auf dem Weg zum Bulbus olfactorius (Abbildung 1.2) werden die einzelnen Axone von einer modifizierten Glia-Zelle umgeben und auf diese Weise zu Faserbündeln, den Fila olfactoria, zusammengefasst. Die Fila olfactoria ziehen am Nasenhöhlendach durch die Lamina cribrosa in die vordere Schädelgrube (Fossa cerebri anterior). Nach dem Durchtritt durch die Lamina cribrosa vereinigen sich die Fila olfactoria zum Nervus olfactorius (1. Hirnnerv) und ziehen zum Riechkolben (Bulbus olfactorius). Hier findet die erste synaptische Verarbeitung der olfaktorischen Information statt.

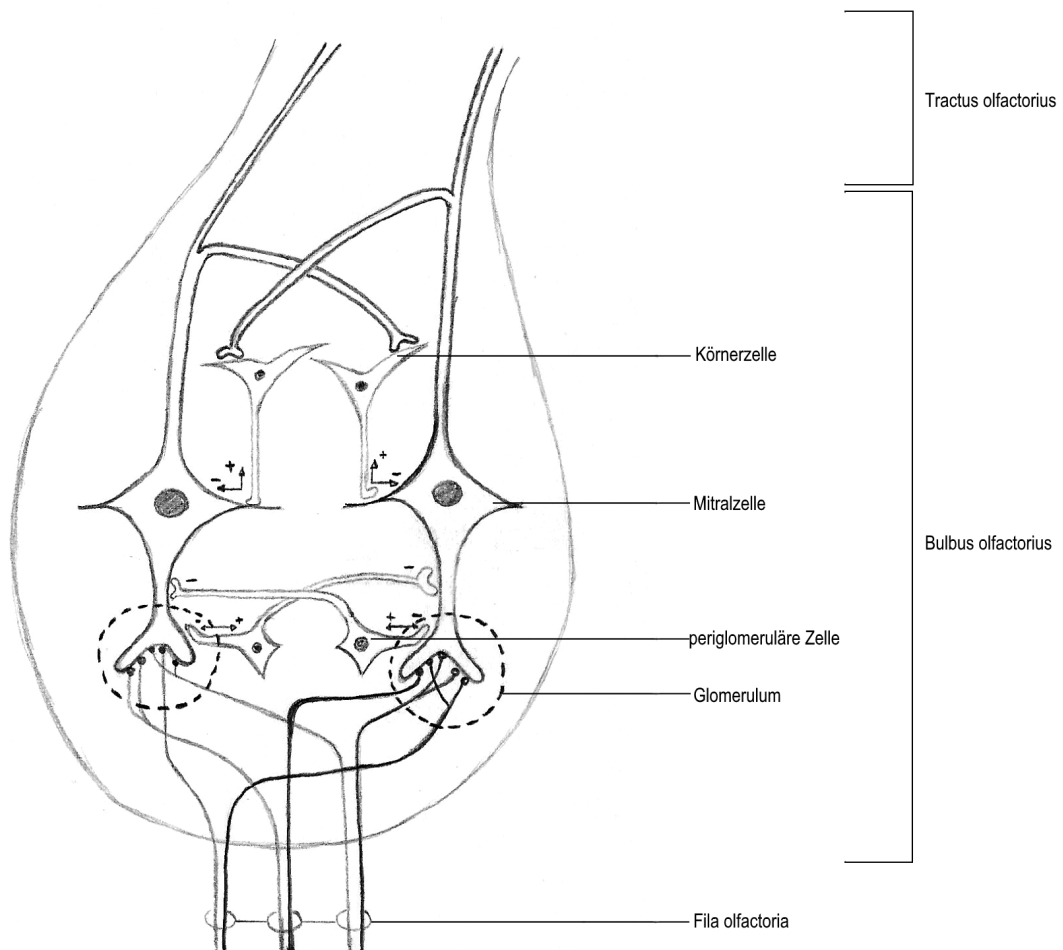


Abbildung 1.2.: neuronale Verschaltung im Bulbus olfactorius

Der Bulbus olfactorius beinhaltet einige Hunderte von Gliazellen umhüllte, dichte sphäroide oder ellipsoide Nervengeflechte. Diese Nervengeflechte werden auch Glomeruli olfactorii genannt. In jedem einzelnen Glomerulum vereinigen sich mehrere Axone von Riechsinneszellen mit gleicher Selektivität, d. h. ein und demselben Rezeptortyp. In den Glomeruli

treffen die marklosen Axone (1. Neuron) auf die im Bulbus olfactorius gelegenen Mitral- und Büschelzellen (2. Neuron) und bilden mit ihnen synaptische Verbindungen. Neben den Mitral- und Büschelzellen findet man im Bulbus olfactorius noch hemmende Interneurone, die Körnerzellen und periglomerulären Zellen. Diese Zellen werden von Kollateralen der Mitral- und Büschelzellen aktiviert. Sie sorgen für eine laterale Hemmung der Mitralzellen und somit zur Kontrastverschärfung. Durch diesen Vorgang können die einzelnen Duftstoffe besser von einander unterschieden werden.

Aus dem Bulbus olfactorius ziehen die Axone der Mitralzellen und Büschelzellen an der Unterseite des Frontallappens als Tractus olfactorius nach dorsal zum Großhirn. Besonders an der Riechbahn ist, dass die Mitralzellen und Büschelzellen als sogenannte Projektionsneurone direkt in die Großhirnrinde projizieren, ohne dass vorher eine Zwischenschaltung im Thalamus erfolgt.

Der Tractus olfactorius wird entsprechend seiner Aufzweigung im Trigonum olfactorium in zwei Anteile, den Stria olfactoria lateralis und medialis untergliedert. Die Stria olfactoria lateralis haben 3 Projektionsziele, den Corpus amygdaloideum, den präpiriformen Kortex und den enthorinalen Kortex. In der Amygdala (Corpus amygdaloideum) findet eine emotionale Bewertung des wahrgenommenen Duftstoffes statt. Vom präpiriformen Kortex, der sogenannten primären Riechrinde, erfolgt eine Weiterleitung der Riechinformationen über den Thalamus zum orbitofrontalen Kortex. Im orbitofrontalen Kortex erfolgt nach bisherigen Kenntnissen die bewusste Wahrnehmung von Gerüchen, weshalb er auch als sekundär olfaktorischer Kortex bezeichnet wird. Das 3. Projektionsziel der Stria olfactoria lateralis stellt der enthorinale Kortex als Teil des limbischen Systems dar. Er ist für die Gedächtnisbildung verantwortlich. Das bedeutet für den Geruchssinn, dass hier z. B. Gerüche mit bestimmten Ereignissen verknüpft und gespeichert werden. Im Vergleich zu den Stria olfactoria lateralis weisen die Stria olfactoria medialis nur 2 Projektionsziele auf. Zum einen das Tuberculum olfactorium und zum anderen die Area septalis. Die Area septalis ist wie der enthorhinale Cortex ein Teil des limbischen Systems und somit an der Gedächtnisbildung beteiligt. Im Tuberculum olfactorium werden Afferenzen aus verschiedenen Hirnarealen gebündelt. Es erfolgt auf diese Weise eine Verknüpfung der eintreffenden Impulse mit der Geruchswahrnehmung. Hier erfolgt z. B. auch die Verknüpfung von Geschmackseindrücken mit den entsprechenden Geruchswahrnehmungen.

1.3. Elektroolfaktogramm

Das Elektroolfaktogramm (EOG) gehört neben dem Elektroenzephalogramm zu den wenigen Messverfahren der objektiven Riechprüfung. Mit Hilfe einer speziellen Elektrode ist es möglich, elektrische Potentiale von der Oberfläche des olfaktorischen Epithels abzuleiten. Das auf diese Weise aufgezeichnete Potential stellt die Summe aller Generatorpotentiale der aktivierten ORN dar und wird EOG genannt.

Ottoson (Ottoson, 1956) gelang es 1956 erstmalig vom olfaktorischen Epithel von Fröschen langsame, negative, monophasische Potentiale abzuleiten. Er zeigte dabei, dass diese Po-

tentiale ihren Ursprung in den ORN des olfaktorischen Epithels haben. Charakteristisch für diese Potentiale ist ein schneller Anstieg gefolgt von einem langsamen Abfall. In einigen Fällen kann dem negativen Potential ein kurzes positives Potential vorangehen. Die genaue Ursache dieser positiven Potentialänderung ist bis heute nicht geklärt.

Osterhammel und Kollegen ([Osterhammel et al., 1969](#)) waren mehr als 10 Jahre später die ersten Wissenschaftler, denen es gelungen war negative Potentiale von der menschlichen Riechschleimhaut abzuleiten. Sie konnten zeigen, dass das dabei aufgezeichnete **EOG** mit dem von Ottoson vergleichbar ist. Trotz dieser Erkenntnisse gab es viele Jahre nur wenige Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet. Es schien nicht möglich, zuverlässig elektrische Potentiale vom olfaktorischen Epithel abzuleiten. Ursächlich dafür waren sowohl Schwierigkeiten bei der Reizgebung als auch der Reizregistrierung. Von zentraler Bedeutung bei der Reizgebung ist die Spezifität der zu registrierenden Reizantwort. Dafür müssen das Singularitätspostulat und die Synchronizität erfüllt sein ([Kobal, 1981](#)).

- Singularitätspostulat: Jede zusätzliche zum Reiz synchrone Änderung des afferenten Informationsflusses muss experimentell kontrolliert sowie Synchronisierungen der Spontanaktivität mit dem Reiz so weit wie möglich reduziert werden.
- Synchronizität: Jede Antwort, die als Wirkung eines bestimmten Substrates angesehen wird, muss bei dessen Ausschaltung unterbleiben. Zudem muss eine enge zeitliche Relation zwischen Reiz und Reizantwort beobachtbar sein.

Zur Lösung des Problems der Reizgebung entwickelte Kobal 1981 eine spezielle Reizapparatur, das sogenannte Fluss-Olfaktometer (Abschnitt [2.3.2](#)). Mit Hilfe des Olfaktometers konnten mechanische und thermische Artefakte während der Applikation von Duftstimuli reduziert werden. Zudem wurde eine synchrone Erregung der Mechanorezeptoren des N. trigeminus verhindert. Dies ist sehr wichtig, da in mehreren Arbeiten ([Kobal, 1981](#); [Thürauf et al., 1993](#); [Hummel, 2000](#)) gezeigt werden konnte, dass nach einer Aktivierung des N. trigeminus ebenfalls negative Potentiale von der Nasenschleimhaut abgeleitet und diese nicht vom **EOG** unterschieden werden können. Somit konnte mit Hilfe des Fluss-Olfaktometers das Singularitätspostulat erfüllt werden.

Auch die **EOG**-Ableittechnik (Reizregistrierung) wurde in den letzten Jahren weiterentwickelt. Kobal entwickelte neben dem Fluss-Olfaktometer eine spezielle Ableitelektrode zur Aufzeichnung des **EOG**. Zudem führte er die Mundatmung (auch velopharyngeale Atmung) als Randbedingung zu dessen Registrierung ein. Die velopharyngeale Atmung soll atmungsabhängige Luftströmungen mit thermischen und mechanischen Begleiterscheinungen reduzieren respektive verhindern (Abschnitt [2.3.1](#)). Trotz dieser Neuerungen gibt es weiterhin große Schwierigkeiten bei der Positionierung der Ableitelektrode. Bereits Osterhammel erwähnte in seiner Arbeit ([Osterhammel et al., 1969](#)) die Problematik der Elektrodenpositionierung auf dem anatomisch schwer zugänglichen olfaktorischen Epithel als auch die Schwierigkeit, dabei keine Irritationen der Nasenschleimhaut oder Niesattacken hervorzurufen. Aufgrund dieser eben genannten Schwierigkeiten bei der Elektrodenpositionierung und der Störanfälligkeit des **EOGs** wird dieses im klinischen Alltag nicht routinemäßig zur objektiven Riechprüfung

angewandt. Die intensive Arbeit von Kobal führte jedoch dazu, dass es in den letzten Jahren immer mehr wissenschaftliche Arbeiten zum menschlichen Geruchssinn mit Hilfe von **EOG**-Aufzeichnungen gab.

Einige dieser Arbeiten beschäftigten sich mit den Grundlagen resp. Eigenschaften des **EOGs**. Eine ausführliche Übersichtsarbeit zu diesem Thema wurde 2013 von Lapid und Hummel erarbeitet (Lapid & Hummel, 2013). Des Weiteren gibt es Forschungsarbeiten in denen die Verteilung des olfaktorischen Epithels und der **ORN** auf der Nasenschleimhaut untersucht wurden (Lapid et al., 2011; Paik et al., 1992; Leopold et al., 2000). Zentrales Thema der aktuellen Forschungen stellt die Geruchsgewöhnung dar. Mit Hilfe des Elektroenzephalogramm (**EEG**s) (Kobal, 1981; Hummel et al., 1996; Boesveldt et al., 2007) und der Magnetresonanztomographie (**MRT**) (Sinding et al., 2017) konnte bereits mehrfach das Phänomen der Geruchsgewöhnung auf zentralnervöser Ebene nachgewiesen werden. Ein Nachweis von peripherer Adaptation auf Ebene des olfaktorischen Epithels gelang bisher am menschlichen Organismus nicht. In Tierversuchen hingegen konnte bereits mit Hilfe von **EOG**-Aufzeichnungen gezeigt werden, dass komplexe Vorgänge der Geruchsgewöhnung bereits auf Ebene des olfaktorischen Epithels stattfinden (Zufall & Leinders-Zufall, 2000). Aus diesem Grund soll in dieser Studie untersucht werden, ob der Vorgang der Geruchsgewöhnung auch im menschlichen Organismus bereits auf Ebene des olfaktorischen Epithels beginnt.

Daraus ergab sich folgende Fragestellung: Kommt es bei der olfaktorischen Gewöhnung an monomolekulare Duftstoffe auf Ebene des olfaktorischen Epithels zu Veränderungen in der Signaltransduktion?

Zur Aufzeichnung der elektrischen Potentiale diente das bereits mehrfach bewährte **EOG**. Als Kenngrößen der Veränderungen in der Signaltransduktion, welche eine mögliche olfaktorische Gewöhnung darstellen sollten, wurden die Amplitude und Latenzzeit festgelegt. Die Amplitude diente bereits in den oben genannten Studien als Kenngröße und zeigte im Falle der Gewöhnung eine Abnahme. Im Rahmen dieser Studie soll zudem untersucht werden, ob es auch zu Veränderungen der Latenzzeit der elektrischen Signale, z. B. in Form einer Zunahme kommt.

Die Arbeitshypothese welche im Rahmen dieser Studie geprüft werden sollte, lautete: Bei der olfaktorischen Gewöhnung an monomolekulare Duftstoffe kommt es zu Veränderungen in der Signaltransduktion im olfaktorischen Epithel, welche mit Hilfe des **EOGs** messbar sind.

2. Material und Methoden

2.1. Probanden

An der durchgeführten Studie nahmen insgesamt 36 Probanden teil. Davon waren jeweils 18 Teilnehmer Frauen und 18 Teilnehmer Männer. Das durchschnittliche Alter betrug 25 Jahre (männlich: 25,5; weiblich: 24,6). Der jüngste Proband war zum Zeitpunkt der Datenerhebung 18 und der älteste 35 Jahre alt. Die Rekrutierung der Probanden erfolgte mit Hilfe von Aushängen auf dem Campus der TU-Dresden sowie über Mundpropaganda und persönliche Kontakte. Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie waren diverse Einschlusskriterien, wie z. B. Rechtshändigkeit, normales Riechvermögen und keine akuten oder ausgeprägt chronischen Erkrankungen der Nase oder Nasennebenhöhlen (siehe Anhang A). Es musste kein Proband aufgrund dieser Kriterien von der Studie ausgeschlossen werden. Von besonderer Bedeutung war dabei eine leere Anamnese in Bezug auf nasale Eingriffe oder Vorerkrankungen, da diese die Erfolgswahrscheinlichkeit für eine [EOG](#)-Ableitung minderten. Insgesamt gaben 9 Probanden an, unter saisonalen Allergien zu leiden. Dabei handelte es sich um Allergene, die im Sommer vermehrt vorkommen und im Zeitraum der Datenerhebung (Herbst/Winter) nicht präsent waren. Mit 30 Teilnehmern bildeten Studenten den Großteil der an der Studie teilnehmenden Probanden. Die übrigen 6 Probanden waren erwerbstätig. Des Weiteren erfolgte vor Beginn der Untersuchungen eine ausführliche mündliche und schriftliche Aufklärung über den Ablauf und mögliche Risiken der Studie sowie die Datenschutzbestimmungen. Die Probanden wurden zudem über ihr Recht aufgeklärt, die Teilnahme an der Studie ohne Angaben von Gründen jederzeit abbrechen zu können. Dieses Recht bestand auch auf Seiten des Untersuchers. Erst nachdem die Einwilligungserklärung (siehe Anhang A) unterschrieben wurde, konnte mit den Untersuchungen begonnen werden. Am Ende der Studie gab es für jeden Probanden eine kleine monetäre Aufwandsentschädigung. Die Studie wurde gemäß den ethischen Grundsätzen nach Maßgabe der Deklaration von Helsinki konzipiert und durch die Ethikkommission der TU-Dresden (GVOEK) unter der Antragsnummer EK 95032014 zustimmend bewertet.

2.2. Duftstoffe

Für die Studie wurden die Duftstoffe Eugenol (1-Hydroxy-2-Methoxy-4-Allyl-Benzol), ISO E Super (7-Acetyl- 1,2,3,4,5,6,7,8-Octahydro-1,1,6,7-Tetramethyl-Naphthalene), Manzanate (Ethyl 2-Methyl-Pentanoat) und PEA (2-Phenylethanol) der Firma „Sigma Aldrich“ (Steinheim, Germany) verwendet. Die Auswahl dieser Duftstoffe basierte auf einer vorangegangenen MRT-Studie ([Sinding et al., 2017](#)), in welcher festgestellt wurde, dass es unterschiedliche Grade der

Geruchsgewöhnung gibt. Die verwendeten Duftstoffe „Eugenol, Iso E Super und Manzanate“ stellten dabei jeweils einen Vertreter der unterschiedlichen Grade der Geruchsgewöhnung dar. PEA wurde als Kontroll- und „Lokalisierungsduftstoff“ in die Studie aufgenommen. Für die Arbeit am Olfaktometer wurden die Duftstoffe Eugenol, Iso E Super und PEA in ihrer Reinform verwendet. Der Duftstoff Manzanate musste vor seiner Verwendung am Olfaktometer auf eine 0,125%-ige Lösung verdünnt werden, da es in seiner Reinform zur Beschädigung der Duftstoffkammer des Olfaktometers führte. Damit die Ergebnisse der 4 verwendeten Duftstoffe später miteinander verglichen werden konnten, mussten diese im Vorfeld auf ein annähernd gleiches Intensitätsniveau gebracht werden. Dafür wurden die Duftstoffe „Eugenol, Iso E Super, Manzanate und PEA“ mit Hilfe des Olfaktometers soweit verdünnt (siehe Tabelle 2.1), dass sie nach subjektiver Einschätzung die gleiche Intensität aufwiesen. Neben der gleichen Intensität aller Duftstoffe war zudem wichtig, dass eine möglichst geringe Konzentration dieser verwendet wurde. Das bedeutet, jeder Duftstoff sollte nur schwach wahrnehmbar sein. Auf diese Weise sollte der Vorgang der Gewöhnung unterstützt respektive beschleunigt werden.

Tabelle 2.1.: Flusswerte Duftstoffe

Duftstoff	Einstellung	Verdünnung	Flussrate
Eugenol	0.8	2.3	6.85
Iso E Super	1	2.1	7.06
Manzanate	0.55	2.65	6.76
PEA	1.05	2.05	7.03

Der Duftstoff „PEA“ stellte im Rahmen dieser Arbeit ein Kontroll- bzw. Hilfsmittel dar. Aus älteren Arbeiten ([Kobal et al., 1989](#); [Doty et al., 1978](#); [von Skramlik, 1925](#)) ist für PEA bekannt, dass er überwiegend olfaktorische Eindrücke hervorruft und kaum stechende oder brennende Eigenschaften, welche über den N. trigeminus vermittelt werden, aufweist. Aufgrund dieser Eigenschaft kann PEA beim Richtungsriechen nicht eindeutig lokalisiert werden. Da für den Duftstoff „PEA“ bereits fundierte Kenntnisse über die Lokalisierbarkeit vorhanden sind ([Negoiias et al., 2013](#)) diente er für den Lateralisierungstest als Kontrollduftstoff. Es sollte somit eine Aussage bezüglich der trigeminal vermittelten Sensibilität der verwendeten Duftstoffe „Eugenol, ISO E-Super und Manzanate“ getroffen werden. Zudem wurde PEA im Rahmen der elektrophysiologischen Messung als Lokalisierungsduftstoff ([Lapid & Hummel, 2013](#)) genutzt. Das bedeutet, dass vor Beginn der Duftstoffsequenzen mit Hilfe der Applikation eines einzelnen, verdünnten PEA-Stimulus funktionstüchtige ORN-Populationen detektiert werden sollten. Auf diese Weise sollten unnötig häufige Wiederholungen der Duftstoffsequenzen vermieden und somit Verfälschungen der Ergebnisse verhindert werden.

2.3. Studiendesign

Für eine gute Vergleichbarkeit von Daten innerhalb von klinischen Studien und Untersuchungen müssen normierte Testbedingungen vorherrschen. Das bedeutet, dass die Rahmenbedingungen wie z. B. Versuchsaufbau und -ablauf für alle Probanden gleich sein müssen.

Damit diese Grundvoraussetzung erfüllt wurde, standen für den gesamten Zeitraum der Datenerhebung der gleiche Arbeitsbereich und die gleichen Untersuchungsgerätschaften zur Verfügung. Bei dem Arbeitsbereich handelte es sich um einen abgeschlossenen Raum mit einer Klimaanlage. Diese sorgte für eine stets konstante Raumtemperatur von 20-22 Grad Celsius. Zudem konnte mit Hilfe der Klimaanlage eine annähernd geruchsneutrale Raumluft erzeugt werden. Neben den standardisierten Umgebungsbedingungen sollte auch ein einheitlicher Versuchsablauf die Vergleichbarkeit der erhobenen Daten verbessern.

2.3.1. Allgemeiner Versuchsaufbau

Die Datenerhebung wurde für jeden Probanden auf zwei zeitlich voneinander getrennte Sitzungen aufgeteilt. Ausschlaggebend dafür waren zum einen die aufwendigen Vorbereitungen bzw. Voruntersuchungen der Probanden für die elektrophysiologische Messung und zum anderen das hohe Maß an Konzentration, welches seitens der Probanden für das erfolgreiche Gelingen der elektrophysiologischen Messung notwendig war.

Die Dauer der einzelnen Sitzungen betrug dabei im Durchschnitt 1-1,5 Stunden. Zwischen den einzelnen Versuchstagen lagen mindestens 7 und maximal 20 Tage (durchschnittlich 11 Tage). Ein Mindestabstand von 7 Tagen wurde eingehalten, um eine mögliche Beeinflussung bezüglich der Gewöhnung zwischen den beiden Versuchstagen so gering wie möglich zu halten. Zur Normierung der Testbedingungen liefen beide Versuchstage stets nach einem festen Schema ab. Das bedeutet, dass die Reihenfolge und der Ablauf der Untersuchungen für jeden Probanden identisch waren. Der Versuchstag 1 beinhaltete neben der psychophysischen Messung (Abschnitt [2.3.3](#)) auch alle organisatorischen und vorbereitenden Maßnahmen für den Versuchstag 2. Den zentralen Bestandteil des 2. Versuchstages stellte die elektrophysiologische Messung (Abschnitt [2.3.4](#)) dar.

Versuchstag 1

Zu den organisatorischen Maßnahmen am Versuchstag 1 gehörten die schriftliche und mündliche Aufklärung der Probanden. Im Rahmen dieser Aufklärung wurden der Ablauf und mögliche Risiken der Studie erläutert. Nach Unterzeichnung einer entsprechenden Einwilligungserklärung erfolgte die Erhebung der Ein- und Ausschlusskriterien sowie zusätzlicher individueller Aspekte (siehe Anhang 1 – 3).

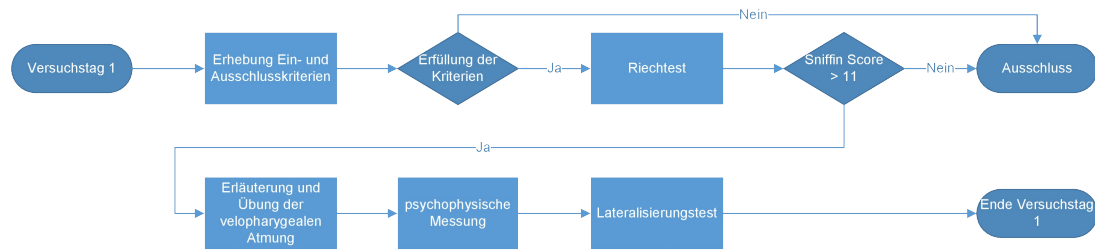


Abbildung 2.1.: Ablauf Versuchstag 1

Im Anschluss an den Fragebogen erfolgte mit Hilfe von Riechstiften (Sniffin-Sticks, Burghart GmbH, Wedel, Germany) die Erfassung des Riechvermögens der Probanden (Hummel et al., 2001, 1997). Dabei wurden den Probanden insgesamt 16 Gerüche zur Identifizierung angeboten (siehe Anhang C). Nur wenn mindestens 12 von den 16 Gerüchen richtig benannt wurden, konnte von einem normalen Riechvermögen ausgegangen werden. In diesem Fall wurden die Probanden in die Studie aufgenommen. Einen weiteren Abschnitt des 1. Versuchstages bildete die Übung einer speziellen Atemtechnik, der sogenannten velopharyngealen Atmung. Diese Atmung musste für die elektrophysiologischen als auch psychophysischen Messungen beherrscht werden (siehe Abschnitt 2.3.2). Besonders an der velopharyngealen Atmung ist, dass durch das Anheben des Gaumensegels die Mundhöhle von der Nasenhöhle abgedichtet wird und es somit bei der Atmung durch den Mund zu keinem Luftstrom durch die Nase kommt. Die anatomischen Verhältnisse wurden den Probanden mit Hilfe von Bildmaterialien (siehe Anhang D) veranschaulicht. Zur Überprüfung der korrekten Durchführung dieser Atemtechnik erhielten die Probanden eine Nasensonde (Nasenbrille), welche an ein Oszilloskop angeschlossen wurde. Mit Hilfe des Oszilloskops konnte der Luftstrom über die Nase aufgezeichnet werden. Die Atmung wurde korrekt ausgeführt, wenn am Oszilloskop keine Ausschläge, das heißt Luftströme aufgezeichnet werden konnten. Neben einer kurzen Übungseinheit von ca. 1 Minute wurden auch während der psychophysischen Messung die intranasalen Luftströme aufgezeichnet. Auf diese Weise konnte überprüft werden, dass die Probanden die velopharyngeale Atmung zum einen über einen längeren Zeitraum und zum anderen trotz Ablenkung unterbewusst aufrecht erhalten können. Die psychophysische Messung stellte neben der korrekten Durchführung der velopharyngealen Atmung den zentralen Bestandteil des 1. Versuchstages dar. Sie beinhaltet die Messung der subjektiven Bewertung von Duftstoffintensitäten und wird in Abschnitt 3.1 detailliert beschrieben.

Am Ende des 1. Versuchstages stand der Lateralisierungstest (Frasnelli et al., 2009). Mit Hilfe dieses Testverfahrens wird ermittelt wie gut ein Duftstoff lokalisiert werden kann. Dafür wurden den Probanden passiv über eine spezielle Apparatur Luftströme in die Nase appliziert. Jedes Nasenloch erhielt dabei gleichzeitig aus zwei voneinander abgeschlossenen Systemen einen Luftstrom gleicher Intensität. Der einzige Unterschied bestand darin, dass sich in einem der abgeschlossenen Systeme keine Frischluft, sondern einer der 4 verwendeten Duftstoffe befand. Die Probanden mussten dann angeben, in welchem Nasenloch sie den Duftstoff wahrgenommen haben. Dies erfolgte für jeden Duftstoff insgesamt 20 mal, wobei die Seite des Duftstoffes stets entsprechend eines festen Schemas geändert wurde.

Versuchstag 2

Den Hauptbestandteil des 2. Versuchstages bildete die elektrophysiologische Messung. Bevor mit den Vorbereitungen für diese begonnen wurde, konnten die Probanden erneut die velopharyngeale Atmung üben resp. trainieren. Nach dem Auffrischen der Atemtechnik erfolgte die endoskopische Beurteilung anatomischer Verhältnisse innerhalb der Nase der Probanden. Neben der Beurteilung der nasalen Gegebenheiten diente die endoskopische Untersuchung an dieser Stelle zusätzlich dem Zweck, dass sich die Probanden an das Endoskop gewöhnen und eventuelle Hemmungen ablegen konnten. Dieses Vorgehen sollte das Risiko von Niesreizen und ruckartigen Bewegungen während der Elektrodenpositionierung für die elektrophysiologische Messung senken. Im Anschluss daran wurden die Probanden für die elektrophysiologische Messung vorbereitet und es konnten die EOG-Aufzeichnungen, wie in Abschnitt 2.3.4 ausführlich erläutert wird, begonnen werden.

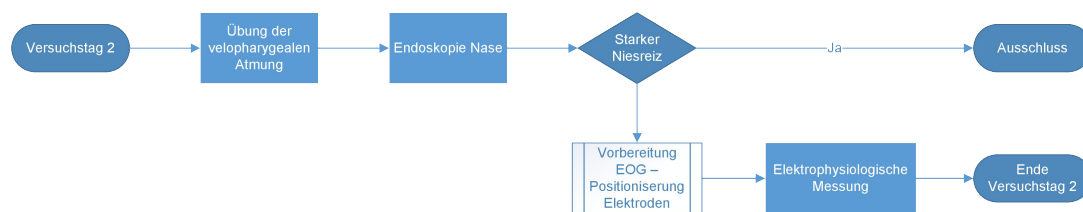


Abbildung 2.2.: Ablauf Versuchstag 2

2.3.2. Olfaktometer

Das Fluss-Olfaktometer stellt eine wichtige Schnittstelle in der objektiven Olfaktometrie dar (Gudziol & Wajnert, 2006). Es dient der Applikation von Duftstoffen bei EEG- und EOG-Aufzeichnung im Rahmen der Geruchsprüfung. Wie in Abschnitt 1.3 beschrieben, war es erst durch die Entwicklung des Fluss-Olfaktometers (Kobal, 1981) möglich Duftstöße mit einer definierten Konzentration und Dauer zu erzeugen, ohne dabei eine Miterregung eines anderen Informationsverarbeitungssystems hervorzurufen. Dafür wird beim Fluss-Olfaktometer ein Trägergas (Luft) mit konstantem Fluss verwendet. Zum Zeitpunkt der Duftstoffapplikation ändert sich lediglich die molekulare Zusammensetzung des verwendeten Trägergases und nicht dessen Flussgeschwindigkeit. Auf diese Weise wird eine duftreizsynchrone Aktivierung der Mechanorezeptoren des N. trigeminus vermieden. Zudem können mit Hilfe des Fluss-Olfaktometers Rechtecksignale erzeugt werden. Das bedeutet, dass die Konzentration eines Duftstoffes steil (nahezu senkrecht) auf einen definierten Betrag ansteigt, für eine bestimmte Dauer konstant gehalten wird und dann ebenso steil auf eine unterschwellige Konzentration abfällt.

Für diese Studie wurde ein Olfaktometer (Typ OM6b) der Firma „Burghart-Messtechnik“ (Wedel) verwendet. Es diente der Duftstoffapplikation während der psychophysischen Messungen (subjektive Riechprüfung) als auch der elektrophysiologischen Messungen (objektive Riechprüfung).

Mit Hilfe einer speziellen Computersoftware konnten für die verwendeten Duftstoffe „Eugenol, Iso E Super, Manzanate und PEA“ die benötigten Konzentrationen genau definiert werden. Zudem erfolgte eine exakte Festlegung der Duftstimulanzahl, -dauer und der zeitlichen Abstände zwischen den einzelnen Duftstimuli. Für diese Studie wurde ein spezielles Blockdesign verwendet, bei dem sich zwei Variablen stets abwechselten. Die erste Variable stellte der Duftstimulus dar. In diesem Fall handelte es sich dabei um einen intranasal applizierten Duftstoff definierter Konzentration. Die zweite Variable stellte das Interstimulus Intervall (ISI) dar und beschrieb das Zeitintervall zwischen dem Auftreten zweier Stimuli. Es stand also für die Zeit zwischen dem Ende eines ersten Duftstimulus und dem Anfang des darauffolgenden Duftstimulus. Im Rahmen dieser Studie wurden für die Dauer eines Duftstimulus 1 Sekunde und für die Dauer eines ISI 4 Sekunden festgelegt. Eine Duftstoffsequenz beinhaltete insgesamt 10 Wiederholungen eines Duftstimulus. Die erste Duftstoffapplikation erfolgte dabei stets nach 2 Sekunden. Jede einzelne Duftstoffsequenz dauerte somit exakt 48 Sekunden. Es wurde für jeden der vier verwendeten Duftstoffe (Eugenol, Iso E Super, Manzanate und PEA) eine separate Duftstoffsequenz erstellt.

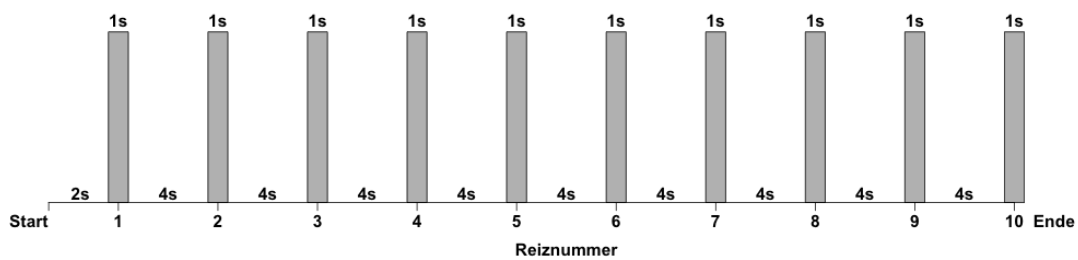


Abbildung 2.3.: Duftstoffsequenz

Damit eine Aussage bezüglich der Adaption getroffen werden konnte, musste die Konzentration der Duftstoffe für jeden einzelnen Duftstimulus innerhalb einer Duftstoffsequenz gleich bleiben. Zudem sollte die hohe Anzahl an Wiederholung der Duftstimuli und die kurzen ISI die Wahrscheinlichkeit des Einsetzens peripherer Adaptation erhöhen. Damit die Ergebnisse der psychophysischen Messung und der elektrophysiologischen Messung vergleichbar waren, wurden für beide Messungen die selben Duftstoffsequenzen verwendet. Des Weiteren bestand die Möglichkeit, dass die Reihenfolge der verwendeten Duftstoffe die Ergebnisse bezüglich des Auftretens peripherer Adaptation beeinflussen könnte. Um dieses Risiko zu minimieren, wurde die Reihenfolge der applizierten Duftstoffsequenzen für jeden Probanden geändert. Mit Hilfe eines lateinischen Quadrates der Dimension 4x4 konnte dabei ein ausgeglichenes Verhältnis der Duftstoffe bezüglich der Reihenfolge ihrer Darbietung geschaffen werden. In diesem Fall bedeutete es, dass durch die Verwendung des lateinischen Quadrates alle 4 Duftstoffe gleich oft in gleicher Reihenfolge vorkamen.

Die intranasale Applikation der eben beschriebenen Duftstoffsequenzen erfolgte über einen kurzen Teflonschlauch (8cm Länge, 2mm innerer Durchmesser), der mit Hilfe eines weichen, terminalen Nasenstücks im Naseneingang platziert werden konnte. Die Flussrate betrug dabei ca. 7 l/min. Diese wurde vor jeder neuen Messwertreihe manuell mit Hilfe eines externen Kalibrierungssystems überprüft und bei Bedarf entsprechend angepasst. Die Betriebstemperatur des Olfaktometers lag bei ungefähr 36 Grad Celsius und die Luftfeuchte bei ca. 80%. Auf diese Weise konnte eine thermische Reizung respektive Austrocknung der Nasenschleimhaut und somit eine ungewollte Erregung des N. trigeminus verhindert werden.

Zudem ist es mit Hilfe des Fluss-Olfaktometers möglich, von der Atmung unabhängige Duftstoffdarbietungen am olfaktorischen Epithel zu erhalten. Nur wenn die Probanden nicht aktiv durch die Nase ein- und ausatmen, kann das Ende des Duftstimulus unabhängig vom natürlichen Spülmechanismus (Verdünnung Duftstoff mit Atemluft) kontrolliert werden. Außerdem kann auf diese Weise ausgeschlossen werden, dass ein angebotener Duftstimulus während der Ausatmung gar nicht oder nur zum Teil zum olfaktorischen Epithel gelangt. Dafür mussten die Probanden eine spezielle Atemtechnik, die velopharyngeale Atmung (siehe Abschnitt 2.3.1), während der psychophysischen und elektrophysischen Messungen durchführen. Mit Hilfe des konstanten Luftstroms des Fluss-Olfaktometers gelangen die Duftstoffe trotz fehlender Atmung über die Nase zum olfaktorischen Epithel. Dabei wird eine annähernd gleiche Duftstoffverteilung in der gesamten Nasenhöhle erreicht (Scheibe et al., 2006).

2.3.3. Psychophysische Messung

Die psychophysische Messung stellte eine Methode zur Ermittlung der individuellen Riechempfindung dar und war Bestandteil des 1. Versuchstages. Das Verfahren dient der subjektiven Riechprüfung. Im Rahmen dieser Studie wurde die subjektive Wahrnehmung in Bezug auf die Intensität der einzelnen Duftstoffe ermittelt. Von zentralem Interesse war dabei, wie sich die Intensitätswahrnehmung bei gleichbleibenden Duftstoffkonzentrationen mit zunehmender Duftstimulusanzahl verhält.

Zur Duftstoffapplikation wurde, wie im vorherigen Abschnitt 2.3.2 ausführlich beschrieben, das Olfaktometer verwendet. Die Ermittlung der wahrgenommenen Duftstoffintensitäten erfolgt über ein Computerprogramm, mit dessen Hilfe visuelle Analogskalen dargestellt werden konnten. Diese erschienen stets 1 Sekunde nach jeder Duftstoffapplikation auf einem kleinen, ca. 2m vor den Probanden platziertem Monitor. Jede Analogskala wurde dabei durch einen Balken dargestellt, welcher von 0 (= keine Empfindung) bis +++ (= stärkste vorstellbare Empfindung) reichte. Die Probanden konnten dann mit Hilfe einer Computermaus innerhalb des angezeigten Balkens angeben, wie stark sie den Duftstoff wahrgenommen hatten. Das Zeitfenster zur Angabe der Intensitätswahrnehmung betrug dabei 3 Sekunden. Nach Ablauf der 3 Sekunden verschwand die visuelle Analogskala und es erfolgte die Applikation des nächsten Duftstimulus. Insgesamt mussten die Probanden für jeden verwendeten Duftstoff 10 Mal die wahrgenommene Duftstoffintensität bewerten und angeben. Zwischen den einzelnen Duftstoffsequenzen erhielten die Probanden zur kurzen Erholung eine Pause von 15-20 Se-

kunden. Für die statistische Auswertung wurden den unterschiedlichen Balkenfüllungen der visuellen Analogskala Zahlenwerte zugeordnet. Dabei erhielt ein Klick am linken Balkenende (0 = keine Empfindung) den Wert 0 und ein Klick am rechten Balkenende (+++ = stärkste vorstellbare Empfindung) den Wert 100. Somit konnten Werte zwischen 0 und 100 erfasst und zur statistischen Auswertung herangezogen werden.

Neben den 4 verschiedenen Duftstoffsequenzen wurde für die psychophysischen Messungen eine zusätzliche Probesequenz angelegt. Diese sollte den Probanden die Möglichkeit geben, sich mit dem Testverfahren und den aufgrund der hohen Anzahl an Duftstoffapplikationen mit geringen ISI kurzen Bewertungszeiträumen vertraut zu machen. Der Aufbau der Probesequenz war identisch zum Aufbau der Duftstoffsequenzen. Der einzige Unterschied lag darin, dass anstelle der Duftstoffe Kohlendioxid „CO₂“ in diese Nase der Probanden appliziert wurde. Auf diese Weise konnten die Probanden ein Gefühl für das Testverfahren und die kurzen Bewertungszeitfenster erhalten. Für die Probesequenz wurde CO₂ verwendet, da dieses Gas zu einer Erregung des N. trigeminus und nicht der ORN führt (Kobal, 1981). Auf diese Weise sollte eine mögliche Beeinflussung der anschließenden subjektiven Intensitätswahrnehmungen vermieden werden. Um jedoch eine Reizung der Nasenschleimhaut durch die CO₂-Applikationen zu verhindern, wurde nur eine sehr geringe Konzentration dieses Gases verwendet. Wie auch zwischen den einzelnen Duftstoffsequenzen erhielten die Probanden im Anschluss an die Probesequenz eine kurze Erholungspause. Während dieser bekamen die Probanden, wie bereits in Abschnitt 2.3.2 erläutert, zur Überprüfung der korrekten Ausführung der velopharyngealen Atmung zusätzlich zur Sonde des Olfaktometers eine Nasenbrille angelegt. Über diese wurde mit Hilfe eines Oszilloskop über den gesamten Zeitraum der psychophysischen Messungen der Luftstrom über die Nase aufgezeichnet. Zeigte die dabei aufgezeichnete Flusskurve keine oder nur geringe Auslenkungen von der Nulllinie, so wurde die velopharyngeale Atmung korrekt durchgeführt. Vorrangig sollte damit überprüft werden, ob die velopharyngeale Atmung auch unter Ablenkung über einen längeren Zeitraum aufrechterhalten werden konnte. Während der elektrophysiologischen Messungen an Versuchstag 2 konnte dies aufgrund der hohen Störanfälligkeit des Messverfahrens nicht überprüft werden.

2.3.4. Elektrophysiologische Messung

Die elektrophysiologische Messung ist ein Verfahren zur objektiven Riechprüfung. Wie in Abschnitt 1.3 beschrieben, können mit Hilfe des EOGs elektrische Potentiale vom olfaktorischen Epithel aufgezeichnet werden. Aufgrund der hohen technischen Expertise und Störanfälligkeit dieser Messmethode wird sie im klinischen Alltag jedoch nicht routinemäßig angewandt. Bereits Osterhammel und Kollegen (Osterhammel et al., 1969) wiesen auf die Schwierigkeit hin, die Elektrode zum einen auf der anatomisch gut versteckten Riechschleimhaut zu positionieren und zum anderen dabei keine Irritation der Nasenschleimhaut hervorzurufen. Des Weiteren können nicht nur biologische Aktivitäten (z. B. Duftstoffe) am olfaktorischen Epithel zu einer Potentialänderung führen. Es gibt weitere Stimuli (z. B. physikalische Größen),

welche vollkommen unabhängig von dieser biologischen Aktivität auftreten und zu Potentialschwankungen führen können. Um die Anfälligkeit des Versuchsaufbaus gegenüber nicht biologischen Stimuli zu vermindern, wurden im Vorfeld verschiedene Maßnahmen ergriffen. Eventuelle mechanosensorische Artefakte konnten durch die Verwendung des Olfaktometers und der velopharyngealen Atmung reduziert werden. Denn mit Hilfe eines konstanten Luftstroms (7 l/min), der angefeuchteten (80%) und auf Körpertemperatur angewärmten (ca. 36 Grad Celsius) Luft konnten intranasal physiologische Rahmenbedingungen geschaffen werden (Abschnitt 2.3.2).

Einen zentralen Bestandteil zur Aufzeichnung des EOG am olfaktorischen Epithel stellte die differente, intranasale Elektrode dar. Mit Hilfe dieser Elektrode konnten die Potentialänderungen am olfaktorischen Epithel aufgezeichnet werden. Bereits in früheren Studien (Mozell, 1962; Lapid & Hummel, 2013) erwies sich die Verwendung einer speziellen Elektrode als notwendig zur Reduktion von nicht biologischen Artefakten. Diese Elektrode bestand aus einem silberchlorierten Silberdraht, der sich innerhalb eines mit 1%-igem Ringer-Agar gefüllten Teflonschlauchs befand. Der Teflonschlauch diente zur Isolierung der Elektrode. Auf diese Weise konnte sichergestellt werden, dass die aufgezeichneten Potentialänderungen nur von der kleinen Fläche am distalen Pol der Elektrode herkommen können. Um den großen Widerstandsunterschied zwischen dem olfaktorischen Epithel und dem Silberdraht zu minimieren, wurde der Teflonschlauch mit 1%-igem Ringer-Agar befüllt. Das Ringer-Agar wurde aus 99g einer Elektrolytlösung „E156“ (B.Braun, Melsungen) und 1g Agar-Agar (Merck KGaA, Darmstadt) hergestellt. Innerhalb des Teflonschlauches durfte das Gemisch keine Brüche aufweisen, da es sonst erneut zu einer Widerstandserhöhung gekommen wäre. Um dieses Risiko zu minimieren, wurden die Elektroden täglich maximal eine Stunde vor den elektrophysiologischen Messungen für jeden Probanden neu hergestellt und erst kurz vor Beginn der Messungen an der Spitze gekürzt (Kobal, 1981).

Auf Grundlage älterer Arbeiten (Ottoson, 1956; Getchell, 1974) durfte die intranasale Elektrode nur oberflächlich auf dem olfaktorischen Epithel aufgesetzt werden, da mit zunehmender Eindringtiefe die Größe der Reizantwort abnimmt (Abschnitt 1.3). Durch den geringen Halt auf der Nasenschleimhaut war die Elektrode dementsprechend sehr anfällig gegenüber kleinsten Bewegungen respektive muskulären Kontraktionen, wie sie z. B. durch Blinzeln, Augenbewegungen und die mimische Muskulatur hervorgerufen werden. Zur Minimierung der daraus resultierenden elektrischen Artefakte wurden verschiedene Maßnahmen ergriffen. Dazu zählte zum einen eine entspannte und aufrechte Sitzposition am Olfaktometer. Dafür stand den Probanden ein gepolsterter Stuhl mit Nackenstütze, Armlehnen und einem Fußbrett zur Verfügung. Auf diese Weise sollten unwillkürliche Muskelkontraktionen hervorgerufen durch eine unbequeme Sitzhaltung minimiert werden. Zum anderen wurden die Probanden aufgefordert während der elektrophysiologischen Messungen ein in der Ferne angebrachtes Kreuz zu fixieren und dabei so wenig wie möglich zu blinzeln. Auf diese Weise sollten unbewusste Augenbewegungen und häufiges Blinzeln reduziert werden.

Elektrodenpositionierung

Neben der differentiellen, intranasalen Elektrode wurden für die elektrophysiologischen Messungen 4 weitere Elektroden im Gesicht resp. am Kopf der Probanden platziert. Bei diesen handelte es sich um vergoldete Elektroden, wie sie auch im Rahmen der EEG-Messungen verwendet werden. Die Fixation der Elektroden auf der Haut erfolgte dabei mit Hilfe eines speziellen, hautfreundlichen Elektrodenklebers. Zur Verbesserung der Elektrodenhaftung und Reduktion des Oberflächenwiderstandes der Haut wurde diese zuvor gründlich mit einem Hautdesinfektionsmittel gereinigt.

Von den 4 vergoldeten Elektroden diente ein Elektrodenpaar der Registrierung von Potentialänderungen, welche durch kleinste Bewegungen der Augenmuskulatur (z. B. Blinzeln) hervorgerufen werden (Lapid & Hummel, 2013). Dafür wurde eine Elektrode aufseiten der intranasalen Elektrode oberhalb des lateralen Endes der Augenbraue befestigt. Die entsprechende Referenzelektrode wurde am ipsilateralen Ohrläppchen angebracht. Eine weitere Elektrode zur Erdung wurde am kontralateralen Ohrläppchen befestigt. Aufgrund von nicht entfernbarem Ohrschmuck konnten bei insgesamt 3 Probanden diese Elektroden nicht am Ohrläppchen angebracht werden, sondern mussten am Mastoid befestigt werden. Die letzte der 4 vergoldeten Elektroden diente als Referenzelektrode für die differentielle, intranasale Elektrode und wurde am kontralateralen Nasenrücken angebracht. Um das Risiko des Verrutschens der intranasalen Elektrode zu minimieren, erfolgte erst die Platzierung der vergoldeten Elektroden und im Anschluss die der intranasalen Elektrode. Nach genauer Positionierung der intranasalen Elektrode wurde diese mit Hilfe einer von Prof. Dr. Hummel eigens dafür entwickelten Halterung befestigt. Diese stellte ein glasloses Brillengestell mit einem Klipp vor der Nase dar. In dem Klipp konnte die Elektrode befestigt und auf diese Weise über einen längeren Zeitraum in konstanter Position gehalten werden.

Für eine erfolgreiche EOG-Registrierung musste die differentielle, intranasale Elektrode im Bereich des olfaktorischen Epithels platziert werden. Aufgrund der anatomisch gut versteckten Lage des olfaktorischen Epithels erfolgte die Positionierung der Elektrode unter endoskopischer Sicht. Dafür wurde ein starres Endoskops mit 30 Grad Optik der Firma „Karl Storz“ (Tuttlingen) verwendet. Auf diese Weise konnte die intranasale Elektrode auf Ebene des Ansatzes der mittleren Nasenmuschel positioniert werden. Dieser Ort zeigte sich in vorangegangenen Studien (Leopold et al., 2000; Lapid & Hummel, 2013) im Vergleich zur Riechspalte als zugänglicher und somit besser geeignet für die Aufzeichnung eines EOG. Leopold und Kollegen (Leopold et al., 2000) konnten zeigen, dass in dieser Region ebenfalls vollentwickelte ORN zu finden sind. Zudem konnte in einer weiteren Studie (Paik et al., 1992) gezeigt werden, dass auch die menschliche Riechspalte nur zu 47% ORN enthält.

EOG-Registrierung

Nach der erfolgreichen Platzierung der intranasalen Elektrode auf dem olfaktorischen Epithel der Nasenschleimhaut konnte mit den elektrophysiologischen Messungen begonnen werden. Auch für diese Messungen diente das Olfaktometer zur Duftstoffapplikation (Abschnitt 2.3.2).

Mit dessen Hilfe wurden über ein spezielles Nasenstück ein konstanter Luftstrom oder entsprechend der angelegten Duftstoffsequenzen die Duftstimuli in das Nasenloch appliziert. Für die erfolgreiche Aufzeichnung des EOG am olfaktorischen Epithel mussten die Reizgebung (Nasensonde des Olfaktometers) und Reizmessung (intranasale Elektrode) in ein und dem selben Nasenloch lokalisiert sein. Um eine ungewollte Bewegung der intranasalen Elektrode zu vermeiden, wurde das Nasenstück des Olfaktometers nicht vollständig in das selbige Nasenloch eingeführt, sondern nur vorsichtig am Naseneingang platziert.

Nachdem die Probanden eine bequeme Sitzposition eingenommen hatten, konnte mit den elektrophysiologischen Messungen begonnen werden. Hierfür wurden, wie bereits für die psychophysischen Messungen, die eigens für diese Studie angelegten Duftstoffsequenzen (siehe Abschnitt 2.3.2) verwendet. Aufgrund der hohen Störanfälligkeit des Versuchsaufbaus erfolgte während dieser Messungen keine Beurteilung der subjektiven Intensitätswahrnehmung. Bereits durch kleinste Bewegungen bestand ein erhöhtes Risiko des Verrutschens der intranasalen Elektrode.

Die Aufzeichnung des EOGs erfolgte mit Hilfe eines Bioamplifiers (PowerLab 26T) der Firma „AD Instruments“ (Oxford, United Kingdom) und der dazugehörigen Software „LabChart“. Die Aufzeichnungsrate betrug dabei 1 kHz und es wurde für jede Messung ein Notch-Filter bei 50 Hz verwendet. Wie bereits im Abschnitt 1.3 beschrieben, beginnt die typische EOG-Kurve in den meisten Fällen mit einer kleinen und kurzen positiven Potentialänderung, gefolgt von einer ausgeprägten negativen Potentialänderung. Diese negative Potentialänderung wird auch Negativität genannt und war charakterisiert durch einen steilen Anstieg und einer langsamen Erholungsphase. Am Ende der Erholungsphase erreichte die EOG-Kurve wieder das Ursprungspotential, die sogenannte Baseline (Kobal, 1981; Ottoson, 1956). Durch die Pulswellen angrenzender Blutgefäße oder Mikrobewegungen der intranasalen Elektrode unterlag die Baseline während der gesamten Messungen kleinen Schwankungen. Für die elektrophysiologischen Messungen wurden kleine Schwankungen bis maximal 20 mikroV als tolerierbar angesehen. Lagen die Schwankungen der Baseline jedoch oberhalb dieser 20 mikroV, so war eine erfolgreiche EOG-Aufzeichnung nicht möglich. In diesem Fall wurde der Proband aufgefordert, erneut eine entspannte Sitzposition einzunehmen und auf die korrekte Ausführung der velopharyngealen Atmung zu achten. Zeigte sich eine annähernd konstante Baseline konnte mit der Applikation der Duftstimuli bzw. Duftstoffsequenzen begonnen werden.

An dieser Stelle erfolgte zur Überprüfung der korrekten Positionierung der intranasalen Elektrode die Applikation eines einzelnen, verdünnten PEA-Stimulus. Dieser diente, wie in Abschnitt 2.2 erläutert, aufgrund seiner speziellen Eigenschaften als Lokalisierungsduftstoff. Auf diese Weise konnten funktionstüchtige ORN-Populationen detektiert werden. Erst nach Aufzeichnung einer deutlichen negativen Potentialänderung entsprechend der Negativität des EOG wurde mit der Applikation der einzelnen Duftstoffsequenzen (Abschnitt 2.3.2) begonnen. In diesem Fall wurde angenommen, dass die intranasale Elektrode korrekt auf dem olfaktorischen Epithel der Nasenschleimhaut platziert war. Wurde nach der Applikation

des Lokalisierungsduftstoffes keine negative Potentialänderung aufgezeichnet, so musste die intranasale Elektrode neu positioniert werden. Aufgrund der sehr empfindlichen Nasenschleimhaut, welche nach wiederholter Manipulation rasch anschwell, konnte die Elektrode nicht unendlich oft neu platziert werden. War eine erfolgreiche EOG-Aufzeichnung nach max. 2-3 Neupositionierungen nicht möglich, erfolgte ein weiterer Versuch in dem benachbarten Nasenloch. War dort ebenfalls keine erfolgreiche Registrierung von negativen Potentialänderungen möglich, so wurden die elektrophysiologischen Messungen für diesen Probanden abgebrochen.

Insgesamt konnte bei 30 der 36 Probanden erfolgreich ein EOG abgeleitet werden. Für die Auswertung wurde für alle Messreihen ein Band-Stop-Filter (Minimum = 5 Hz; Maximum = 50 Hz) angewandt. Im Anschluss daran wurden alle aufgezeichneten EOG-Kurven hinsichtlich zweier Größen „Amplitude und Latenzzeit“ untersucht. Bei der Amplitude handelte es sich um die maximale Auslenkung der Kurve gegenüber der Baseline. Sie wird in [mV] angegeben. Im Rahmen dieser Studie handelte es sich dabei um die größte negative Potentialänderung (Negativität) des EOG. Die Größe der Amplitude hing dabei von der Anzahl der durch einen Duftstimulus erregten ORN ab. Für die spätere Auswertung (Abschnitt 3.2) wurden alle EOG mit einer Amplitude von mindestens $50 \mu V$ berücksichtigt. Bei der zweiten Messgröße, der Latenzzeit, handelt es sich um den Zeitraum zwischen dem Stattfinden eines Reizes und dessen Reizantwort. Bezogen auf das EOG beschrieb diese Messgröße den Zeitraum, der zwischen dem Zeitpunkt der Duftstoffapplikation und dem Einsetzen der Potentialänderung lag. Als Startpunkt für die einsetzende Reizantwort, in Form des EOG, wurde der Zeitpunkt der maximalen Amplitude der initialen positiven Potentialänderung (Abschnitt 1.3) angenommen. Die Latenzzeit wird in [ms] angegeben.

2.4. Statistische Methoden

Für die statistische Auswertung der erhobenen Daten wurde das lineare Modell mit gemischten Effekten verwendet. Mit Hilfe dieses statistischen Verfahrens konnten sowohl normalverteilte Fehler als auch interindividuelle Fehler der einzelnen Probanden eliminiert werden. Zu den interindividuellen Fehlern zählten u. a. die unterschiedlichen subjektiven Geruchswahrnehmungen und die diversen physiologischen Eigenschaften der einzelnen Probanden (Fahrmeir et al., 2007)

Für diese Studie wurde für alle Messungen ein Signifikanzniveau von 5% festgelegt. Das bedeutet, dass alle Ergebnisse mit einem p-Wert $< 0,05$ als signifikant angesehen wurden. Bei einem p-Wert $< 0,10$ wurde von einem statistischen Trend gesprochen (Rasch et al., 2010).

Zur Verifikation der Normalverteilung der Amplitude im Rahmen der elektrophysiologischen Messung als auch der Ergebnisse der psychophysischen Messung wurde der Shapiro-Wilk Test herangezogen. Mit Hilfe dieses statistischen Tests konnte eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit, dass für die Grundgesamtheit eine Normalverteilung angenommen werden

kann, getroffen werden. Dies war erforderlich, da die verwendeten statistischen Verfahren auf der Annahme beruhen, dass die Grundgesamtheit einer Normalverteilung folgt (Duller, 2008). Zur Visualisierung der Verteilungen wurden Boxplots als grafisches Instrument verwendet (Mittag, 2017). Mit diesem visuellen statistischen Hilfsmittel war es möglich, in einfacher Weise einen schnellen Überblick über die Verteilung der Daten zu erhalten.

3. Ergebnisse

Wie im Abschnitt 2.4 Statistische Methoden bereits beschrieben, wurde für die Auswertung der Daten das statistische Verfahren der linearen Modelle mit gemischten Effekten verwendet. Damit konnte ein linearer Zusammenhang zwischen einer Messgröße und der Reizfolge dargestellt werden.

3.1. Psychophysische Messung

Im Rahmen der psychophysischen Messung wurde die Wahrnehmung der einzelnen Reizintensitäten der Duftstoffe Eugenol, Iso E Super, Manzanate und PEA durch die Probanden ermittelt. Dabei wurde untersucht, ob zwischen der Intensitätswahrnehmung und der Anzahl der Reizapplikation ein linearer Zusammenhang existiert.

Ein signifikanter, linearer Zusammenhang ($p < 0,05$) konnte für den Duftstoff Eugenol, mit einem p -Wert von $2 \cdot 10^{-4}$, gefunden werden. Für die anderen 3 Duftstoffe zeigte sich ebenfalls eine Abnahme der wahrgenommenen Duftstoffintensität mit zunehmender Reiznummer. Der ermittelte lineare Zusammenhang zeigte sich jedoch als nicht signifikant (PEA $p = 0.47$, Iso E Super $p = 0.86$, Manzanate $p = 0.66$).

Im Folgenden sind die Ergebnisse bezüglich der ermittelten Daten zur Intensitätswahrnehmung von allen 36 Probanden dargestellt. In den dazugehörigen Abbildungen wurde die Intensitätswahrnehmung auf der y -Achse und die Reizfolge auf der x -Achse dargestellt. Die Ermittlung der Intensitätswahrnehmung erfolgte anhand einer visuellen Analogskala mit Werten zwischen 0 und 100 (siehe Abschnitt 2.3.3). Bei der Reizfolge handelte es sich um die einzelnen applizierten Duftstöße 1 bis 10 einer Duftstoffsequenz. Der lineare Zusammenhang zwischen den abgebildeten Größen wurde graphisch mittels einer Regressionsgeraden dargestellt. Die Standardabweichung wird in Form des Durchmessers der einzelnen Datenpunkte dargestellt.

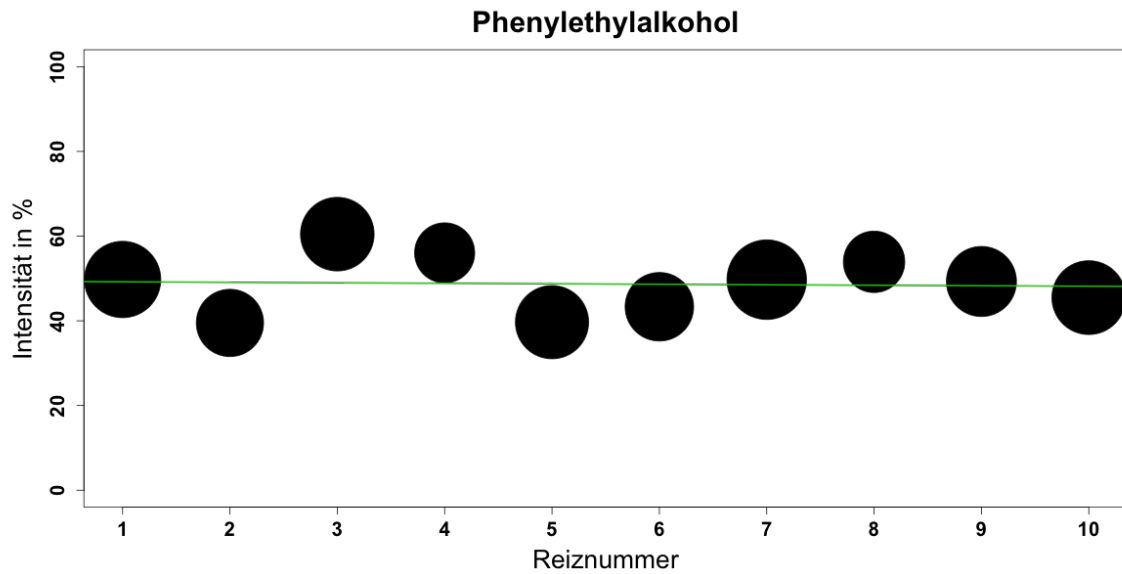


Abbildung 3.1.: Intensitätswahrnehmung in Abhängigkeit von der Reizfolge für PEA

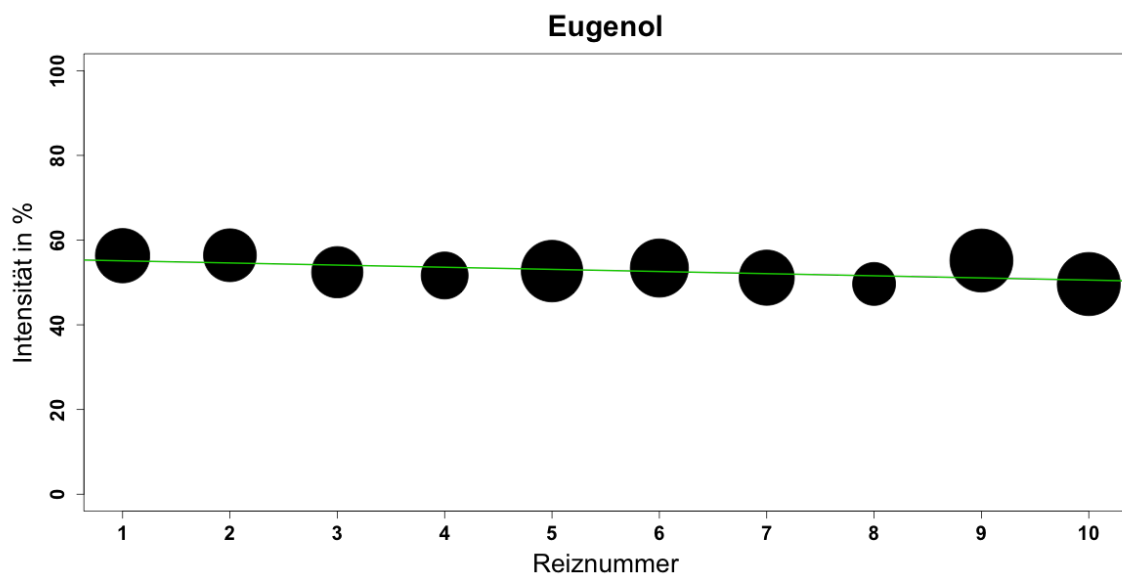


Abbildung 3.2.: Intensitätswahrnehmung in Abhängigkeit von der Reizfolge für Eugenol

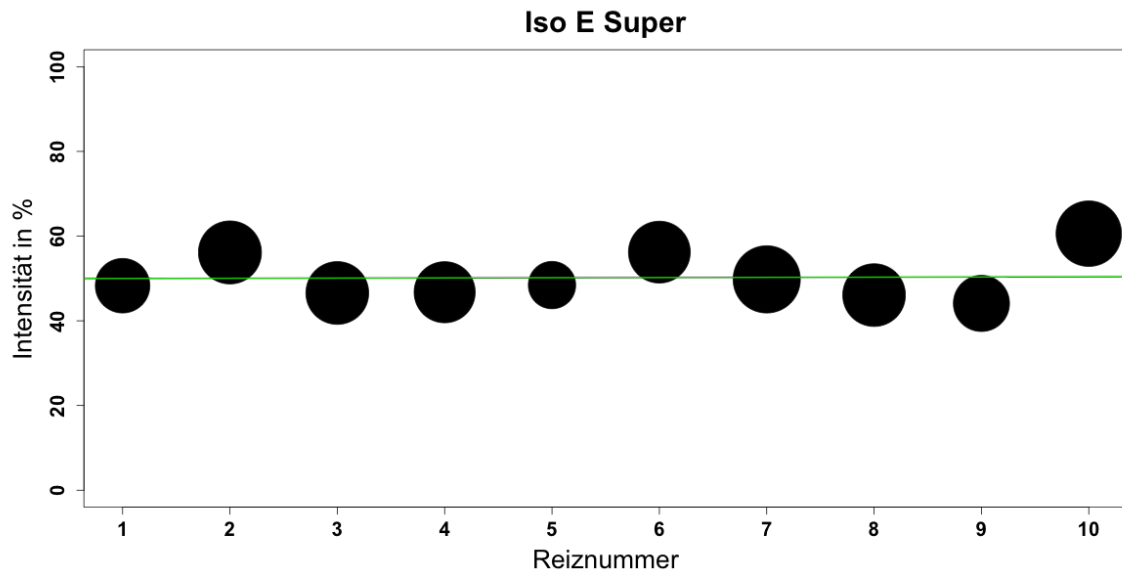


Abbildung 3.3.: Intensitätswahrnehmung in Abhängigkeit von der Reizfolge für Iso E Super

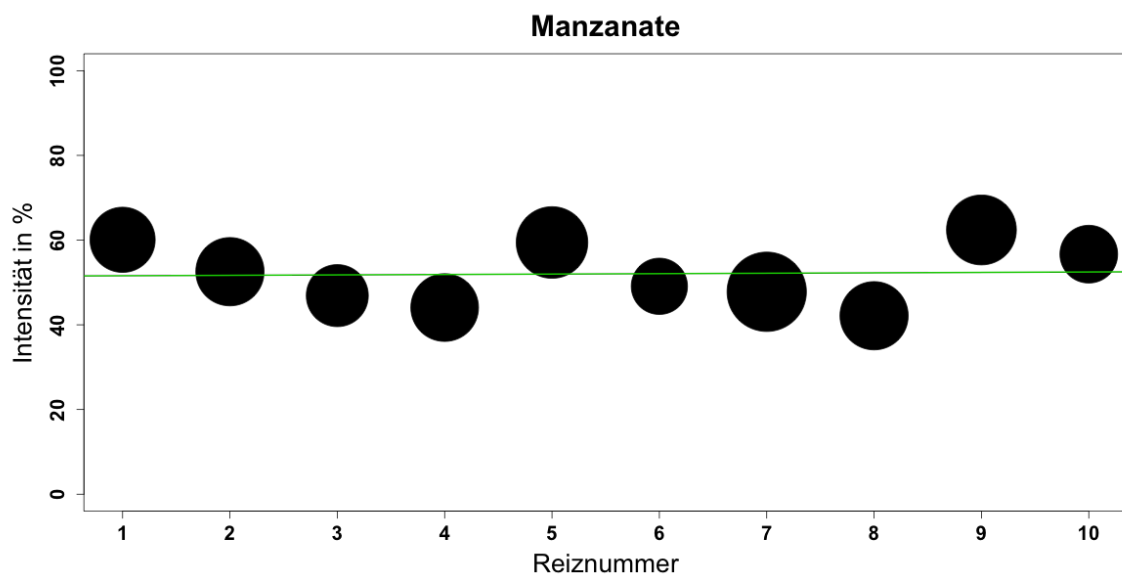


Abbildung 3.4.: Intensitätswahrnehmung in Abhängigkeit von der Reizfolge für Manzanate

3.2. Elektrophysiologische Messung

Bei 30 Probanden konnten im Rahmen der elektrophysiologischen Messung EOGs abgeleitet werden. Bei insgesamt 2 Probanden konnten EOGs für jeden Duftstoff und Reiz ermittelt werden. Für die anderen 28 Probanden war es möglich, mindestens 2 EOGs innerhalb einer Duftstoffsequenz aufzeichnen zu können. Insgesamt standen für die Auswertung der elektrophysiologischen Messung 282 EOGs zur Verfügung. In Abbildung 3.5 ist die EOG-Aufzeichnung einer vollständigen Duftstoffsequenz dargestellt. Die blaue Kurve bildet dabei den Start der Duftstoffsequenz sowie die einzelnen Duftstoffstimuli ab. Die rote Kurve im unteren Bildabschnitt zeigt die aufgezeichneten elektrischen Signale von der Riechschleimhaut. Dabei zeigen die negativen Potentialänderungen nach oben und positive Potentialänderungen nach unten.

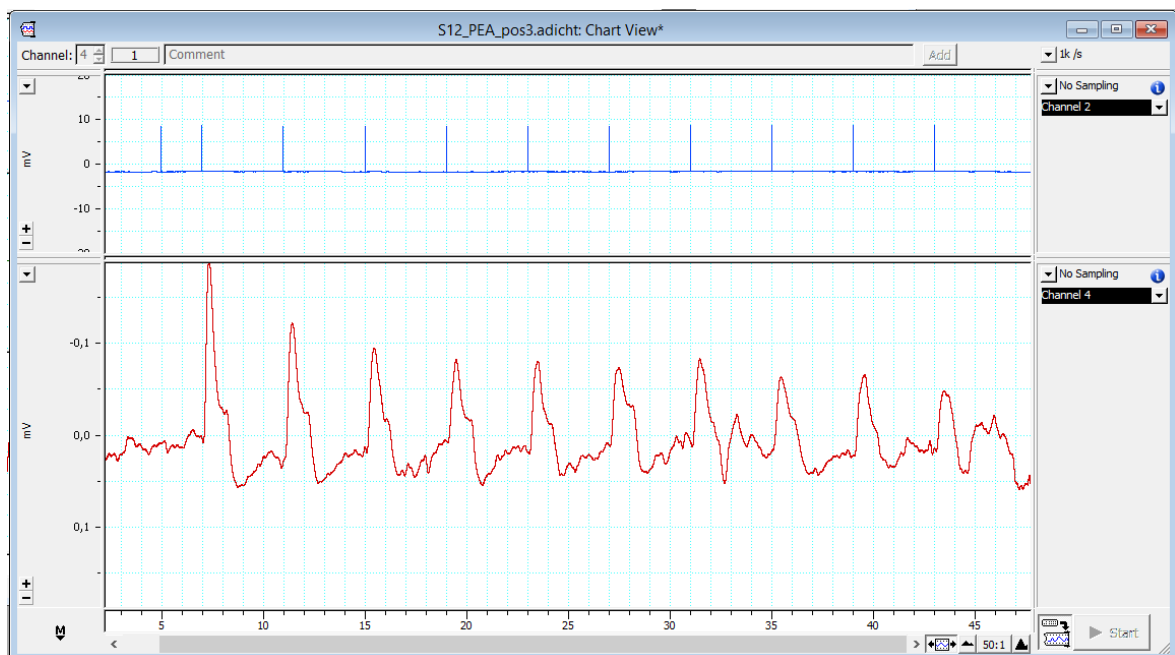


Abbildung 3.5.: Aufgezeichnete EOGs einer vollständigen Duftstoffsequenz

Zur genaueren Auswertung wurden die EOGs für jeden Duftstimulus einzeln, wie in Abbildung 3.6 zu sehen, vergrößert und isoliert dargestellt. Aus diesen Signalen wurden im Anschluss die beiden Kenngrößen „Amplitude und Latenzzeit“ bestimmt.

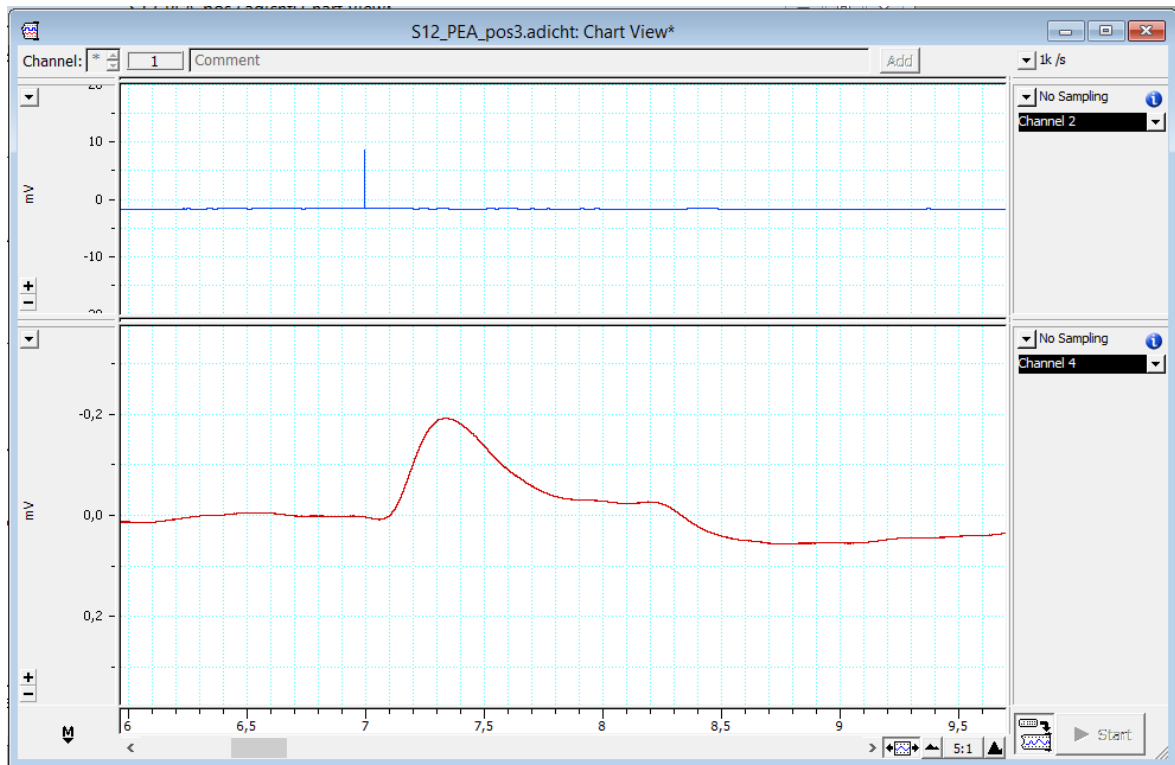


Abbildung 3.6.: Aufgezeichnetes EOG eines einzelnen Duftstimulus

Tabelle 3.1.: Anzahl abgeleiteter Signale je Duftstoff und Reiz bei 30 Versuchen pro Duftstoff und Reiz. Darstellung des Mittelwertes (μ) und Standardabweichung (σ) je Duftstoff.

Reiz	Eugenol	Iso E Super	Manzanate	PEA
1	5	12	10	5
2	4	8	10	7
3	6	6	10	7
4	11	8	9	8
5	11	5	9	6
6	5	5	9	5
7	8	6	8	7
8	5	6	8	7
9	5	5	9	5
10	6	4	5	7
μ	6.6	6.5	8.7	6.4
σ	2.55	2.32	1.49	1.07

Bei der Auswertung der in Tabelle 3.1 dargestellten, erfolgreich abgeleiteten Signale zeigt sich, dass für den Duftstoff Manzanate signifikant mehr EOGs abgeleitet werden konnten, als für Eugenol, Iso E Super und PEA. Bei insgesamt 30 möglichen ableitbaren Signalen pro Reiz konnten bei Manzanate im Mittel 8.7 Signale aufgezeichnet werden. Die mittlere Anzahl erfolgreich abgeleiteter Signale lag bei den anderen Duftstoffen im Vergleich bei rund 6.5 Ableitungen pro Reiz (siehe Abbildung 3.7).

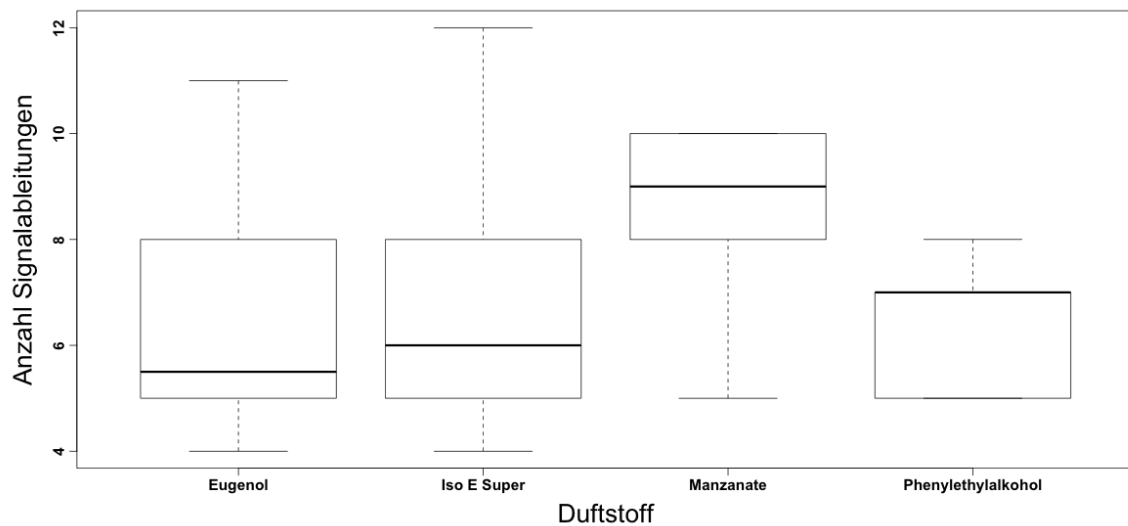


Abbildung 3.7.: Verteilung der Anzahl abgeleiteter Signale aufgeschlüsselt nach Duftstoff

Unabhängig von dem verwendeten Duftstoff lässt sich zeigen, dass die Anzahl erfolgreicher Ableitungen pro Reiz mit zunehmender Reizanzahl signifikant um -0.25455 abnimmt. In Abbildung 3.8 wurde der lineare Zusammenhang zwischen den abgebildeten Größen graphisch mittels einer Regressionsgeraden dargestellt. Der Durchmesser der einzelnen Datenpunkte stellt dabei die Standardabweichung dar.

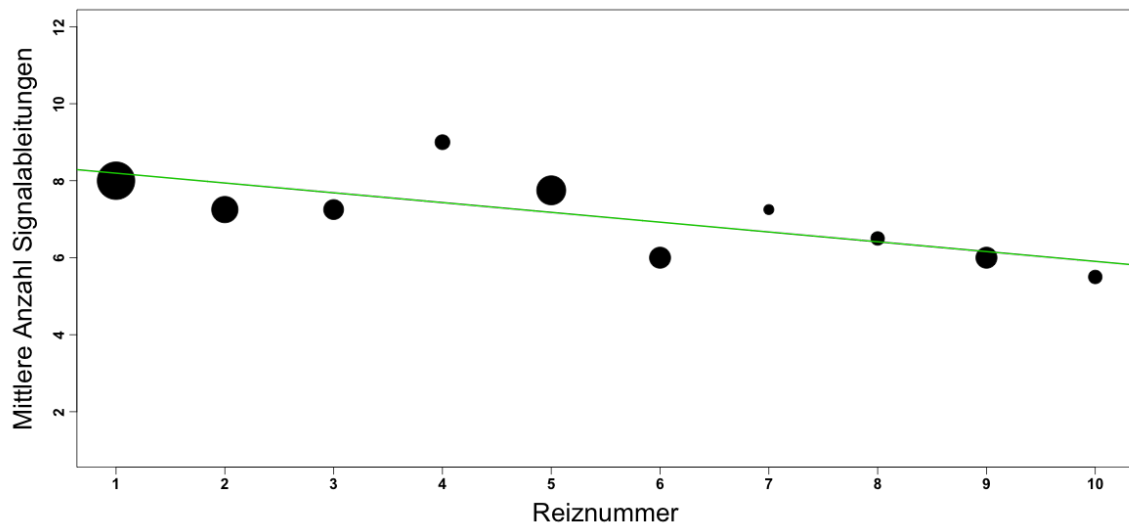


Abbildung 3.8.: Mittlere Anzahl abgeleiteter Signale pro Reiznummer unter Berücksichtigung der Standardabweichung als Durchmesser der Datenpunkte

3.2.1. Amplitude

Zur grafischen Darstellung der Verteilung der einzelnen Amplituden pro Proband wurde ein Boxplot (Abbildung 3.9) verwendet. In diesem ist ersichtlich, dass Proband 2 und 3 in Bezug auf die Amplitude Ausreißer darstellen.

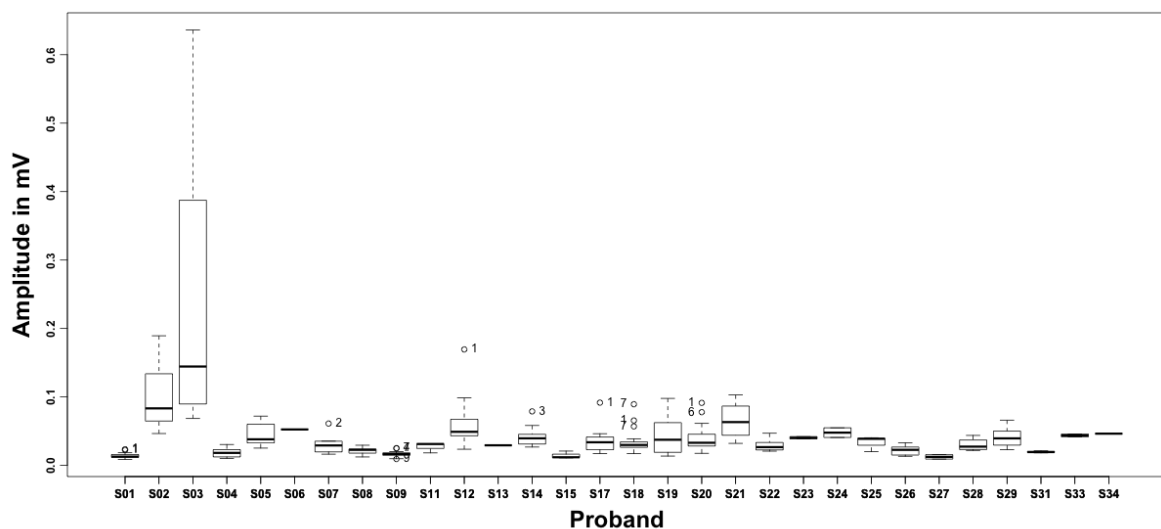


Abbildung 3.9.: Verteilung der Amplitude je Proband

Aus diesem Grund wurden Proband 2 und 3 für die weitere Datenauswertung der elektrophysiologischen Messung ausgeschlossen. Abbildung 3.10 betrachtet die Verteilung der Amplituden pro Proband ohne die beiden Ausreißer Proband 2 und 3.

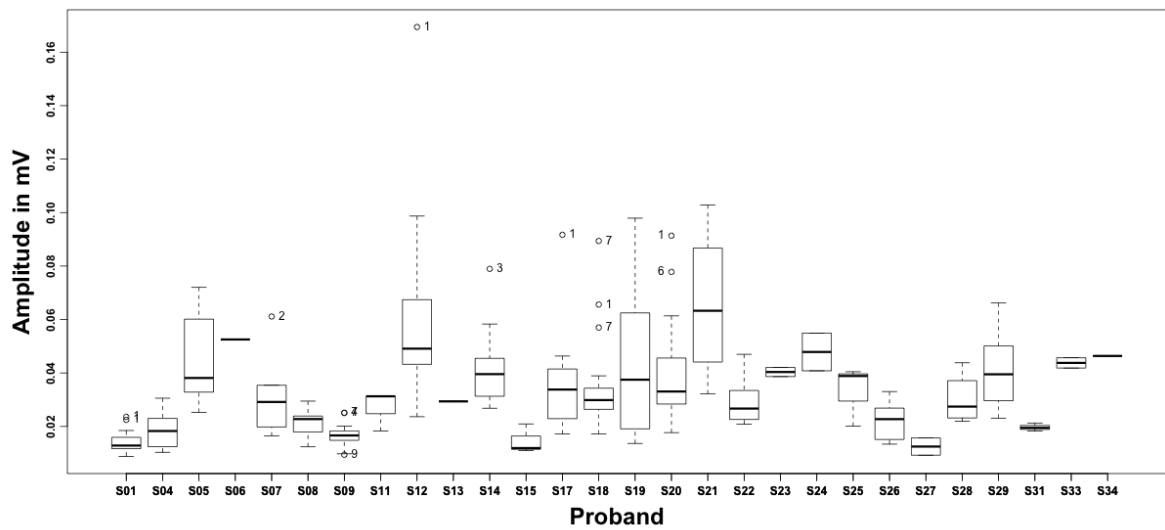


Abbildung 3.10.: Verteilung der Amplitude je Proband ohne Proband 2 und 3

Die linearen Zusammenhänge zwischen der im EOG ermittelten Amplitude und der Reizfolge wurden im Folgenden für jeden Duftstoff einzeln dargestellt. Für PEA konnte ein signifikanter, linearer Zusammenhang gefunden werden ($p = 8 \cdot 10^{-3}$). Für Eugenol war ein Trend ($p = 0.096$) ersichtlich, da der ermittelte p -Wert $< 0,10$ ist. Für die Duftstoffe Iso E Super und Manzanate zeigte sich ebenfalls eine Abnahme der Amplituden mit zunehmender Reizfolge. Der lineare Zusammenhang stellte sich jedoch als nicht signifikant dar (Iso E Super $p = 0.12$, Manzanate $p = 0.26$). In den folgenden Abbildungen wurden auf der y-Achse die Amplitude in [mV] und auf der x-Achse die Reizfolge dargestellt. Bei der Reizfolge handelte es sich um die einzelnen applizierten Duftstöße 1 bis 10 einer Duftstoffsequenz. Der lineare Zusammenhang zwischen den abgebildeten Größen wurde mit Hilfe einer Regressionsgeraden dargestellt. Der Durchmesser der einzelnen Datenpunkte stellt dabei die Standardabweichung dar.

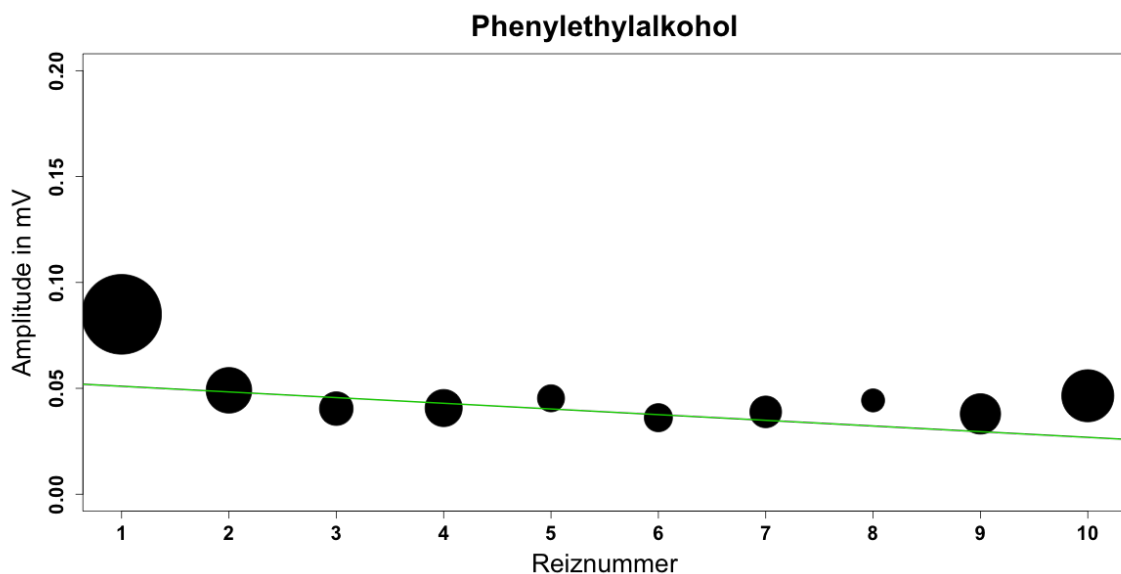


Abbildung 3.11.: Amplitude in Abhängigkeit von der Reizfolge für PEA

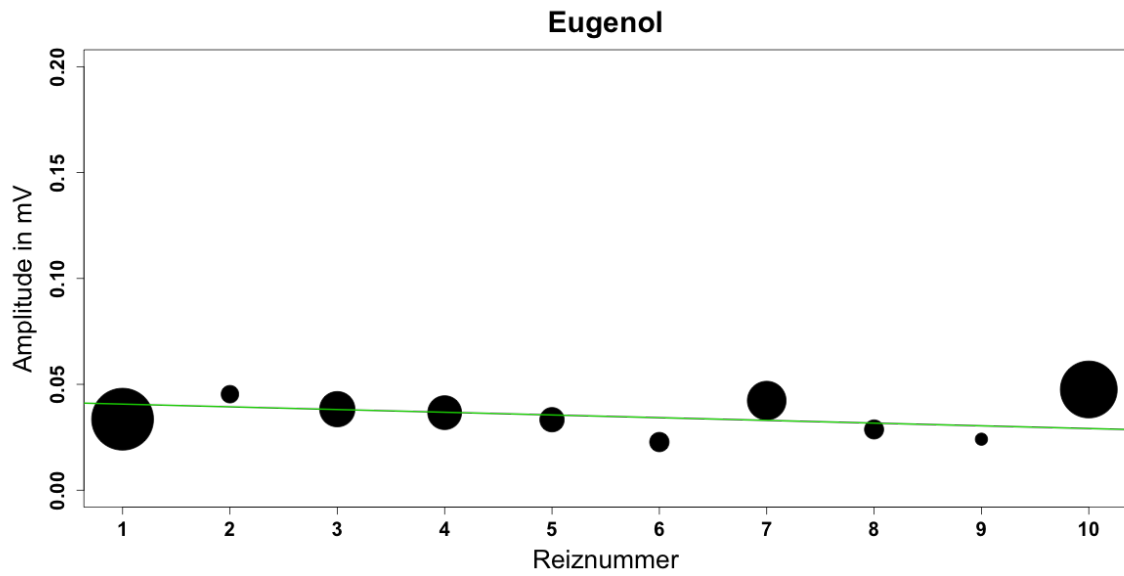


Abbildung 3.12.: Amplitude in Abhängigkeit von der Reizfolge für Eugenol

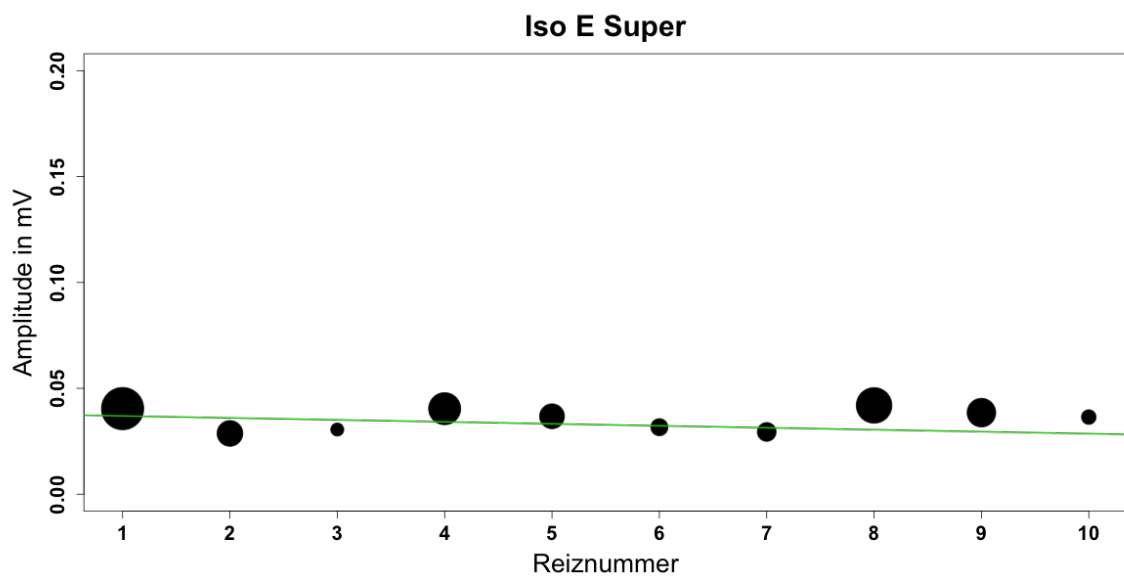


Abbildung 3.13.: Amplitude in Abhängigkeit von der Reizfolge für Iso E Super

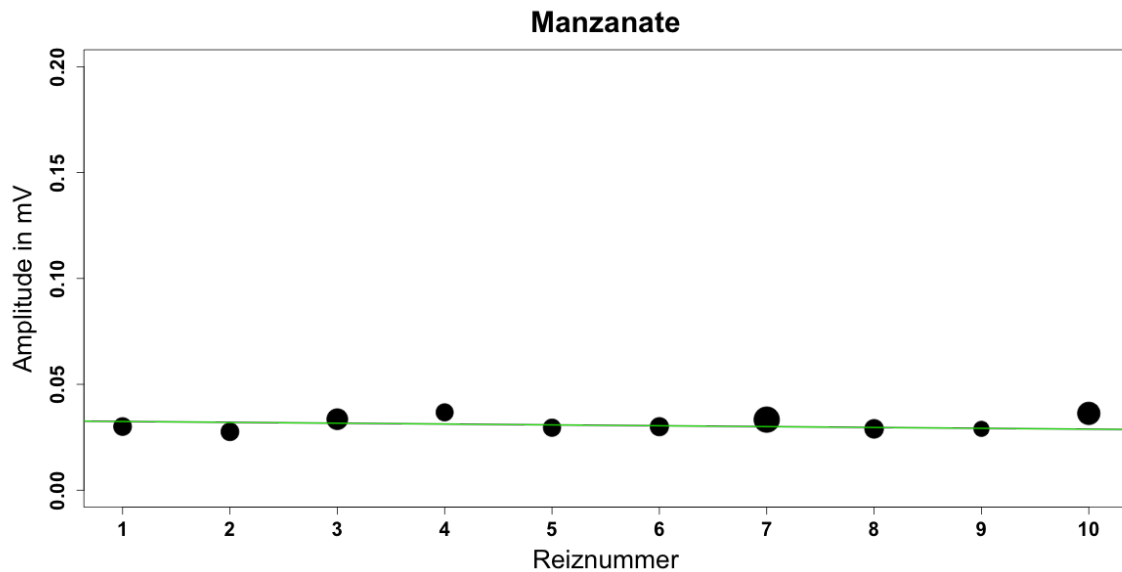


Abbildung 3.14.: Amplitude in Abhängigkeit von der Reizfolge für Manzanate

3.2.2. Latenzzeit

Die Latenzzeit stellte eine weitere Größe dar, welche im Rahmen der elektrophysiologischen Messung ermittelt werden konnte. Der lineare Zusammenhang zwischen der Latenzzeit und der Reizfolge wurde im Folgenden für jeden Duftstoff einzeln dargestellt. Es konnte diesbezüglich für keinen der 4 verwendeten Duftstoffe ein signifikanter, linearer Zusammenhang gefunden werden (PEA $p = 0.82$, Eugenol $p = 0.71$, Iso E Super $p = 0.17$, Manzanate $p = 0.95$). In den folgenden Abbildungen wurde die Latenzzeit in [ms] auf der y-Achse und die Reizfolge auf der x-Achse dargestellt. Bei der Reizfolge handelte es sich um die einzelnen applizierten Duftstöße 1 bis 10 einer Duftstoffsequenz. Der lineare Zusammenhang zwischen den abgebildeten Größen wurde mit Hilfe einer Regressionsgeraden dargestellt. Der Durchmesser der einzelnen Datenpunkte stellt dabei die Standardabweichung dar.

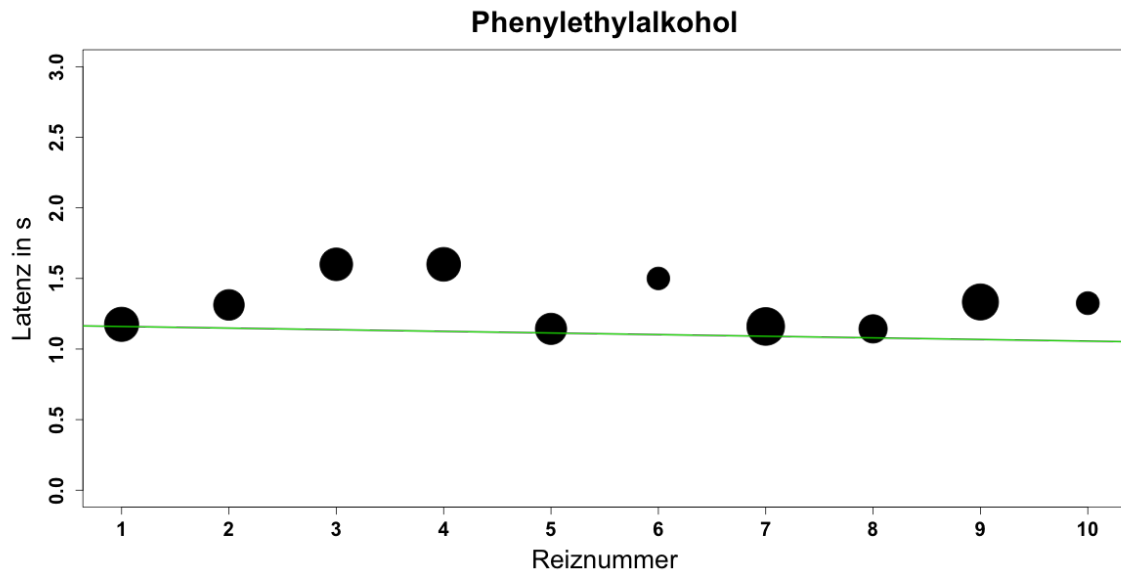


Abbildung 3.15.: Latenzzeit in Abhängigkeit von der Reizfolge für PEA

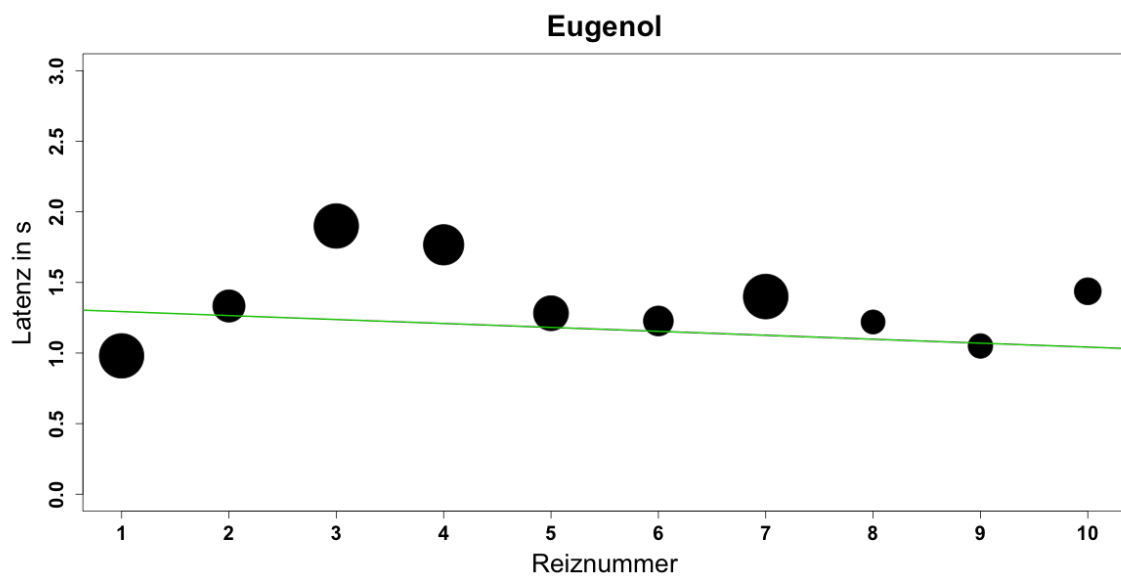


Abbildung 3.16.: Latenzzeit in Abhängigkeit von der Reizfolge für Eugenol

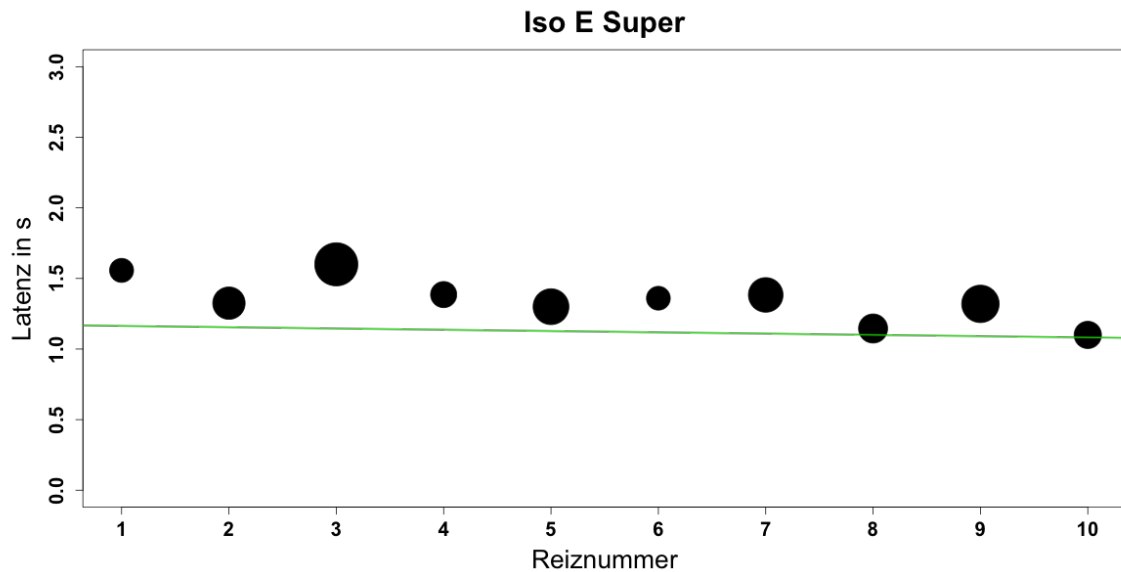


Abbildung 3.17.: Latenzzeit in Abhängigkeit von der Reizfolge für Iso E Super

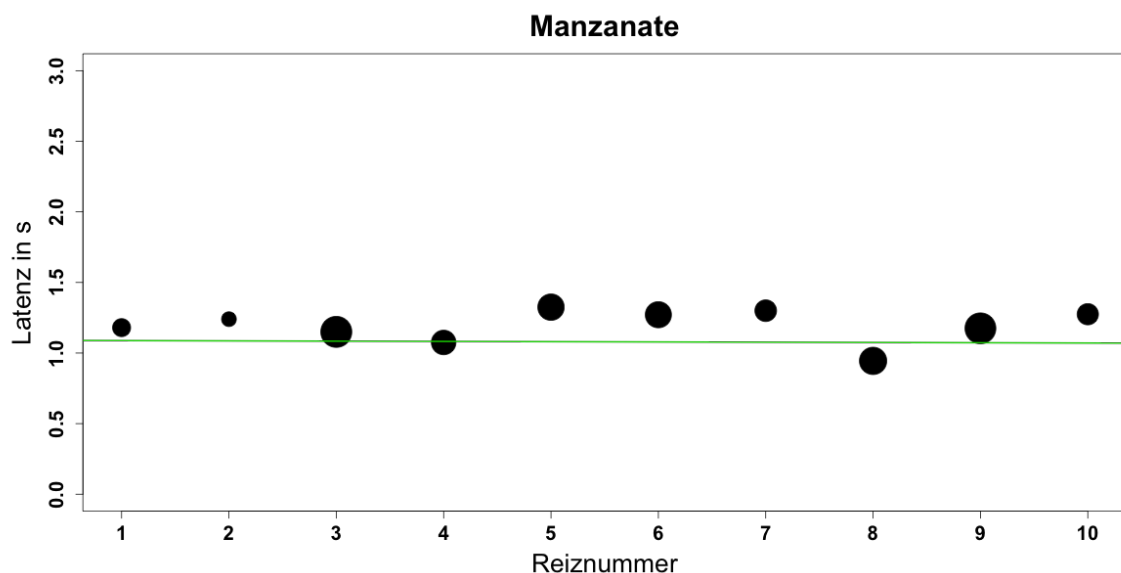


Abbildung 3.18.: Latenzzeit in Abhängigkeit von der Reizfolge für Manzanate

3.3. Lateralisierungstest

Mit Hilfe des Lateralisierungstests wurde die relative Wahrscheinlichkeit ermittelt, mit welcher ein Duftstoff richtig lokalisiert werden konnte. Beim durchgeführten Lateralisierungstest diente der Duftstoff PEA als Kontrolle. Für PEA ist bekannt (siehe Abschnitt 2.2), dass dieser Duftstoff nur das olfaktorische System anregt und keine trigeminale Aktivität hervorruft und somit nicht eindeutig lokalisierbar ist. Durch den Vergleich der im Lateralisierungstest ermittelten relativen Wahrscheinlichkeit von PEA mit denen von Eugenol, Iso E Super und Manzanate konnte eine Aussage zu deren trigeminal vermittelten Sensibilität getroffen werden. Diesbezüglich unterschied sich keiner der 3 Duftstoffe signifikant vom Duftstoff PEA.

Für den Duftstoff PEA ergab sich eine relative Wahrscheinlichkeit von 48.59%, dass der Duftstoff richtig lokalisiert werden konnte. Für Eugenol lag dieser Wert um 2.93% höher. Bei einem ermittelten p-Wert von 0.46 besteht zwischen PEA und Eugenol kein signifikanter Unterschied in der trigeminal vermittelten Sensibilität.

Auch für Iso E Super konnte im Vergleich zu PEA kein signifikanter Unterschied in der trigeminal vermittelten Sensibilität gefunden werden. Der p-Wert lag dort bei 0.78. Die relative Wahrscheinlichkeit Iso E Super richtig lokalisiert zu haben, lag dabei um 1.09% niedriger als bei PEA.

Für Manzanate lag die ermittelte relative Wahrscheinlichkeit um 0.85% höher als die für PEA. Bei einem ermittelten p-Wert von 0.83 kann von einem nicht signifikanten Unterschied zwischen der trigeminal vermittelten Sensibilität durch PEA und Manzanate ausgegangen werden.

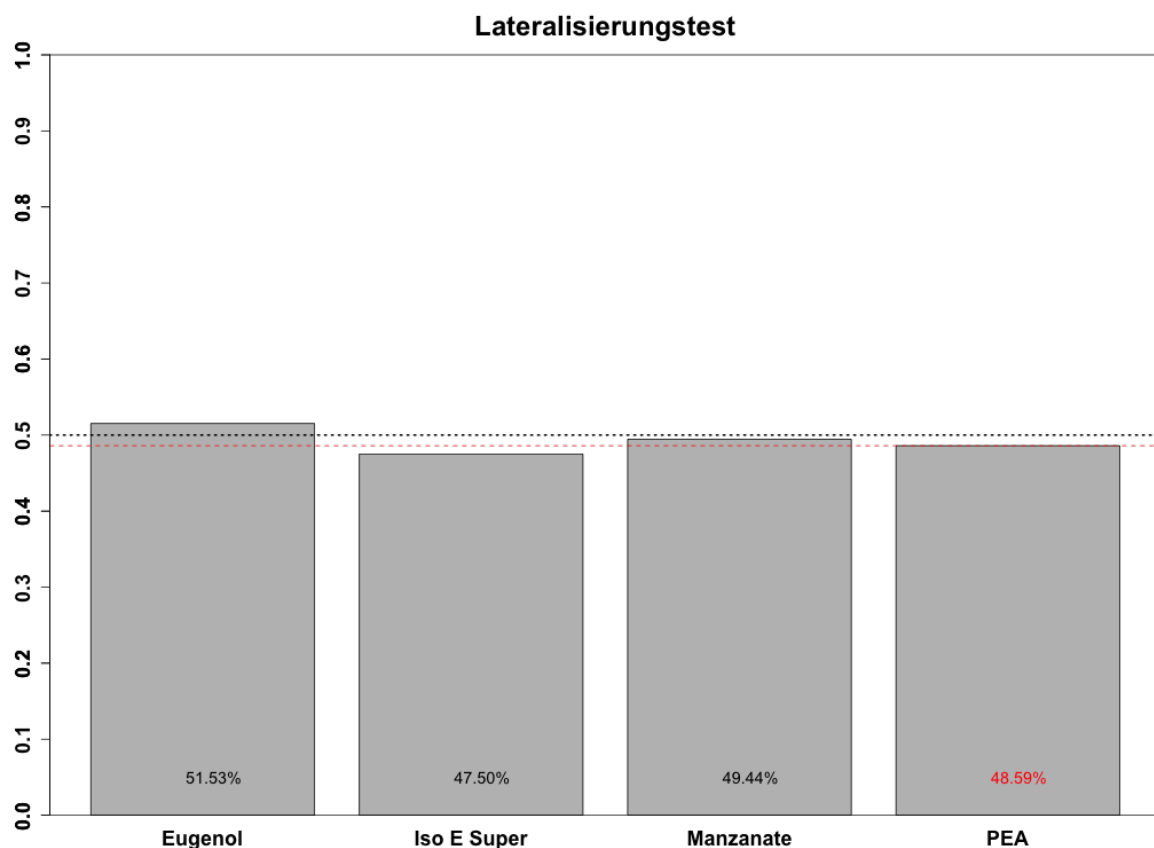


Abbildung 3.19.: Vergleich der Lokalisierungswahrscheinlichkeiten zwischen PEA (rot) und den anderen verwendeten Duftstoffen (Eugenol, Iso E Super, Manzanate)

4. Diskussion

Einen zentralen Bestandteil dieser Studie stellte das Phänomen der Geruchsgewöhnung dar. Wie bereits in Abschnitt 1.1 beleuchtet, gibt es 10 Grundsätze, die den Vorgang der Habituation definieren. In einer Übersichtsarbeit von Pellegrino und Kollegen (Pellegrino et al., 2017) konnte gezeigt werden, dass der Großteil dieser Grundsätze (7/10) auch auf den menschlichen Geruchssinn übertragbar sind. Es ist jedoch unklar bis zu welchem Grad das Phänomen der Geruchsgewöhnung durch zentralnervöse Prozesse oder Veränderungen auf Rezeptorebene hervorgerufen wird. In einzelnen Studien ergaben sich Hinweise darauf, dass die Abnahme der olfaktorischen Reizempfindlichkeit stärker auf zentralnervöse Prozesse als auf periphere Adaptation zurückzuführen sind (Hummel et al., 1996, 2006). Bisher konnte nur in Tierversuchen gezeigt werden, dass komplexe Vorgänge der Geruchsgewöhnung bereits auf Ebene des olfaktorischen Epithels stattfinden (Zufall & Leinders-Zufall, 2000). Studien zur Darstellung dieser Vorgänge am menschlichen Riechepithel fehlten bisher.

Somit stellte sich die Frage: Kommt es bei der olfaktorischen Gewöhnung an monomolekulare Duftstoffe auf Ebene des olfaktorischen Epithels zu Veränderungen in der Signaltransduktion?

Zur Beleuchtung dieser Fragestellung werden hier noch einmal kurz die Ergebnisse der Studie zusammengefasst. Im Rahmen der elektrophysiologischen Messungen konnte für einen Duftstoff „PEA“ eine signifikante Abnahme der Amplitude nachgewiesen werden. Für den Duftstoff Eugenol zeigte sich bezüglich der Abnahme der Amplitude einen Trend. Für die anderen beiden Duftstoffe „Iso E Super und Manzanate“ zeigten sich keine signifikanten Veränderungen im Bezug auf die Amplitude. Für die untersuchte Variable „Latenzzeiten“ ergab sich für keinen der vier verwendeten Duftstoffe ein signifikantes Ergebnis. Im durchgeführten Lateralisierungstest konnte gezeigt werden, dass für die Duftstoffe Eugenol, Iso E Super und Manzanate im Vergleich zu PEA kein signifikanter Unterschied im Bezug auf die trigeminal vermittelte Sensibilität vorliegt. Bei den psychophysischen Messungen zeigte sich für den Duftstoff Eugenol eine signifikante Abnahme bei der Intensitätswahrnehmung. Für die Duftstoffe „Iso E Super, Manzanate und PEA“ waren die Abnahmen der wahrgenommenen Intensität nicht signifikant.

4.1. Elektrophysiologische Messung

Es gibt verschiedene Arbeiten in denen sowohl bei Tieren (Mozell, 1964; Scott et al., 2000) als auch im menschlichen Organismus (Kobal, 1981; Lapid et al., 2009) gezeigt werden konnte, dass das EOG eine geeignete Methode zur Darstellung peripherer neuronaler Vorgänge des Riechvorganges darstellt.

Ebenso gab es in der Vergangenheit bereits mehrere Studien (Kurahashi & Shibuya, 1990; Kurahashi & Menini, 1997; Leinders-Zufall et al., 1998), die mit Hilfe des EOG periphere Adaptation bei Tieren zeigen konnten. Zentraler Bestandteil dieser Studien war es, das Phänomen der peripheren Adaptation durch die Applikation zweier flüchtiger Duftstoffreize mit kurzem ISI darzustellen. Unter dieser Annahme konnte gezeigt werden, dass die Reizantwort resp. das EOG des zweiten Duftstimulus im Vergleich zum ersten Duftstimulus eine kleinere Amplitude aufwies. Zudem zeigte sich die Latenzzeit konstant und betrug bei kurzzeitiger Adaptation ca. 100 ms.

Auf Grundlage dieser Erkenntnisse dienten die „Amplitudengröße und Latenzzeit“, wie in Abschnitt 2.3.4 bereits beschrieben, als Kenngrößen zur Darstellung peripherer Adaptation. Dabei deckten sich die Ergebnisse dieser Studie zum größten Teil mit den obigen Ergebnissen. Bei allen 4 verwendeten Duftstoffen zeigte sich eine Abnahme der Amplitudengröße bei zunehmender Reizzahl. Dabei konnte für PEA eine signifikante Abnahme der Amplitudengröße verzeichnet werden (Abbildung 3.11). Für Eugenol konnte ein Trend aufgezeigt werden (Abbildung 3.12). In Bezug auf die Latenzzeit ergaben sich, wie zu erwarten, keine signifikanten Veränderungen (vgl. Abschnitt 3.2.2). Der Zeitraum zwischen dem Stattfinden des Reizes und dessen Reizantwort zeigte sich für die verwendeten Duftstoffe „Iso E Super, Eugenol, Manzanate und PEA“ konstant. Zusammenfassend konnte für die Duftstoffe „PEA und Eugenol“ gezeigt werden, dass es bereits auf Ebene des olfaktorischen Epithels, in Form einer Abnahme der Amplitude, zur peripheren Adaptation kommt. Es gibt bisher nur wenige Arbeiten, in denen am menschlichen Organismus mit Hilfe des EOG das Phänomen der peripheren Adaptation dargestellt werden konnte.

Aufgrund bisheriger Arbeiten (Kobal, 1981; Hummel et al., 1996), wurde stets angenommen, dass die Gewöhnung an Duftstoffe hauptsächlich respektive ausschließlich durch zentralnervöse Prozesse und weniger durch periphere Adaptation hervorgerufen wird. Bereits Kobal (Kobal, 1981) nutzte das EOG für kleine Versuche zur Ableitung elektrischer Potentiale an der Riechschleimhaut. Er verwendete z. B. Duftstoffpaare (2 hintereinander applizierten Duftstimuli) mit verschiedenen großen ISI (4, 5 und 10s) sowie unterschiedlich langen Reizdauern. Für ein ISI von 10s konnten für jeden Duftstoffstimulus voneinander unabhängige Reizantworten aufgezeichnet werden, d. h. es kam zu keiner Überlagerung der einzelnen Reizantworten. Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass die Reizantwort auf den zweiten Stimulus eines Duftstoffpaares eine minimale (nicht signifikante) Abnahme der Amplitude aufwies. Für kürzere ISI (4 und 5s) zeigte sich zwar eine Abnahme der Anstiegsamplitude (Amplitude vom Beginn der Potentialzunahme des EOG bis zum maximal erreichten Wert), die Größe der Amplitude blieb jedoch gleich. Grund dafür war, dass es bei einem kürzeren ISI von 4 oder

5s zur Überlagerung der Potentiale beider Duftstimuli kam, d. h. die Reizantwort des zweiten Duftstoffstimulus einsetzte, obwohl die Reizantwort auf den ersten Duftstoffstimulus noch nicht wieder den Ausgangswert erreicht hatte. Kobal schlussfolgerte in seiner Arbeit daraus, dass man auf Grundlage dieser Ergebnisse nicht von peripherer Adaptation sprechen kann. Es ist jedoch zu beachten, dass diese Studie auf der Basis von nur 2 Probanden erstellt wurde.

Eine Studie aus dem Jahre 1996 von Hummel und Kollegen (Hummel et al., 1996) verwendete einen ähnlichen Versuchsaufbau zur Aufzeichnung elektrischer Potentialen an der Riechschleimhaut. Es wurden auch hier Duftstoffpaare mit verschiedenen langen ISI (2, 4 und 8s) verwendet. Im Gegensatz zu Kobal gelang es in dieser Studie jedoch, bei 6 Probanden erfolgreich ein EOG abzuleiten. Die Ergebnisse deckten sich im Großen und Ganzen dabei mit denen von Kobal (Kobal, 1981). Auch Hummel konnte zeigen, dass es bei sehr kurzen ISI zu einer Überlagerung der Reizantworten kommt. Allein für das ISI von 8s konnten voneinander getrennte Reizantworten aufgezeichnet werden. Für diese konnte dann auch eine geringfügige Abnahme der Amplitude zwischen der Reizantwort des ersten und zweiten Duftstimulus festgestellt werden. Aufgrund der geringen Probandenzahl wurde bei dieser Studie ein Signifikanzniveau von $P < 0,1$ angesetzt. In diesem Zusammenhang stellte sich die Abnahme der Amplitude als signifikant heraus. Auf Basis der Ergebnisse wurde auch in dieser Arbeit geschlussfolgert, dass olfaktorische Gewöhnung primär durch zentralnervöse Prozesse hervorgerufen wird und nicht durch periphere Adaptation.

Die grundlegenden Unterschiede zwischen den eben beleuchteten Studien und der jetzigen Studie stellten die Anzahl der Duftstimuli innerhalb einer Duftstoffsequenz als auch die Anzahl an erfolgreich abgeleiteten EOGs dar. In dieser Studie wurden im Vergleich zu den beiden anderen nicht nur 2, sondern insgesamt 10 Duftstimuli mit einem festen ISI von 4s hintereinander appliziert. Zudem gelang es bei insgesamt 30 Probanden ein EOG aufzuzeichnen. Aufgrund der höheren Probandenzahl konnte in der aktuellen Studie ein Signifikanzniveau von $P < 0,05$ angesetzt werden. Wie bereits erwähnt, konnten dabei für den Duftstoff PEA eine signifikante Abnahme der Amplituden aufgezeigt werden. Für den Duftstoff Eugenol zeigte sich diesbezüglich ein Trend. Die Unterschiede der eben beleuchteten Studien lassen vermuten, dass es erst nach mehrfacher Duftstoffapplikation innerhalb eines kurzen Zeitraumes zu einer messbaren peripheren Adaptation kommt. Basierend auf den Ergebnissen von Hummel und Kobal (Hummel et al., 1996; Kobal, 1981) sollten die ISI jedoch nicht zu kurz sein, da es dann, wie oben beschrieben, wiederum zur Überlagerung der einzelnen Duftstimuli kommen kann. Ziel zukünftiger Forschungsarbeiten zum Thema der peripheren Geruchsgewöhnung könnte sein, herauszufinden ab welcher Anzahl von hintereinander applizierten Duftstimuli es zu peripherer Adaptation kommt und ob für jeden Duftstoff gleich viele Wiederholungen notwendig sind.

Doch wieso konnte nicht für jeden der verwendeten Duftstoffe (Iso E Super, Eugenol, Manzanate und PEA) periphere Adaptation aufgezeigt werden? Die Duftstoffauswahl erfolgte, wie in Abschnitt 2.2 erläutert, auf Basis der Arbeit von Sinding et al. (Sinding et al., 2017). Dort konnte im Rahmen einer MRT-Studie gezeigt werden, dass es bei jedem der in dieser Studie verwendeten Duftstoffe zur Gewöhnung kommt. Die verschiedenen Duftstoffe jedoch nicht alle

das gleiche Niveau an Gewöhnung hervorrufen. Grundlegender Unterschied beider Arbeiten ist die Verarbeitungsebene auf der die Geruchsgewöhnung gemessen wurde. Im Rahmen der MRT-Studie erfolgte die Bestimmung der Habituation auf zentralnervöser Ebene. Wohingegen in dieser Arbeit periphere Adaptation auf Ebene des olfaktorischen Epithels gemessen wurde. Dies könnte bereits eine Erklärung für die etwas unterschiedlichen Ergebnisse sein.

Eine weitere Hypothese beruht auf den Erkenntnissen einer Arbeit von Lapid und Kollegen ([Lapid et al., 2009](#)). In dieser wurde die Theorie geäußert, dass es verschiedene Subtypen der ORN gibt, welche nicht zufällig und einheitlich auf der Riechschleimhaut verteilt sind. Ihrer Ansicht nach besteht das olfaktorische Epithel aus verschiedenen Regionen, welche jeweils eine Teilmenge von Rezeptoren enthält, die auf einen bestimmten Duftstoff besonders gut ansprechen. Ausschlaggebend für diese Theorie waren große inter- und intraindividuelle Schwankungsbreiten bezogen auf die Größe der Amplituden, welche sowohl in der Arbeit von Lapid und Kollegen als auch in der jetzigen Studie (siehe [Abbildung 3.9](#)) verzeichnet werden konnten. Von Lapid und Kollegen gibt es eine weitere Studie ([Lapid et al., 2011](#)), welche die Theorie unterstützt, dass die ORN nicht zufällig und einheitlich auf der Riechschleimhaut verteilt sind. Im Rahmen von elektrophysiologischen Messungen am olfaktorischen Epithel ergaben sich Hinweise dafür, dass die ORN in Bezug auf die Angenehmheit von Duftstoffen besonders gruppiert sind. Es konnten Bereiche mit maximaler Reizantwort für als angenehm wahrgenommene Duftstoffe und welche für als unangenehm wahrgenommene Duftstoffe festgestellt werden. Dafür wurden für die verschiedenen Duftstoffe (angenehm vs. unangenehm) EOGs an unterschiedlichen Regionen der Riechschleimhaut abgeleitet. Neben diesen beiden Arbeiten gibt es bisher keine weiteren, die sich mit dem Thema der Rezeptorsubtypen und deren genauer Verteilung auf dem olfaktorischen Epithel des Menschen beschäftigt haben. Bei Tieren ist man diesbezüglich schon deutlich weiter. Bereits Adrian ([Adrian, 1950](#)) beschäftigte sich mit dem Phänomen, wie das olfaktorische System es schafft, zwischen einer riesigen Anzahl von Duftstoffen zu unterscheiden. Mit Hilfe elektrophysiologischer Messungen an Riechkolben von Ratten stellte er drei grundlegende Hypothesen auf und übertrug diese auf das olfaktorische Epithel. Zwei der drei Hypothesen stützen die obige Theorie von Lapid und Kollegen ([Lapid et al., 2009](#)) und werden deshalb genauer beleuchtet. Die erste Hypothese besagt, dass verschiedene ORN unterschiedlich sensibel für die diversen Duftstoffe sind. Dabei könne es auch zu Überlappungen zwischen den einzelnen Duftstoffen kommen. Diese Hypothese konnte unter anderem von Gesteland und Kollegen ([Gesteland et al., 1963](#)) auch auf Rezeptorebene, durch extrazelluläre Messungen an einzelnen ORN vom Frosch, bestätigt werden. Die zweite Hypothese, welche durch Adrian aufgestellt wurde, beschreibt die Verteilung von ORN auf der Riechschleimhaut. Er geht davon aus, dass ORN mit ähnlicher Sensitivität in einzelnen Regionen der Riechschleimhaut räumlich gehäuft und weniger homogen verteilt auftreten. Moulton ([Moulton, 1976](#)) beschrieb dieses Phänomen in einer späteren Arbeit als angeborene Aktivitätsmuster. Im Rahmen von weiteren Studien ([Mustaparta, 1971](#); [Thommesen & Doving, 1977](#)) konnten durch EOG-Aufzeichnungen wiederholt regionale Unterschiede in Bezug auf die Sensitivität für bestimmte Duftstoffe auf dem olfaktorischen Epithel aufgezeigt werden. Alles in allem unterstreichen diese Studien, dass das olfaktorische Epithel ein kompliziertes Konstrukt aus verschiedensten ORN mit

spezieller Anordnung, dass sogenannte angeborene Aktivitätsmuster, darstellt. Auf Basis dieser Erkenntnisse aus Tierversuchen und in Kombination mit den Ergebnissen von Lapid und Kollegen (Lapid et al., 2009, 2011) ist davon auszugehen, dass auch das olfaktorische Epithel des Menschen eine spezielle bzw. räumlich gehäufte und keine homogene Verteilung der einzelnen ORN aufzeigt. Betrachtet man die Anzahl der erfolgreich abgeleiteten Signale für jeden einzelnen Duftstoff genauer, so ergibt sich auch in dieser Arbeit ein Hinweis für das räumlich gehäufte Auftreten von ORN mit ähnlicher Sensitivität. Für den Duftstoff Manzanate konnten im Vergleich zu den anderen verwendeten Duftstoffen im Mittel signifikant mehr EOGs abgeleitet werden. Die mittlere Anzahl an abgeleiteten Signalen für Eugenol, Iso E Super und PEA hingegen waren annähernd gleich.

Bezüglich der weiteren Forschung am olfaktorischen Epithel, insbesondere zum Thema periphere Adaptation, sollte es sich zum Ziel gemacht werden, mehr über die genaue Verteilung bzw. Anordnung der ORN auf der menschlichen Riechschleimhaut in Erfahrung zu bringen. In diesem Falle könnten gegebenenfalls Aussagen dazu getroffen werden, in welchem Areal des olfaktorischen Epithels bestimmte Duftstoffe besser wahrgenommen werden können als andere. In Bezug auf die aktuelle Studie stellt sich die Frage, ob eine genauere Kenntnis über die Verteilung der ORN auf der Riechschleimhaut und somit eine höhere Erfolgsquote bei der Ableitung von EOG-Kurven zu weiteren signifikanten Ergebnissen geführt hätte. Was wiederum bedeutet, dass dadurch auch für die Duftstoffe Iso E Super und Manzanate periphere Adaptation hätte nachgewiesen werden können.

Neben der Verteilung der einzelnen ORN-Populationen auf dem olfaktorischen Epithel nimmt ebenso die Verteilung des olfaktorischen Epithels auf der Nasenschleimhaut einen enormen Einfluss auf die erfolgreiche Aufzeichnung eines EOG. Bezüglich der Verteilung des olfaktorischen Epithels auf der Nasenschleimhaut gibt es viele verschiedenen Arbeiten, die sich zum Teil stark widersprechen. Feron und Kollegen (Feron et al., 1998) vertreten den klassischen Ansatz und gehen davon aus, dass das olfaktorische Epithel das Nasenhöhlendach und den angrenzenden Teil des Septum nasi sowie der oberen Nasenmuschel auskleidet. Zudem stellten sie fest, dass das olfaktorische Epithel vermehrt in den hinteren Anteilen der Nasenhöhle zu finden ist. Es gibt, wie in Abschnitt 2.3.4 erwähnt, zudem unterschiedliche Arbeiten (Leopold et al., 2000; Paik et al., 1992) die anhand von EOG-Aufzeichnungen und Biopsien aus der menschlichen Nasenschleimhaut neben der Riechspalte weitere Areale mit einem erhöhten Aufkommen vollentwickelter ORN aufzeigen konnten. Die Schleimhautregion auf dem Dach der mittleren Nasenmuschel, im vorderen Bereich des Ansatzes an der lateralen Nasenwand, weist nach einer Arbeit von Leopold und Kollegen vermehrt ORN auf (Leopold et al., 2000). Diese Region wurde in der aktuellen Arbeit zur Positionierung der nasalen Elektrode genutzt. Ebenso konnte gezeigt werden, dass auch die menschliche Riechspalte nur in 47% der Fälle ORN enthält (Paik et al., 1992). Eine Ursache für diese unterschiedlichen und zum Teil widersprüchlichen Ergebnisse kann die Transformation der Nasenschleimhaut darstellen. Im Rahmen des Alterungsprozesses des Menschen kommt es in verschiedenen Regionen der nasalen Schleimhaut zu einer Umwandlung des olfaktorischen Epithels in respiratorisches Epithel. Sichtbar wird dieser Prozess durch Biopsien aus

der menschlichen Nasenschleimhaut (Paik et al., 1992). Respiratorisches Epithel, welches durch Metaplasien aus ursprünglich olfaktorischem Epithel entstanden ist, enthält als dessen Überreste Zellen mit Mikrovilli. Diese sind in dem respiratorischen Epithel anderer Regionen der Nasenschleimhaut nicht zu finden. Während das olfaktorische Epithel im Fetus einheitlich ist, können Metaplasien im olfaktorischen Epithel im Laufe des steigenden Lebensalters zu einer inhomogenen Verteilung dessen auf der menschlichen Nasenschleimhaut führen. Diese Umstände könnten ebenso die eingeschränkte Erfolgsquote beim Aufzeichnen von EOGs erklären.

Doch nicht nur die fehlenden Kenntnisse über die genaue Verteilung des olfaktorischen Epithels und der ORN auf der Nasenschleimhaut stellen eine Grenze der hiesigen Arbeit dar. Auch das EOG an sich, welches eine evaluierte Methode zur Messung von elektrischen Potentialen am olfaktorischen Epithel darstellt, ist aufgrund seiner komplexen und sehr stör anfälligen Messmethodik im Rahmen dieser Studie kritisch zu betrachten. Besonders der komplexe Versuchsaufbau kann zu einer eingeschränkten Erfolgsquote bei der Ableitung eines EOG (Hummel et al., 1996; Lapid et al., 2011) führen. Auch in dieser Studie konnte nicht für jeden Probanden und Duftstoff erfolgreich ein EOG abgeleitet werden (siehe Tabelle 3.1). Dies kann zum einen an den fehlenden Kenntnissen über die Topographie der Riechschleimhaut liegen, welche eine Positionierung der Ableitelektrode in Arealen mit hoher Aktivität für den entsprechenden Duftstoff unmöglich macht. Zum anderen birgt auch der grundlegende Versuchsaufbau einige Fehlerquellen. Dazu zählt vorrangig die Positionierung der Elektrode auf der Riechschleimhaut. Durch das Einbringen unter endoskopischer Sicht kann die ungefähre Lage der Elektrode zwar bestimmt werden, jedoch kann die Nasenschleimhaut aufgrund leichter Manipulationen anschwellen und somit das Ableiten von elektrischen Potentialen fast unmöglich machen. Die Verwendung eines Lokalanästhetikums zur Abschwächung der Sensibilität der Nasenschleimhaut kann aufgrund von nachgewiesener temporärer Anosmie durch die Applikation dieser Medikamente (Welge-Luessen et al., 2004; Knecht & Hummel, 2004) nicht erfolgen. Eine weitere Fehlerquelle stellt die Anfälligkeit der Elektrode gegenüber äußeren Einflüssen dar. Schon minimale Muskelbewegungen oder Bewegungen der Elektrode, z. B. durch Gefäßpulsationen von benachbarten Blutgefäßen, führten zu einer stark schwankenden Baseline. Was wiederum das Ableiten von verwertbaren EOG-Kurven einschränkte. Zudem können bereits kleinste Bewegungen zum Verrutschen der intranasalen Elektrode führen. Dies könnte auch eine Erklärung für die signifikante Abnahme erfolgreich abgeleiteter Signale mit zunehmender Reizzahl sein.

Abschließend ist hervorzuheben, dass es trotz des doch sehr stör anfälligen Versuchsaufbaus gelungen ist, mit Hilfe des EOG im menschlichen Organismus den Vorgang der peripheren Adaptation darzustellen.

4.2. Lateralisierungstest

Unter zu Hilfenahme des Lateralisierungstestes sollte die Lokalisierungswahrscheinlichkeit der verwendeten Duftstoffe „Eugenol, ISO E-Super und Manzanate“ ermittelt werden. Aus älteren Arbeiten (von Skramlik, 1925; Kobal et al., 1989; Hummel et al., 2003; Frasnelli et al., 2011) ist bekannt, dass Richtungsriechen überwiegend durch eine Aktivierung des N. trigeminus möglich ist. Zudem hängt die Genauigkeit des Richtungsriechens vom Ausmaß der trigeminalen Aktivierung ab (Frasnelli & Hummel, 2005; Frasnelli et al., 2011). Im Umkehrschluss gilt, dass Duftstoffe, die fast ausschließlich die ORN ansprechen und nur zu einer geringen respektive keinen Aktivierung des N. trigeminus führen, schwer zu lokalisieren sind (von Skramlik, 1925; Frasnelli et al., 2011). Eine wichtige Grundvoraussetzung für diese Erkenntnisse stellte die passive Applikation der Duftstoffe direkt in das jeweilige Nasenloch dar (siehe Abschnitt 2.3.1). Denn es gibt Studien (Porter et al., 2005; von Békésy, 1964) bei denen im Rahmen von aktivem Riechen auch für annähernd reine Duftstoffe, wie z. B. PEA, Richtungsriechen nachgewiesen werden konnte.

Unter der Voraussetzung der passiven Duftstoffapplikation konnte für den in dieser Arbeit verwendeten Kontrollduftstoff PEA, wie in Abschnitt 2.2 erläutert, bereits in mehreren Studien gezeigt werden, dass eine eindeutige Lokalisierbarkeit nicht möglich ist (Doty et al., 1978; Radil & Wysocki, 1988; Wysocki et al., 2003; Frasnelli et al., 2009; Negoias et al., 2013). Diese Eigenschaft konnte mit den Ergebnissen dieser Arbeit weiter untermauert werden (siehe Abbildung 3.19). Neben PEA wurde mit Hilfe des Lateralisierungstests auch für die Duftstoffe „Eugenol, Iso E Super und Manzanate“ die Lokalisierungswahrscheinlichkeit ermittelt. Dabei ergaben sich, wie in Abbildung 3.19 dargestellt, keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zum Kontrollduftstoff PEA. Demzufolge sind auch die Duftstoffe „Eugenol, Iso E Super und Manzanate“ nicht eindeutig lokalisierbar. Es kann also davon ausgegangen werden, dass sie fast ausschließlich die ORN und nicht den N. trigeminus aktivieren.

Diese Erkenntnisse sind von zentraler Bedeutung für die erlangten Ergebnisse im Rahmen der elektrophysiologischen Messungen. Wie bereits im Abschnitt 1.2 erläutert, enthält die Nasenschleimhaut neben den ORN auch Fasern des N. trigeminus. Kommt es zu einer Aktivierung der ORN oder des N. trigeminus, so kommt es zur Generierung von negativen Potentialänderungen an der Nasenschleimhaut. Diese können optisch nicht voneinander unterschieden werden (Kobal, 1981, 1985; Thürauf et al., 1993; Hummel et al., 1996; Hummel, 2000). Aufgrund dieser Erkenntnisse sollten für die aktuelle Studie nur Duftstoffe verwendet werden, welche in geringer Konzentration ausschließlich die ORN des olfaktorischen Epithels aktivieren und keine resp. nur eine geringe Erregung des N. trigeminus hervorrufen. Da für Eugenol, Iso E Super, Manzanate und PEA gezeigt werden konnte, dass diese Duftstoffe nicht eindeutig lokalisierbar sind, ist davon auszugehen, dass es sich bei den aufgezeichneten und in Abschnitt 2.3.4 ausgewerteten EOG-Kurven um elektrische Potentiale handelt, welche an der Riechschleimhaut generiert wurden und nicht durch die Erregung des N. trigeminus entstanden sind.

4.3. Psychophysische Messung

Die Ergebnisse aus Abschnitt 3.1 zeigen, dass für alle 4 verwendeten Duftstoffe mit zunehmender Reizanzahl die wahrgenommene Duftstoffintensität abnimmt. Jedoch nur für Eugenol konnte eine signifikante Abnahme aufgezeigt werden. Im Vergleich zu den Ergebnissen der elektrophysiologischen Messung (Abschnitt 3.2.1) lassen sich viele Übereinstimmungen aber auch einzelne Unterschiede feststellen. Für alle Duftstoffe konnten im Rahmen der psychophysischen Testung als auch bei der elektrophysiologischen Messung Abnahmen der Intensitätswahrnehmung oder der Amplituden mit zunehmender Reizfolge festgestellt werden. Für Iso E Super und Manzanate war jedoch keines dieser Ergebnisse signifikant. Auch für PEA zeigte sich eine nicht signifikante Abnahme der wahrgenommenen Intensität. Die Abnahme der Amplituden im Rahmen der elektrophysiologischen Messung war hingegen signifikant. Bei dem Duftstoff „Eugenol“ zeigte sich sowohl eine signifikante Abnahme der Intensitätswahrnehmung als auch ein Trend in der Abnahme der Amplituden.

In einer Arbeit von Hummel und Kollegen (Hummel et al., 1996) wurden ebenfalls Ergebnisse der elektrophysiologischen Messungen mit denen der psychophysischen Testung verglichen. Wie bereits im selben Abschnitt unter „elektrophysiologische Messungen“ angesprochen, wurden in dieser Studie EOGs von Duftstoffpaaren mit unterschiedlich langen ISI aufgezeichnet. Zudem erfolgte in einem separaten Untersuchungsgang die Registrierung der subjektiven Intensitätswahrnehmung dieser Duftstoffpaare. Dabei kamen sie zu dem Ergebnis, dass die Abnahme der wahrgenommenen Duftstoffintensität deutlich größer ausfällt, als die Abnahme der Amplituden im Rahmen der elektrophysiologischen Aufzeichnung. Diese Ergebnisse decken sich nur teilweise mit denen der jetzigen Studie. Für Eugenol konnten ähnliche Resultate erzielt werden, denn wo sich in der elektrophysiologischen Messung lediglich ein Trend zeigte, waren die Ergebnisse der subjektiven Intensitätswahrnehmung signifikant. Für den Duftstoff PEA zeigten sich die Ergebnisse genau entgegengesetzt. Es ergab sich eine signifikante Abnahme der Amplituden bei der elektrophysiologischen Messung. Die Abnahme der Intensitätswahrnehmung bei der psychophysischen Testung war jedoch nicht signifikant. Eine mögliche Erklärung dafür könnte die sehr niedrige Konzentration der verwendeten Duftstoffe und eine andere die kurzen ISI mit hoher Anzahl an Wiederholungen sein. Einige Probanden gaben nach der psychophysischen Testung die Rückmeldung, dass es im Rahmen des Versuchsaufbaus sehr schwer sei, die wahrgenommenen Intensitäten exakt einzuschätzen. Aufgrund der bereits zu Beginn eher niedrig wahrgenommenen Konzentration war eine weitere Abstufung zum Ende der Versuchsreihe fast unmöglich. Besonders die hohe Anzahl an Wiederholungen stellt einen großen Unterschied zwischen der Arbeit von Hummel und Kollegen mit 2 Wiederholungen und dieser Studie mit insgesamt 10 Wiederholungen dar. Auch wenn immer nur die direkt auf einander folgenden Duftstimuli in ihrer Intensität verglichen werden sollten, gaben viele Probanden an, dabei Probleme gehabt zu haben. Sie waren in Gedanken bestrebt alle Duftstimuli einer Versuchsreihe miteinander zu vergleichen.

5. Zusammenfassung

Tagtäglich nimmt der menschliche Organismus unzählige verschiedene Gerüche wahr. Doch obwohl viele davon, wie z. B. der eigene Körpergeruch stets präsent sind, werden diese nicht dauerhaft wahrgenommen. Der Grund dafür ist, dass wir uns an konstante, sich stets wiederholende Gerüche gewöhnen und diese im Verlauf nicht mehr wahrnehmen. Es gibt bereits verschiedenste Forschungsarbeiten zum Phänomen der Geruchsgewöhnung. Unter anderem konnte gezeigt werden, dass Geruchsgewöhnung durch ein Zusammenspiel aus zentralnervösen Prozessen und Veränderungen auf Rezeptorebene hervorgerufen wird. Diese Erkenntnis beruht hauptsächlich auf Forschungsarbeiten, bei denen der Geruchssinn von Tieren untersucht wurde. Für den menschlichen Geruchssinn gelang es bisher fast ausschließlich Gewöhnung auf zentralnervöser Ebene nachzuweisen. Ein eindeutiger Nachweis von peripherer Gewöhnung durch Veränderungen auf Rezeptorebene gelang bisher nicht.

Im Rahmen dieser Studie sollte untersucht werden, ob es nicht doch bereits auf Ebene des olfaktorischen Epithels zur Geruchsgewöhnung kommt. Die zentrale Hypothese lautete: Bei der olfaktorischen Gewöhnung an monomolekulare Duftstoffe kommt es zu Veränderungen in der Signaltransduktion, welche sich in Form einer Abnahme der Amplitude und Zunahme der Latenzzeit widerspiegeln. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde, wie auch bereits in unterschiedlichen älteren Arbeiten, das EOG genutzt. Basierend auf dieser Untersuchungstechnik sollten mit Hilfe einer kleinen intranasalen Elektrode elektrische Potentiale von der menschlichen Riechschleimhaut abgeleitet werden. Dafür wurden in dieser Studie 4 verschiedene Duftstoffe „Eugenol, Iso E Super, Manzanate und PEA“ verwendet. Die Auswahl beruhte auf einer aktuellen MRT-Studie, in welcher für verschiedene Duftstoffe unterschiedliche Grade der Geruchsgewöhnung (stark, mittel und schwach) festgestellt wurden. Eugenol, Iso E Super und Manzanate stellen dabei jeweils einen Vertreter dieser 3 Gruppen dar. PEA wurde aufgrund seiner bereits gut untersuchten Eigenschaften mit in die Arbeit aufgenommen und diente unter anderem auch als Kontrollduftstoff. Die Duftstoffapplikation in die Nase erfolgte mit Hilfe eines Fluss-Olfaktometers. Auf diese Weise konnten Duftstöße mit einer definierten Konzentration und Dauer erzeugt werden. Für jeden Duftstoff wurde eine eigene Sequenz angelegt, in der jeder Duftstoff insgesamt 10 Mal im Abstand von 4 Sekunden intranasal appliziert wurde. Die hohe Anzahl an Wiederholungen als auch die möglichst geringen Konzentrationen der Duftstoffe sollten die Wahrscheinlichkeit des Eintretens der Gewöhnung erhöhen.

In dieser Arbeit gelang es bei insgesamt 30 der 36 Probanden erfolgreich ein EOG aufzuzeichnen. Es konnte dabei jedoch nicht für jeden Duftstoff und Stimulus ein EOG abgeleitet werden. Insgesamt wurden 282 EOG in die Auswertung miteinbezogen und bezüglich ihrer

Amplitude und Latenzzeit untersucht. Bezogen auf die Latenzzeit zeigte sich für keinen der 4 verwendeten Duftstoffe eine signifikante Veränderung. Bezogen auf die Amplitude der elektrischen Signale zeigte sich für den Duftstoff PEA eine signifikante Abnahme. Für Eugenol konnte diesbezüglich ein Trend aufgezeigt werden. Allein für Iso E Super und Manzanate waren die Abnahmen der Amplitude nicht signifikant.

Basierend auf der Annahme, dass die Amplitudengröße als Kenngröße zur Darstellung peripherer Adaptation dient, konnte für die Duftstoffe PEA und Eugenol gezeigt werden, dass auch im menschlichen Organismus das Phänomen der Geruchsgewöhnung bereits auf Rezeptorebene beginnt. Dies zeigte sich dabei in einer Amplitudenabnahme der elektrischen Signale mit zunehmender Duftstimulusanzahl. In älteren Forschungsarbeiten auf dem Gebiet der menschlichen Geruchsgewöhnung gelang bisher kein eindeutiger Nachweis von peripherer Adaptation. Es konnte zwar gezeigt werden, dass die Amplitude mit zunehmender Duftreizanzahl abnimmt, die Ergebnisse waren jedoch nicht signifikant. Ein wesentlicher Unterschied zu diesen Forschungsarbeiten bestand im Studiendesign. In den vorangegangenen Arbeiten wurden ausschließlich EOGs von Duftstimuluspaaren aufgezeichnet. In der aktuellen Arbeit hingegen wurden 10 Duftstimuli hintereinander appliziert. Basierend auf dieser Tatsache lässt sich vermuten, dass periphere Adaptation erst nach mehrmaliger Duftstoffapplikation einsetzt. Dennoch konnte nicht für jeden der 4 verwendeten Duftstoffe eine statistisch relevante Abnahme der Amplitude aufgezeigt werden. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass bis heute nicht eindeutig geklärt ist wo genau auf der Nasenschleimhaut überall olfaktorisches Epithel bzw. ORN zu finden sind. Zum anderen ist bekannt, dass es von den ORN viele verschiedene Subtypen gibt, welche unterschiedlich sensibel für diverse Duftstoffe sind und zudem räumlich gehäuft und nicht homogen auf der Riechschleimhaut verteilt sind. Es könnte somit sein, dass bei genauer Kenntnis über die Verteilung des olfaktorischen Epithels auf der Nasenschleimhaut und der Verteilung der ORN-Subtypen auf dieser auch für andere Duftstoffe, wie zum Beispiel Iso E super und Manzanate, periphere Adaptation aufgezeigt werden kann. Ziel zukünftiger Forschungsarbeiten auf dem Gebiet der menschlichen Geruchsgewöhnung sollte die Erarbeitung einer „Übersichtskarte“ der menschlichen Nasenschleimhaut mit genauer Verteilung resp. Ausbreitung der Riechschleimhaut und den entsprechenden ORN-Subtypen sein.

Summary

The human organism daily perceives a vast number of different kind of odors. Although most of these odors are ever-present, for example the own body odor, they are not permanently perceived. The reason is, that we will habituate to constant, recurrent odors. In this way we will not take note of these odors in the further course. There exists different studies of the phenomenon of odor habituation. Among others it could be shown, that the process of habituation is caused by an interaction of central nervous processes and changes at the receptor layer. Most of these knowledge is based on studies with animals. Nearly all studies of human olfaction showed habituation at the central nervous level. Until now no study was able to show the distinct evidence of peripheral adaptation at the receptor layer.

The aim of this study was to investigate if the process of habituation begins at the level of the olfactory epithelium. The central hypothesis was, that in case of an olfactory habituation to monomolecular odors, the signal transduction changes in the form of a decrease of the signal amplitude and an increase of the latency. To verify the hypothesis an EOG was used like in previous studies. With a little intranasal electrode, electric potentials should be dissipated from the human olfactory mucosa. The range of odors used in this study based on a current MRT study, which clustered odors in different degrees (intense, middle and light) of habituation. In this study were used three odors Eugenol, Iso E Super and Manzanate. Each of this odors present one of the 3 established groups of different degrees of habituation. Moreover one additional odor „PEA“ was used. PEA is a well studied odor. Therefore in this study PEA was used among others for control purposes. All odors were applied in the nose with an flow olfactometer. In this way it was possible to create odor applications with an exact defined concentration and duration. For each odor was defined an own sequence which consisted of ten intranasal odor applications with a time gap of 4 seconds between them. The high count of repetition and the low concentration of odors should increase the chance of an occurrence of habituation.

In this study in total 30 out of 36 subjects a record with the EOG was successful. Certainly it was not possible to successfully record a EOG for each odor and stimuli. Overall 282 recorded EOG's were included in the evaluation. All data were investigated relating to the amplitude and time of latency. None of the used odors have shown a significant change in the latency. As a result of the evaluation of the amplitude a significant decrease for PEA could be shown. Regarding this for Eugenol a trend could be shown. Only for Iso E Super and Manzanate the decreases of the amplitude were not significant.

Under considering the assumption that the amplitude is a key parameter for peripheral adaption, for PEA and Eugenol could be shown that also in the human organism habituation starts on the receptor layer. For both odors a decrease of the amplitude of the electric signals occur when the amount of odor application increases. In older studies at this research area of human odor habituation it was not possible to get an explicit proof of peripheral adaption.

Indeed a decrease of the amplitude under an increase of the amount of odor applications could be observed but no significance could be shown. An essential difference between this study and the older studies was the design of the study. Previously only pairs of odors were recorded. In this study 10 subsequent odor stimuli were applied. Therefore it could be assumed that peripheral adaption starts only after multiple application of an odor. But it was not possible to show a significant decrease of the amplitude for all used odors. An explanation could be, that the exact expansion of the olfactory epithelium respectively the **ORN** on the nasal mucosa is unknown until today. Furthermore there exist different kinds of subtypes of the **ORN** which show different sensibilities for various odors. This subtypes of **ORN** are located cumulatively and not homogenous on the olfactory epithelium. Hence a better knowledge of the distribution of the olfactory epithelium and the **ORN** subtypes could result in a proof of peripheral adaption for odors like Manzanate and Iso E Super. Targets of future studies on the section of odor habituation in humans should be to develop an overview map of the human nasal mucosa. This overview map should contain a detailed distribution or proliferation of the olfactory epithelium and the corresponding **ORN** subtypes.

6. Literaturverzeichnis

Adrian E. 1950. Sensory discrimination: With some recent evidence from the olfactory organ. *Br Med Bull* 6:330–331.

Boesveldt S, Haehner A, Berendse H, Hummel T. 2007. Signal-to-noise ratio of chemosensory event-related potentials. *Clin Neurophysiol* 118:690–695.

Buck L, Axel R. 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. *Cell* 65:175–187.

Bushdid C, Magnasco M, Vosshall L, Keller A, Pointer M, Attridge G, Thomas-Danguin T. 2014. Humans can discriminate more than 1 trillion olfactory stimuli. *Science* 343:1370–1372.

Doty RL, Brugger WPE, Jurs PC, Orndorff MA, Snyder PJ, Lowry LD. 1978. Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiol Behav* 20:175–185.

Duller C. 2008. Einführung in die nichtparametrische Statistik mit SAS und R, vol. 1. Springer, pp. 107–149.

Fahrmeir L, Kneib T, Lang S. 2007. Regression. Modelle, Methoden und Anwendung, vol. 1. Springer-Verlag, pp. 253–290.

Feron F, Perry C, McGrath J, Mackay-Sim A. 1998. New techniques for biopsy and culture of human olfactory epithelial neurons. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 124:861–866.

Frasnelli J, Charbonneau G, Collignon O, Lepore F. 2009. Odor localization and sniffing. *Chem Senses* 34(2):139–144.

Frasnelli J, Hummel T. 2005. Intranasal trigeminal thresholds in healthy subjects. *Environ Toxicol Pharmacol* 19(3):575–580.

Frasnelli J, Hummel T, Berg J, Huang G, Doty R. 2011. Intranasal localizability of odorants: influence of stimulus volume. *Chem Senses* 36(4):405–410.

Gesteland R, Lettvin J, Pitts W, Rojas A. 1963. Odor specificities of the frog's olfactory receptors, in: *Olfaction and Taste*, vol. 1. Pergamon Press, pp. 19–34.

Getchell T. 1974. Electrogenic sources of slow voltage transients recorded from frog olfactory epithelium. *J Neurophysiol* 37:1115–1130.

Gudziol H, Wajnert B. 2006. Das flussolfaktometer nach kobal im klinischen einatz für die subjektive und objektivierende olfaktometrie. *Laryngo-Rhino-Otol* 85:409–414.

- Hensel H. 1966. Allgemeine Sinnesphysiologie. Hautsinne, Geschmack, Geruch, vol. 1. Springer Verlag, pp. 83–87.
- Hummel T. 2000. Assessment of intranasal trigeminal function. *Int J Psychophysiol* 36:147–155.
- Hummel T, Futschik F, Frasnelli J, Huttenbrink K. 2003. Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli. *Toxicol Lett* 140-141:273–280.
- Hummel T, Knecht M, Kobal G. 1996. Peripherally obtained electrophysiological responses to olfactory stimulation in man: electro-olfactograms exhibit a smaller degree of desensitization compared with subjective intensity estimates. *Brain Res* 717:160–164.
- Hummel T, Konnerth CG, Rosenheim K, Kobal G. 2001. Screening of olfactory function with a four-minute odor identification test: reliability, normative data, and investigations in patients with olfactory loss. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 110:976–981.
- Hummel T, Mojet J, Kobal G. 2006. Electro-olfactograms are present when odorous stimuli have not been perceived. *Neurosci Lett* 397:224–228.
- Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G. 1997. ‚sniffin‘sticks‘ : Olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses* 22:39–52.
- Knecht M, Hummel T. 2004. Recording of the human electro-olfactogram. *Physiol Behav* 83:13–19.
- Kobal G. 1981. Elektrophysiologische Untersuchungen des menschlichen Geruchsinns, vol. 1. Thieme Verlag, pp. 1–23, 121–132.
- Kobal G. 1985. Pain-related electrical potentials of the human nasal mucosa elicited by chemical stimulation. *Pain* 22:151–163.
- Kobal G, Toller SV, Hummel T. 1989. Is there directional smelling? *Experientia* 45:130–132.
- Kurahashi T, Menini A. 1997. Mechanism of odorant adaptation in the olfactory receptor cell. *Nature* 385:725–729.
- Kurahashi T, Shibuya T. 1990. Ca²⁺(+)-dependent adaptive properties in the solitary olfactory receptor cell of the newt. *Brain Res* 515:261–268.
- Lapid H, Hummel T. 2013. Recording odor-evoked response potentials at the human olfactory epithelium. *Chem Senses* 38:3–17.
- Lapid H, Seo HS, Schuster B, Schneidman E, Roth Y, Harel D, Sobel N, Hummel T. 2009. Odorant concentration dependence in electroolfactograms recorded from the human olfactory epithelium. *J Neurophysiol* 102:2121–2130.

- Lapid H, Shushan S, Plotkin A, Voet H, Roth Y, Hummel T, Schneidman E, Sobel N. 2011. Neural activity at the human olfactory epithelium reflects olfactory perception. *Nat Neurosci* 14:1455–1463.
- Leinders-Zufall T, Greer C, Shepherd G, Zufall F. 1998. Imaging odor-induced calcium transients in single olfactory cilia: specificity of activation and role in transduction. *J Neurosci* 18:5630–5639.
- Leopold DA, Hummel T, Schwob JE, Hong SC, Knecht M, Kobal G. 2000. Anterior distribution of human olfactory epithelium. *Laryngoscope* 110:417–421.
- Mittag H. 2017. Statistik. Eine interaktive Einführung, vol. 5. Springer-Verlag, p. 75.
- Moulton D. 1976. Spatial patterning of response to odors in the peripheral olfactory system. *Physiol Rev* 56:578–593.
- Mozell M. 1964. Olfactory discrimination: Electrophysiological spatiotemporal basis. *Science* 143:1336–1337.
- Mozell MM. 1962. Olfactory mucosal and neural responses in the frog. *Am J Physiol* 203:353–358.
- Mustaparta H. 1971. Spatial distribution of receptor-responses to stimulation with different odours. *Acta Physiol Scand* 82:154–166.
- Negoias S, Aszmann O, Croy I, Hummel T. 2013. Localization of odors can be learned. *Chem Senses* 38:553–562.
- Osterhammel P, Terkildsen K, Zilsdorff K. 1969. Electro-olfactograms in man. *J Laryngol* 83:731–733.
- Ottoson D. 1956. Analysis of the electrical activity of the olfactory epithelium. *Acta Physiol Scand* 35:1–83.
- Paik SI, Lehman MN, Seiden AM, Duncan HJ, Smith DV. 1992. Human olfactory biopsy. the influence of age and receptor distribution. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 118:731–738.
- Pellegrino R, Sinding C, de Wijk R, Hummel T. 2017. Habituation and adaptation to odors in humans. *Physiol Behav* 177:13–19.
- Porter J, Anand T, Johnson B, Khan R, Sobel N. 2005. Brain mechanisms for extracting spatial information from smell. *Neuron* 47(4):581–592.
- Radil T, Wysocki C. 1988. Spatiotemporal masking in pure olfaction. *Ann N Y Acad Sci* 855:641–644.
- Rankin CH, Abrams T, Barry RJ, Bhatnagar S, Clayton D, Colombo J, Coppola G, Geyer MA, Glanzman DL, Marsland S, McSweeney F, Wilson DA, Wu CF, Thompson RF. 2009. Habituation revisited: An updated and revised description of the behavioral characteristics of habituation. *Neurobiol Learn Mem* 92:135–138.

- Rasch B, Frieze M, Hofmann W, et al. 2010. Quantitative Methoden 1. Einführung in die Statistik für Psychologen und Sozialwissenschaftler, vol. 3. Springer Verlag, p. 58.
- Scheibe M, Zahnert T, Hummel T. 2006. Topographical differences in the trigeminal sensitivity of the human nasal mucosa. *Neuroreport* 17:1417–1420.
- Scott J, Brierley T, Schmidt F. 2000. Chemical determinants of the rat electro-olfactogram. *J Neurosci* 20:4721–4731.
- Sinding C, Valadier F, Al-Hassani V, Ferron G, Tromelin A, Kontaris I, Hummel T. 2017. New determinants of olfactory habituation. *Sci Rep* 7:41047.
- Thommesen G, Doving K. 1977. Spatial distribution of the eog in the rat; a variation with odour quality. *Acta Physiol Scand* 99:270–280.
- Thompson R, Spencer W. 1966. Habituation: a model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior. *Psychol Rev* 73:16–43.
- Thürauf N, Hummel T, Kettenmann B, Kobal G. 1993. Nociceptive and reflexive responses recorded from the human nasal mucosa. *Brain Res* 629:293–299.
- von Békésy G. 1964. Olfactory analogue to directional hearing. *J Appl Physiol* 19:369–373.
- von Skramlik E. 1925. Über die lokalisation von empfindungen bei den niederen sinnen. *Z Sinnesphysiol* 56:88–123.
- Welge-Luessen A, Wille C, Renner B, Kobal G. 2004. Anesthesia affects olfaction and chemosensory event-related potentials. *Clin Neurophysiol* 115:1384–1391.
- Wysocki C, Cowart B, Radil T. 2003. Nasal trigeminal chemosensitivity across the adult life span. *Percept Psychophys* 65(1):115–122.
- Zufall F, Leinders-Zufall T. 2000. The cellular and molecular basis of odor adaptation. *Chem Senses* 25:473–481.