

„Untersuchung olfaktorisch evozierter Potentiale bei Kindern und Jugendlichen“

DISSERTATIONSSCHRIFT

zur
Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae
der

Medizinischen Fakultät „Carl Gustav Carus“

der Technischen Universität Dresden

vorgelegt von

Carolin Börner

geb. am 16.11.1988

in Berlin

Aus der Hals-, Nasen-, Ohrenklinik
der Medizinischen Fakultät „Carl Gustav Carus“
der Technischen Universität Dresden
– Direktor: Prof. Dr. Th. Zahnert–

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
1.1 Allgemein	1
1.2 Anatomie und Physiologie des Riechens.....	3
1.3 Diagnostische Verfahren zur Beurteilung des Riechvermögens	8
1.3.1 Psychophysische Testverfahren und Anwendung bei Kindern	8
1.3.2 Elektrophysiologische Testverfahren.....	10
1.3.2.1 Olfaktorisch Evozierte Potentiale und deren Anwendung bei Kindern	11
1.4 Zielstellung.....	14
2 Material und Methoden	16
2.1 Teilnehmer und Teilnahmekriterien	16
2.2 Studienablauf/-design.....	18
2.3 Psychophysische Untersuchung.....	19
2.3.1 Untersuchungsmethode „Sniffin‘ Sticks“- Identifikationstest.....	19
2.3.2 Modifizierte Form „Sniffin‘ Sticks“- 14 Stift Identifikationstest („Sniffin‘ Kids“)..	19
2.4 Elektrophysiologische Untersuchung.....	20
2.4.1 Das Olfaktometer	20
2.4.2 Ableitung und Aufzeichnung Olfaktorisch Evozierter Potentiale.....	22
2.4.3 Stimulusmodalitäten	23
2.4.4 Abschirmung akustischer und visueller Reize	23

2.5	Ablauf des Studientermins und Durchführung	24
2.6	Auswertung und Statistik	25
3	Ergebnisse.....	26
3.1	Probanden	26
3.2	Ergebnisse der psychophysischen Testung	27
3.3	Ergebnisse der elektroфизиologischen Testung.....	28
3.3.1	Signalhäufigkeiten	28
3.3.2	Signalamplituden und Signallatenzen.....	28
3.3.3	Amplitude und Latenz von N1	29
3.3.3.1	Untersuchung von N1, Elektrodenposition, Geschlecht und Altersgruppe	30
3.3.3.2	Interaktion von N1-Latenz, Elektrodenposition und Geschlecht.....	30
3.3.4	Amplitude und Latenz von P2.....	31
3.3.4.1	Untersuchung der P2-Amplitude, Elektrodenposition, Alter und Geschlecht	32
3.3.4.2	Untersuchung der P2-Latenz, Elektrodenposition, Alter und Geschlecht..	33
3.3.5	Signal-Rausch Verhältnis	34
4	Diskussion.....	36
4.1	Diskussion der Testmethoden	36
4.1.1	Diskussion der Psychophysischen Testung.....	36
4.1.2	Diskussion der elektroфизиologischen Testung	38
4.1.2.1	Aufnahme von OEP bei Kindern und Jugendlichen	38
4.1.2.2	Verteilung der Signalhäufigkeiten und Beeinflussung der OEPs durch Aufnahmemodalitäten	39

4.1.2.3	Latenzen der Signalanteile, Interaktion mit Alter, Geschlecht und Elektrodenposition	40
4.1.2.4	Amplituden der Signalanteile, Interaktion der Elektrodenposition mit Alter und Geschlecht.....	42
4.1.2.5	Spitze-Spitze-Amplitude N1/P2 und Effekte auf das Signal-Rausch-Verhältnis	45
5	Zusammenfassung/Summary.....	47
5.1	Deutsch.....	47
5.2	Summary.....	48
6	Verzeichnisse	50
6.1	Literaturverzeichnis	50
6.2	Abbildungsverzeichnis.....	60
6.3	Tabellenverzeichnis.....	61
7	Anlagen.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.
7.1	Information für Eltern und Teilnehmer	Fehler! Textmarke nicht definiert.
7.1.1	Information für Eltern der Teilnehmer	Fehler! Textmarke nicht definiert.
7.1.2	Probandeninformation für Teilnehmer von 14-18 Jahren	Fehler! Textmarke nicht definiert.
7.1.3	Probandeninformation für Teilnehmer von 10-14 Jahren	Fehler! Textmarke nicht definiert.
7.1.3.1	Probandeninformation für Teilnehmer von acht bis zehn Jahren	Fehler! Textmarke nicht definiert.
7.2	Einwilligungserklärung/Einverständniserklärung.	Fehler! Textmarke nicht definiert.
7.3	Veröffentlichungen und Konferenzen	62
7.4	Danksagung.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.

7.5 Erklärung zur Eröffnung des Promotionsverfahrens **Fehler!** **Textmarke** **nicht definiert.**

Abkürzungsverzeichnis

A

AEP Akustisch evozierte Potentiale

C

CSERP Chemosensory event-related potentials

E

EEG Elektroenzephalogramm

ERP engl. Event-related Potential (Ereignis assoziierte Potentiale)

H

H₂S Schwefelwasserstoff

I

ISI Interstimulusintervall

L

LP engl. Late Positivity

O

OEP Olfaktorisch evozierte Potentiale

OBP Odorant Bindungs Protein

P

PEA Phenylethylalkohol

S

SD engl. Standard deviation (Standardabweichung)

V

VEP Visuell evozierte Potentiale

1 Einleitung

1.1 Allgemein

Aus den unzähligen Einflüssen, die auf den Menschen aus der Umwelt einfließen, werden mit Hilfe der Sinne wichtige Informationen entnommen. Dazu gehören das Sehen, das Hören, das Schmecken, das Fühlen und nicht zuletzt das Riechen. Dem Geruchssinn wurde eine Zeit lang keine große Bedeutung beigegeben. Vielfältige Forschung in den letzten Dekaden hat gezeigt, dass ein partieller oder gar kompletter Verlust gravierende Auswirkungen auf den Einzelnen haben kann (Miwa et al., 2001; Frasnelli and Hummel, 2005; Stevenson, 2010; Croy et al., 2014).

Der Verlust oder partielle Ausfälle des Geruchssinns haben eine Auswirkung auf die Nahrungsaufnahme, die Sicherheit des Einzelnen, die Hygiene, sowie auf das soziale als auch auf das sexuelle Leben (Frasnelli and Hummel, 2005; Croy et al., 2014). Durch den Geruchssinn wird nicht nur der Appetit beeinflusst, sondern er trägt zur Qualitätskontrolle der Nahrung bei und verhindert somit die Aufnahme von verdorbenen Nahrungsmitteln (Stevenson, 2010). Des Weiteren trägt er zu unserer Sicherheit bei, indem er Gefahren wie Feuer, Rauch und Gas als Warnsignal wahrnehmen kann (Miwa et al., 2001). Auch im sozialen Bereich beeinflusst uns der Geruchssinn. Die Partnerwahl wird durch den Geruch des Gegenübers mit beeinflusst (Wedekind et al., 1995; Kromer et al., 2016). Es wird angenommen, dass mit Hilfe des Geruchssinns ein Partner mit einem möglichst unterschiedlichem „Major Histocompatibility Complex“ (MHC-Komplex) ausgewählt wird. Diese stellen einen wichtigen genetischen Teil des Immunsystems dar (Wedekind et al., 1995; Kromer et al., 2016). Störungen des Geruchssinns haben ebenfalls eine Auswirkung auf die psychische Gesundheit. Demnach haben Menschen mit einer Störung des Geruchssinns eine höhere Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Depression (Croy et al., 2014).

Der Geruchssinn ist schon sehr früh ausgeprägt. Bereits im Mutterleib öffnen sich, etwa vier bis sechs Monate nach der Befruchtung der Eizelle, die Nasenlöcher und es gelangen Duftmoleküle, z.B. aus der mütterlichen Nahrung, über das Fruchtwasser zur Riechschleimhaut (Schaal et al., 2000). Außerdem ist es möglich, dass Duftmoleküle per Diffusion aus den Blutgefäßen der Nase zur Riechschleimhaut gelangen (Maruniak et al., 1983). Nach der Geburt sind Neugeborene sofort in der Lage, Gerüche wahrzunehmen und erkennen im Mutterleib erlebte Gerüche wieder (Schaal et al., 1998). Werden Neugeborene nach der Geburt auf die Brust der Mutter gelegt, finden sie die Brustwarze durch den

Geruch, der durch Drüsen rings um die Brustwarze gebildet wird, und fangen an zu Saugen (Varendi et al., 1994). Der Geruch der Mutter ist demnach wichtig für das Stillverhalten und die Bindung mit der Mutter. In den ersten Tagen nach der Geburt sind Neugeborene in der Lage, mit charakteristischem Verhalten auf Gerüche zu antworten, wie zum Beispiel Änderungen der Atemfrequenz, charakteristischen Gesichtsausdrücken oder der Zuwendung zu bestimmten Gerüchen (Steiner, 1979; Porter et al., 1988; Rotstein et al., 2015).

Der Geruchssinn ist schon früh ausgebildet und sowohl für die Orientierung in den ersten Lebensstunden, als auch für das spätere Leben maßgeblich. Bisherige Untersuchungen haben sich vor allem mit dem Geruchssinn bei Neugeborenen (Varendi et al., 1994; Winberg and Porter, 1998; Romantshik et al., 2007; Rotstein et al., 2015) und Kleinkindern (Hummel et al., 2007a; Hugh et al., 2015), sowie der Entwicklung und den Unterschieden bei jungen und älteren Erwachsenen (Murphy et al., 1994; James Evans et al., 1995) beschäftigt. Außerdem ist der Einfluss neurodegenerativer Erkrankungen, wie zum Beispiel dem idiopathischen Parkinson-Syndrom, bei anderen Parkinson-Syndromen oder der Alzheimer Demenz, auf den Geruchssinn gut untersucht (Müller et al., 2002; Haehner et al., 2009; Wilson et al., 2009; Haehner et al., 2011; Hüttenbrink et al., 2013).

Das Riechvermögen ist bei Kindern mit Hilfe von psychophysischen Testmethoden bereits gut untersucht. Doch wie entwickelt und verändert sich die Riechverarbeitung? Die vorliegende Arbeit untersuchte die Reizverarbeitung von Gerüchen bei Kindern und Jugendlichen mit Hilfe der Ableitung von olfaktorisch evozierten Potentialen (OEP).

Wir nahmen an, dass sich die neuronale Verarbeitung im Laufe der kindlichen und jugendlichen Entwicklung voneinander unterscheiden wird. Zunächst stand die Anwendbarkeit der Testmethode im Fokus. Das Ziel war es, Kinder ab einem Alter von drei Jahren zu untersuchen. Ein weiterer Schwerpunkt war die Untersuchung von Unterschieden zwischen Mädchen und Jungen der unterschiedlichen Altersgruppen.

1.2 Anatomie und Physiologie des Riechens

Die Voraussetzung zur Wahrnehmung von Gerüchen sind Duftmoleküle. Diese gelangen mit einem Luftstrom über die Nasenöffnung durch die Nasenhöhle (orthonasal) oder über die Mundhöhle (retronasal) zur Riechregion (Regio olfactoria). Diese Region, welche mit Riechschleimhaut ausgekleidet ist, liegt am Dach der Nasenhöhle. Sie erstreckt sich von der Lamina cribrosa des Os ethmoidale bis zu den angrenzenden Bereichen am oberen Rand der oberen Nasenmuschel und am Nasenseptum (siehe Abbildung 1).

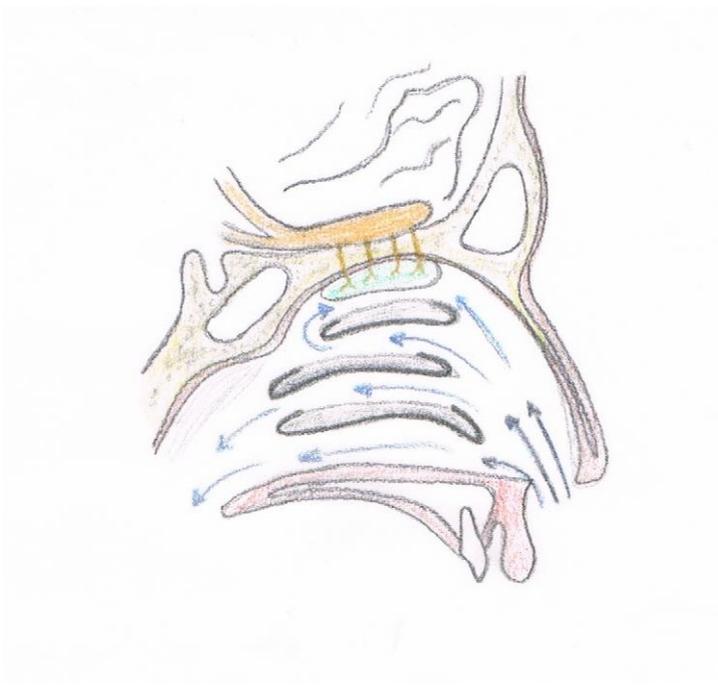


Abbildung 1: Sagittalschnitt durch die Nase.

In diesem Querschnitt ist die Nasenhöhle mit ihren drei Nasenmuscheln, Anteile des Oberkiefers, die Nasennebenhöhle im Os ethmoidale und Os frontale, sowie die vorderen Anteile des Gehirns und der Bulbus olfactorius dargestellt. Die Regio olfactoria (grün) liegt am Nasendach auf der oberen Nasenmuschel. Der Luftstrom durch die Nasenhöhle ist schematisch durch blaue Pfeile dargestellt (modifiziert nach Speckmann et al., 2013).

Das Riechepithel, welches die Riechregion auskleidet, unterscheidet sich von der restlichen Nasenschleimhaut. Die Riechschleimhaut ist ein mehrreihiges Epithel mit einer Basalzellschicht und enthält Sinneszellen, welche für die Wahrnehmung von Gerüchen zuständig sind, sowie Stützzellen und die runden Basalzellen (zur Schematischen Darstellung siehe Abb. 2). Zusätzlich gibt es Schleimdrüsen (Bowman-Drüsen), welche für

die Herstellung des für den Riechprozess wichtigen Schleims zuständig sind. Der Schleim ist zuständig für die Aufrechterhaltung des äußeren Milieus und enthält außerdem ein spezielles

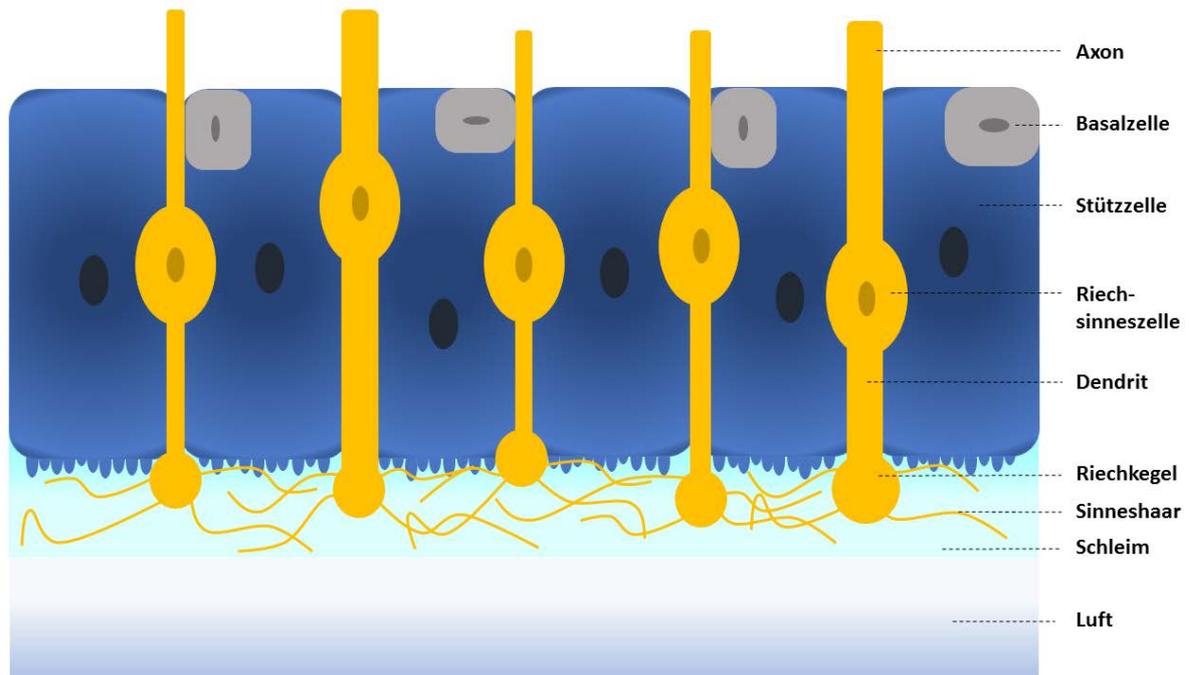


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Riechepithels

Protein, welches wichtig für die Bindung der Duftstoffe ist. Dieses wird als Odorant-Bindungs-Protein bezeichnet (Hummel et al., 2008; Lüllmann-Rauch, 2009). Die Funktion des Proteins liegt in der Bindung von hydrophoben Duftstoffmolekülen, welche ohne das Molekül nicht durch den Schleim zu den Rezeptoren diffundieren könnten. Damit ist gewährleistet, dass neben den wasserlöslichen Duftstoffmolekülen auch wasserunlösliche Moleküle aufgenommen werden können (Hummel et al., 2008). Die Sinneszellen überragen das Epithel an der Oberfläche kegelförmig. Der Riechkegel ist außerhalb des Epithels mit feinen Zilien besetzt, welche im Schleim der Drüsenzellen eingebettet liegen (Kahle and Frotscher, 2009). Auf den Zilien befinden sich die Rezeptoren, welche der Beginn der olfaktorischen Signaltransduktionskette sind (Müller et al., 2005). Die olfaktorischen Sinneszellen stehen, mit den am apikalen Ende sitzenden Zilien, in direktem Kontakt mit der Außenwelt und haben durch die langen dünnen Nervenfortsätze (Axon) direkten Zugang zum Gehirn und werden deshalb als primäre Nervenzelle bezeichnet (Schmidt et al., 2010). Sie bilden im Riechsystem die erste neuronale Verbindung. Die Stützzellen stellen das Gerüst des Epithels dar und haben die Aufgabe der Konstanthaltung der extrazellulären Matrix (Hummel et al., 2008; Aumüller et al., 2010). Die Regeneration der Sinnes- und Stützzellen wird durch die Basalzellen sichergestellt. Dieses ist einer der wenigen Orte des

Nervensystems im adulten Organismus an dem regelmäßig und nach Schädigung ständig neue Neurone gebildet werden können (Müller et al., 2005; Kahle and Frotscher, 2009; Aumüller et al., 2010).

Die Sinneszelle ist eine bipolare Nervenzelle, was bedeutet, dass sie ausgehend von ihrem Zellkern zwei Fortsätze hat. Einer der Fortsätze, Dendrit genannt, ist kürzer und bildet den rezeptorischen Abschnitt, welcher im äußeren Teil der Riechschleimhaut liegt. Der zweite Fortsatz, das Axon, zieht zum inneren Teil der Riechschleimhaut. Mehrere Axone werden in Bündeln zusammengefasst und ergeben die Fila olfactoria. In ihrer Gesamtheit stellen diese den Nervus olfactorius (erster Hirnnerv) dar (Aumüller et al., 2010). Die Fasern ziehen durch eine perforierte knöcherne Struktur, die Lamina cribrosa, aus der Nasenhöhle heraus, hinein in die Fossa cerebri anterior der vorderen Schädelgrube. Oberhalb der Lamina cribrosa erreicht der N. Olfactorius den paarig angelegten Bulbus olfactorius, eine kolbenartige Ausstülpung des Endhirns (siehe Abbildung 3). Dieser ist ein Teil des Paläokortexes und gehört damit im Vergleich zum Neo- und Archikortex zum ältesten Teil des Endhirns. Hier bilden die Axone der Sinneszellen synaptische Kontakte mit Fortsätzen der Mitral- und Büschelzellen (zweites Neuron der Riechbahn) in Glomeruli (lat. Glomus „Knäul“) aus. Zusätzlich befinden sich hier Körnerzellen und Interneurone, welche als hemmende Zellen aufzufassen sind. Diese werden teilweise über Kollateralen der Mitral- und Büschelzellen erregt und bauen so innerhalb des Bulbus olfactorius negative Schaltkreise auf (Aumüller et al., 2010).

Die in der Zilienmembran enthaltenen Duftstoffrezeptoren gehören zur Gruppe der sogenannten G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Diese gehören einer Rezeptorklasse an, welche eine intrazelluläre Signalkaskade auslösen, um einen Reiz weiterzuleiten. Bindet ein Duftstoffmolekül an einen Rezeptor wird die Signalkaskade ausgelöst und es entsteht ein Membranpotential, welches sich entlang des Axons hin zu den Glomeruli im Bulbus olfactorius ausbreitet (Albrecht and Wiesmann, 2006). Jede Sinneszelle präsentiert nur einen Rezeptortypen (Malnic et al., 1999). In den Glomeruli werden gleiche Rezeptortypen auf dieselben Mitralzellen verschaltet, sodass sich ein chemotopes Verteilungsmuster im Bulbus olfactorius ergibt (Müller et al., 2005; Speckmann et al., 2013).

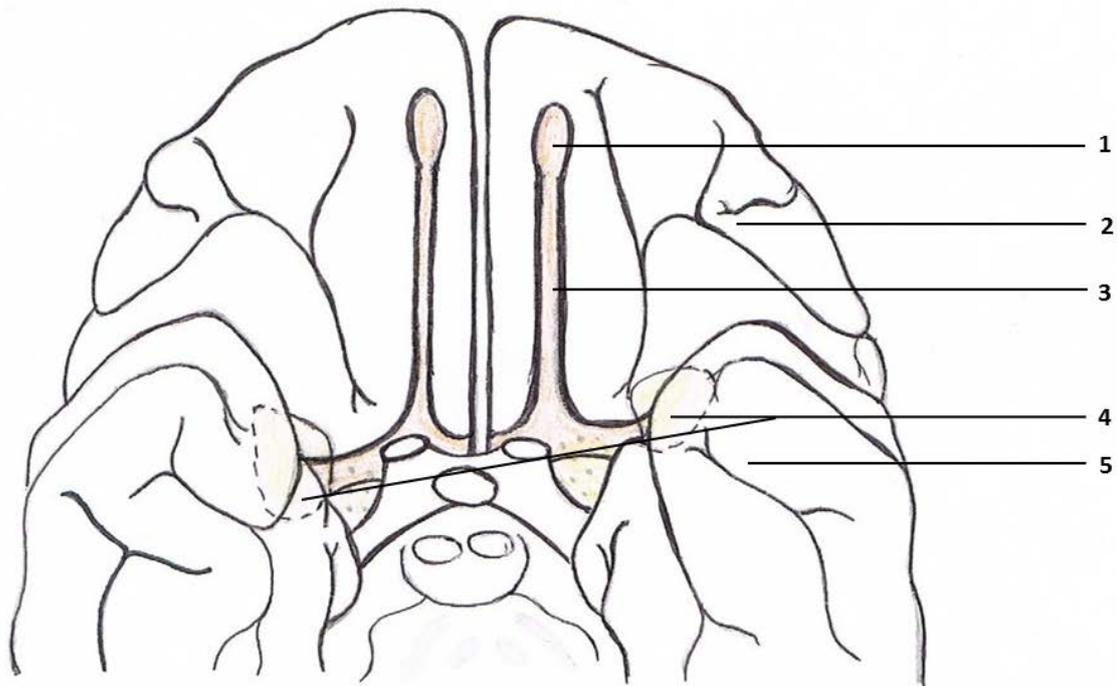


Abbildung 3: Vordere Gehirnhälfte von kaudal.

Ansicht auf den Frontal- und Temporallappen des Gehirns von kaudal mit hervorgehobenen olfaktorischen Strukturen (1: Bulbus olfactorius, 2: Frontallappen, 3: Tractus olfactorius, 4: präpiriformer Cortex, 5: Temporallappen).

Die Axone der Mitral- und Büschelzellen verlassen den Bulbus olfactorius als Tractus olfactorius, der sogenannte Riechtrakt. Als mögliche Umschaltstation für die Axone der Mitralzellen liegt in seinem Verlauf der Nucleus olfactorius anterior, von welchem aus Interneurone über die Commissura anterior zum Bulbus der Gegenseite ziehen und dort einen Teil der hemmenden Einflüsse auf die Mitralzellen bilden. Der Tractus olfactorius hat im Wesentlichen folgenden Zielgebiete (sekundäre olfaktorische Strukturen), den Nucleus olfactorius (s.o.), piriformer Cortex (Übergang vom Frontal- zum Temporallappen), Mandelkernkomplex (Amygdala, caudal und lateral des piriformen Cortex), entorhinaler Cortex (medialer Temporallappen) (Witt and Hansen, 2009). Von diesen Zentren werden die Reize in tertiäre Riechzentren weitergeleitet. Die Inselrinde, ein neokortikales Areal, stellt das olfaktorische Integrationszentrum mit anderen Modalitäten, z.B. Schmecken, dar. Der wichtigste und flächenmäßig größte Projektionsort sekundär olfaktorischer Strukturen (d.h. piriformer Cortex, Amygdala, entorhinaler Cortex) ist der orbitofrontale Cortex. Dieser kann durch enge Beziehungen zu angrenzenden Assoziationsarealen anderer sensorischer Qualitäten den wahrgenommenen Geruch mit anderen Sinnesmodalitäten integrieren

(Albrecht and Wiesmann, 2006). Er erhält zusätzlich Projektionen aus limbischen Arealen, wie der Amygdala oder dem Hippocampus und außerdem dem Thalamus, welche unter anderem für Emotionalität und Gedächtnisprozesse zuständig sind (Albrecht and Wiesmann, 2006; Witt and Hansen, 2009).

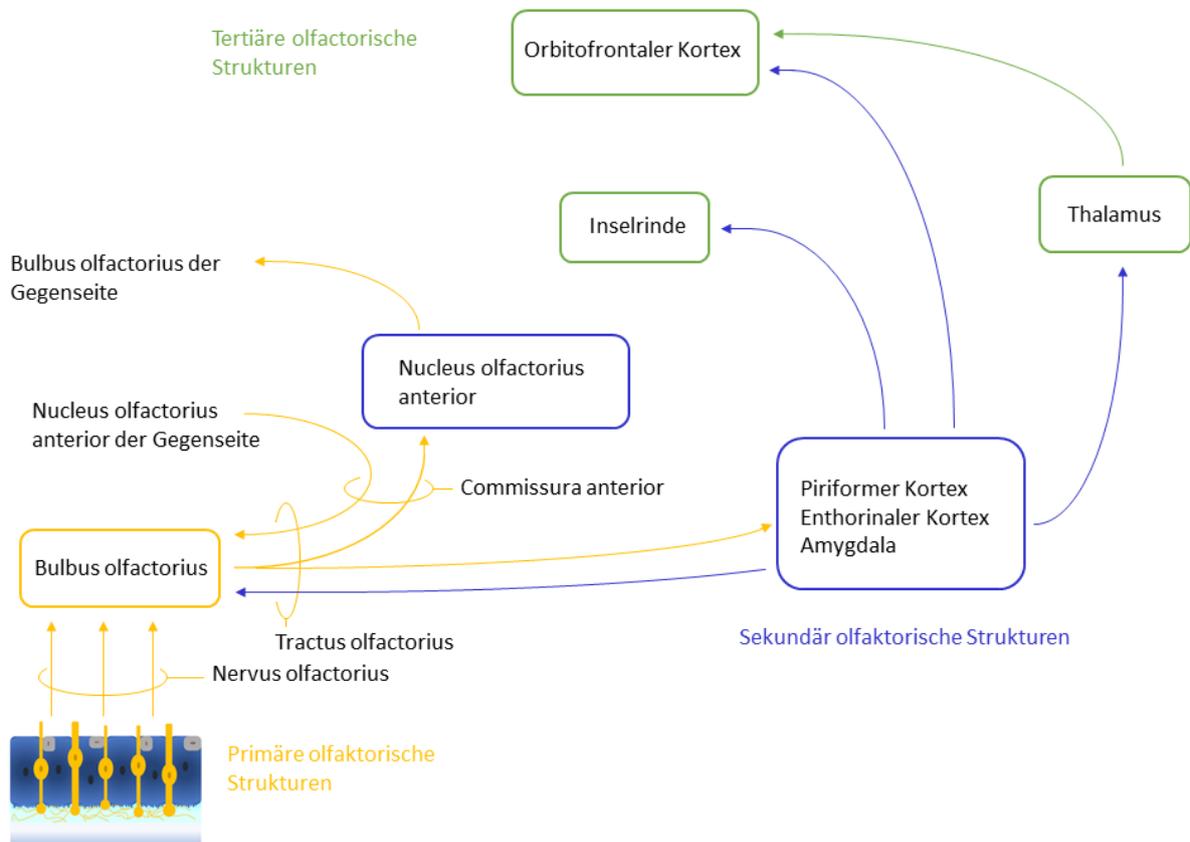


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Riechbahn.

Dargestellt ist die Verarbeitung von Geruchsreizen von den primär olfaktorischen Strukturen (gelb), über die sekundär olfaktorischen Strukturen (blau) bis hin zur Integration in den tertiären olfaktorischen Strukturen (grün) (modifiziert nach Baur 2010).

Die Projektionen zu und innerhalb der oben genannten Kortexareale sind sehr komplex und eine Grundlage für die durch Gerüche hervorgerufenen Einflüsse auf Verhalten, Emotionen und Erinnerungen (Albrecht and Wiesmann, 2006).

1.3 Diagnostische Verfahren zur Beurteilung des Riechvermögens

Die Untersuchung des Riechvermögens ist besonders für die Diagnostik und die Verlaufskontrolle von quantitativen Riechstörungen, wie der Hyposmie oder Anosmie, wichtig. Durch die Untersuchung des Riechvermögens können Neurodegenerative Erkrankungen früh erkannt werden, wie zum Beispiel die Parkinson- Syndrome (Doty et al., 1988; Haehner et al., 2011). Bei Kindern kann durch die Untersuchung des Geruchsinns, beispielsweise nach Auftreten eines Schädel-Hirn-Traumas, eine quantitative Geruchsstörung festgestellt werden (Schriever et al., 2014c; Bakker et al., 2016). Es dient aber auch der Verlaufskontrolle von Personen mit einer Riechstörung, die ein Riechtraining durchführen (Poletti et al., 2017).

Zur Untersuchung und Einschätzung des Riechvermögens werden in der klinischen Diagnostik vorwiegend psychophysische Testverfahren eingesetzt. Diese sind kostengünstig und einfach durchführbar. Es werden häufig Geruchsidentifikationstests verwendet (z.B. „University of Pennsylvania Smell Identification Test“ (UPSIT)), es kommen aber auch Diskriminations- und Riechschwellentests in Kombination mit der Identifikation zur Anwendung (z.B. „Sniffin‘ Sticks“) (Doty et al., 1984c; Hummel et al., 1997). Hierbei sind die Testergebnisse von der Mitarbeit und dem Verständnis des Probanden abhängig.

Um das Riechvermögen objektiv beurteilen zu können kommen eine Reihe von elektrophysiologischen und bildgebenden Testverfahren zum Einsatz. Diese sind eine gute Alternative für Probanden mit eingeschränktem Verständnis, geringer Konzentration oder Motivation (z.B. Kinder, demente Personen oder Simulanten). Zu diesen Testverfahren gehören unter anderem OEPs (Kobal and Hummel, 1988; Murphy et al., 1994; Pause and Krauel, 2000), die Ableitung von Elektroolfaktogrammen (EOG) (Lapid et al., 2011), funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) (Yousem et al., 1999; Ferdon and Murphy, 2003), Positronenemissionstomographie (PET) (Zald and Pardo, 2000) oder die Magnetoenzephalographie (MEG)(Kobal and Kettenmann, 2000).

1.3.1 Psychophysische Testverfahren und Anwendung bei Kindern

Grundlage der psychophysischen Riechtestung ist die Reaktion des Probanden auf einen olfaktorischen Reiz (Müller et al., 2005). Die Anforderungen an einen solchen Test sind eine hohe Validität und hohe Reliabilität bei der Unterscheidung von Normosmikern, Hyposmikern und Anosmikern sowie die Vergleichbarkeit mit Ergebnissen anderer Testverfahren (Müller et al., 2005; Nikolaus, 2009). Außerdem sollten diese Testverfahren kosten- und

benutzerfreundlich sein. Die Validierung und Standardisierung von Riechtests erfolgt an sehr großen Probandenkollektiven (Nikolaus, 2009). Aus den erhobenen Daten werden Normwerte für das Geschlecht und die Altersgruppen erstellt um dann das Riechvermögen des Einzelnen einschätzen zu können (Nikolaus, 2009).

Zu den am besten validierten Tests zur Evaluierung des Riechvermögens im Englischsprachigen Raum gehören der UPSIT (Doty et al., 1984b), eine modifizierte Variante des UPSIT, der „12-Item Cross-Cultural Smell Identification Test“ (CC-SIT) (Doty et al., 1996) und der Test des „Connecticut Chemosensory Clinical Research Centers“ (CCCRC-Test) (Cain et al., 1988). Der im deutschen Sprachraum meist angewendete Test zur Evaluierung des Riechvermögens ist der „Sniffin‘ Sticks“ Test (SST) (Hummel et al., 1997, 2007b).

Die Darbietungsform der Duftreize dieser Tests ist variabel. So sind beim „UPSIT“ und beim „CC-SIT“ mikroverkapselte Duftstoffe auf ein Papier aufgebracht. Der Anwender muss zum Riechen die Felder auf denen die mikroverkapselten Duftstoffe aufgebracht sind frei kratzen und kann dann daran riechen (Doty et al., 1984c, 1996). Im Gegensatz zu dieser Präsentationsform sind bei dem „SST“ normale Filtzstifthüllen mit einem Duftstoff befüllt. Nimmt man die Kappe ab wird der Duft freigesetzt (für Details siehe 2.3.1) (Hummel et al., 1997, 2007b).

Obwohl diese Testverfahren überwiegend bei Erwachsenen validiert sind, werden sie immer wieder für die Untersuchung des Riechvermögens bei Kindern angewandt (Doty et al., 1984a; Hummel et al., 2007b; Sorokowska et al., 2015). Dabei fällt auf, dass Kinder bei der Testung schlechter abschneiden als Erwachsene. Die Punktzahl verbessert sich jedoch mit dem Älterwerden der Kinder. Es wird angenommen, dass das scheinbar schlechtere Riechvermögen mit den kognitiven Fähigkeiten und der geringen Aufmerksamkeitsspanne der Kinder im Zusammenhang steht (Sorokowska et al., 2015; Gellrich et al., 2017). Werden hingegen Testverfahren angewandt, welche unabhängig von kognitiven Fähigkeiten sind, so scheinen sowohl Kinder als auch Erwachsene gleiche Punktzahlen erreichen zu können (Frank et al., 2004). Einer dieser Test ist der „Sniff‘ Magnitude Test“ (Frank et al., 2003). Bei diesem Test wird die reflex-artige Verminderung der Einatemtiefe gemessen, wenn an einem übel riechenden Duft geschnüffelt wird (Frank et al., 2003).

Die Entwicklung von Tests für die Evaluierung des Geruchsvermögens bei Kindern konzentrieren sich auf die Testung der Geruchsidentifikation. In den letzten Jahren wurde versucht vorhandene Tests für Kinder anzupassen. Die „Sniffin‘ Kids“ wurden als eine verkürzte Form des Geruchsidentifikationstestes aus den „SST“ entwickelt. Dabei wurde außerdem darauf geachtet, dass Gerüche verwendet werden, welche von den Kindern erkannt werden (Schriever et al., 2014b; Gellrich et al., 2017). Mit einer veränderten Form der „Sniffin‘ Kids“, in der anstatt der 14 ausgewählten Gerüche für Kinder nur 11 angewendet

wurden, sollte die interkulturelle Anwendbarkeit überprüft wurden. Die Testung erfolgte in den USA und hat gezeigt, dass Kinder in den USA schlechter abschnitten als Kinder in Deutschland (Cavazzana et al., 2017). Des Weiteren gibt es die „Scratch and Sniff Cards“, ein Geruchsidentifikationstest mit mikroverkapselten Gerüchen auf Karten (Richman et al., 1992). Das „Smell-wheel“, ein Spielzeug ähnlicher Identifikationstest (Cameron and Doty, 2013) und die „NIH-Toolbox“ ebenfalls ein Test im „scratch and sniff“ Format (Dalton et al., 2013).

Obwohl es viele Ideen gab gewöhnliche Geruchsidentifikationstest umzuwandeln, damit diese für Kinder anwendbar sind, schneiden die Jüngsten, im Alter ab 3 Jahren, trotzdem schlechter ab als die Älteren (Richman et al., 1992; Cameron and Doty, 2013; Dalton et al., 2013; Schriever et al., 2014b). Die elektrophysiologische Untersuchung bei Kindern könnte eine Möglichkeit sein, um eine objektive Einschätzung des Geruchsinns zu erhalten, da diese sehr niedrige Anforderungen an kognitive Fähigkeiten hat.

1.3.2 Elektrophysiologische Testverfahren

Elektrophysiologische Messmethoden gelangen durch die niedrigeren Anforderungen an kognitive Fähigkeiten zu einer objektiven Einschätzung des Riechvermögens. Bei diesen Untersuchungsmethoden werden vor allem die Gehirnaktivität, im Zusammenhang mit dem Riechprozess untersucht. Besonders bei Kindern und Jugendlichen können so Informationen über die Aktivität des Gehirns in Zusammenhang mit der Riechfunktion und deren Entwicklung gewonnen werden (Hummel et al., 2007a).

Bei Erwachsenen finden zur Untersuchung der neuronalen Aktivität, der olfaktorischen Verarbeitung, hauptsächlich OEPs (Kobal and Hummel, 1988; Murphy et al., 1994; Pause and Krauel, 2000) und das fMRT (Yousem et al., 1999; Ferdon and Murphy, 2003), als Untersuchungsmethode in Studien, Anwendung. Zusätzlich können die PET (Zald and Pardo, 2000), die MEG (Kobal and Kettenmann, 2000) oder das EOG (Lapid et al., 2011) zur Untersuchung herangezogen werden.

In der klinischen Anwendung hat sich die Aufnahme von OEPs als Routineuntersuchung, durch geringe Kosten und eine relativ schnelle Durchführung, durchgesetzt (Hummel et al., 2007a). Zur genaueren Beschreibung von OEPs siehe 1.3.2.1.

1.3.2.1 Olfaktorisch Evozierte Potentiale und deren Anwendung bei Kindern

OEPs sind elektrische Antworten des Gehirns auf Geruchsreize. Erstmals wurden OEPs durch Finkenzeller 1965 registriert (Finkenzeller, 1966). Die Grundlage für das von Finkenzeller verwendete Olfaktometer war die Vorarbeit von Elsberg 1935 sowie von Fortunato und Niccolini 1949 (Kobal and Plattig, 1978). Nach Finkenzeller entwickelten Allison und Goff 1967 die Methode zur Aufnahme von OEPs weiter und erhielten als Ergebnis ihrer Arbeit ein Signal mit hauptsächlich positiven Potentialen (Allison and Goff, 1967). Wenige Jahre später konstruierten Giesen und Mrowinski 1970 für die klinische Anwendung ein Olfaktometer mit Puls-Flussmethode, um den Reiz besser steuern zu können (Giesen and Mrowinski, 1970). Hierbei wurde versucht, ähnlich der Flussmethode, den Duftreiz in einen reizfreien Trägerstrom einzubetten, um eine kontinuierliche Strömung aufrecht zu erhalten.

OEP (engl. Event-related Potential, ERP) sind aus dem EEG abgeleitet polyphasische Signale auf ein spezifisches Ereignis und entstehen aufgrund der Aktivierung von kortikalen Neuronen, welche ein elektromagnetisches Feld aufbauen (Picton, 1988; Evans et al., 1993). Eine besondere Form von ERPs sind Chemosensorisch evozierte Potentiale (CSERPs), diese können auf einen Reiz abgeleitet werden, der sowohl olfaktorisch als auch trigeminale Eigenschaften hat (Kobal and Hummel, 1988). OEPs hingegen sind Signale, welche mit einem reinen Olfaktoriusreizstoff, wie zum Beispiel Schwefelwasserstoff (H₂S), Vanillin oder Phenylethylalkohol (PEA), abgeleitet werden. Diese haben eine sehr geringe bzw. gar keine trigeminale Reizkomponente (Hummel et al., 2000). Die abgeleiteten Signale enthalten bis hierhin aber nicht nur die zu untersuchenden Komponenten, wie z.B. das OEP, sondern enthalten auch ein Grundrauschen, die normale neuronale Aktivität des Gehirns. Die Darstellung eines OEPs aus dem EEG gelingt durch wiederholte Aufnahmen, mit einer Mindestanzahl von acht Aufnahmen (Kobal, 1981). Die nicht synchronisierte Grundaktivität des Gehirns neutralisiert sich und die OEPs addieren sich auf. Für ein gut darstellbares Signal ist es wichtig, möglichst viele Neurone zu aktivieren bzw. zu synchronisieren (Hummel and Kobal, 2001). Voraussetzungen dafür sind zum einen ein schneller Stimulusanstieg (ca. 20 ms), geöffnete Augen, da sich bei Augenschluss EEG-Veränderungen ergeben, und die Stabilisierung der Vigilanz des Probanden, z.B. durch Aufgaben wie ein einfaches Computerspiel.

OEPs weisen eine typische Form auf und werden nach festgelegter Nomenklatur bezeichnet. Nach internationalen Richtlinien werden Potentialgipfel mit negativer Polarität nach oben und Potentialgipfel mit positiver Polarität nach unten dargestellt (Buchner, 2014). Positive Signalgipfel werden mit einem „P“ bezeichnet, negative Signalgipfel mit einem „N“ (Hummel

et al., 2000). Die Gipfel werden nach dem zeitlichen Auftreten im Signal durchnummeriert (siehe Abbildung 5). Der erste negative Gipfel wird folglich als N1 (Negativität 1) bezeichnet und tritt typischer Weise nach etwa 200 bis 700 ms auf. Diesem folgt ein später positiver Komplex (engl. „late positivity“, LP) nach etwa 300 bis 800 ms. Einige Studien unterteilen den späten positiven Komplex in eine Signalkomponente P2 und eine Signalkomponente P3 (Pause and Krauel, 2000).

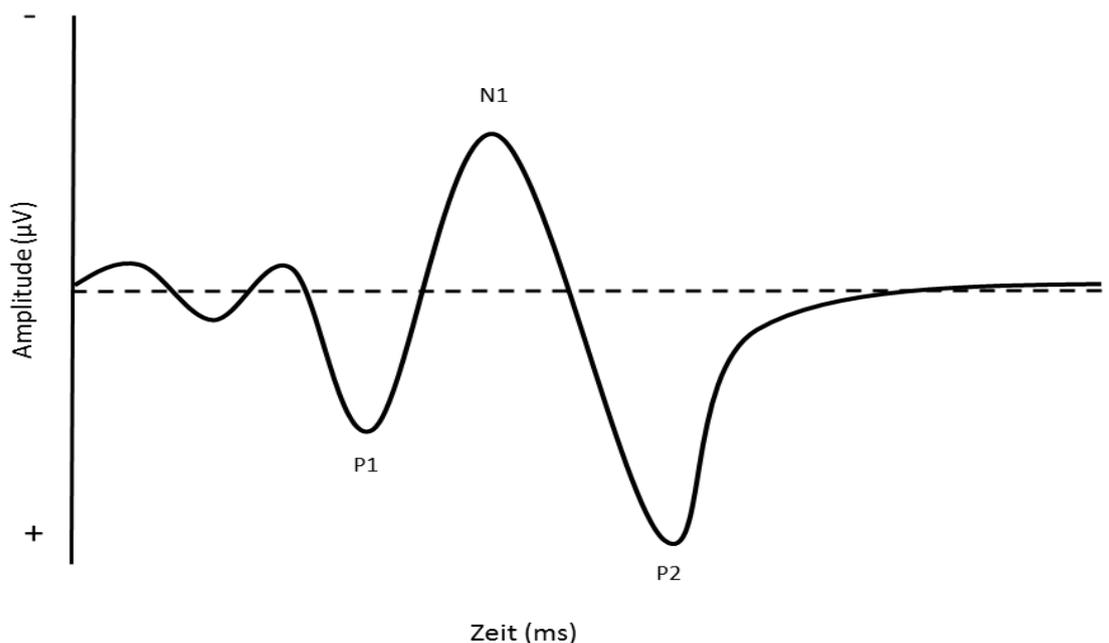


Abbildung 5: Schematische Darstellung eines Olfaktorisch Evozierten Potentials

Die oben beschriebenen Signalkomponenten lassen sich in exogene und endogene Komponenten unterteilen (Picton, 1988; Pause et al., 1996b). Dabei wird dem Signalanteil N1 eine exogene Komponente zugeschrieben. Das bedeutet, dass sich v.a. die Amplitude des Signalanteils durch äußere Einflüsse, wie z.B. die Intensität oder die Reizlänge des Stimulus, verändern lässt. P2 als Teil des LP spiegelt die endogene Reizverarbeitung wieder und wird dabei durch die Vertrautheit, Verfassung des Probanden und die Motivation beeinflusst (Pause et al., 1996b).

Die Aufnahme von OEPs erfolgt standardisiert nach dem 10/20 System. Dabei werden mindestens drei Oberflächenelektroden Fz, Cz und Pz auf die gesäuberte Kopfhaut aufgebracht und gegen eine pseudounipolare Referenzelektrode, zum Beispiel A1/2 an jeweils einem Ohr läppchen, abgeleitet (siehe Abbildung 6) (Klem et al., 1999; Hummel et al.,

2000). Die Überwachung der Zinkeraktivität der Augen erfolgt mit Hilfe einer Elektrode (Fp2) oberhalb des rechten Auges. Aus Sicherheitsgründen wird der Proband während der Messung zusätzlich an eine Erdelektrode angeschlossen.

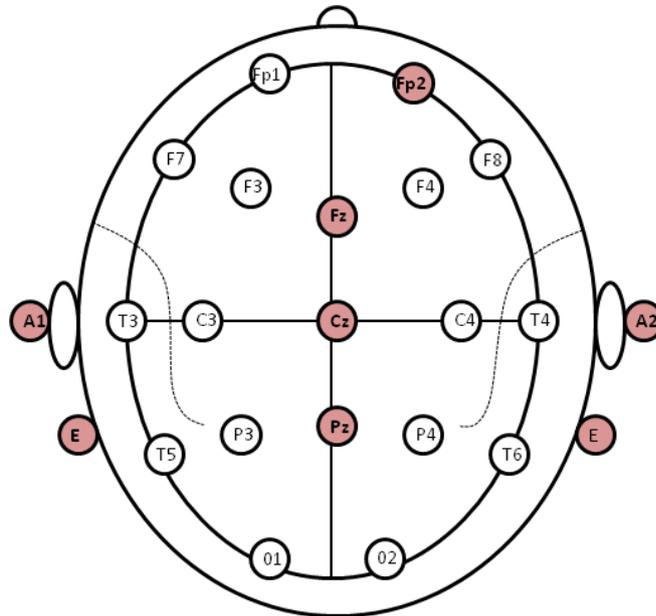


Abbildung 6: Elektrodenpositionen nach dem 10/20 System.

Rot markierte Elektroden wurden zur Ableitung der OEPs verwendet (Fz= frontale Ableitung, Cz= zentrale Ableitung, Pz= parietale Ableitung, Fp2= Ableitung oberhalb des rechten Auges, A1/A2= zusammenschaltete pseudounipolare Elektroden an den Ohrläppchen, E= Erdelektroden).

Die Aufnahme von Ereignis korrelierten Potentialen (EKP) ist für andere Sinnesmodalitäten bereits eine Routineuntersuchung bei Kindern. Akustisch evozierte Potentiale (AEP) bei Kindern sind gut untersucht (für eine Übersicht siehe Silva et al., 2017). Die Entwicklung der zentralen Hörverarbeitung wurde von Geburt an über zwei Dekaden in vielen Studien mit akustisch evozierten Potentialen intensiv erforscht (Silva et al., 2017).

Dustman und Beck (1969) und Fenwick und Kollegen (1981) haben visuell evozierte Potentiale (VEP) untersucht (Dustman and Beck, 1969; Fenwick et al., 1981). Dustman und Beck haben VEPs bei Probanden im Alter von null bis 80 Jahren mittels eines Lichtblitzes untersucht (Dustman and Beck, 1969), dabei konnten sie beobachten, dass es in der Entwicklung von zwei Monaten bis zum Alter von 15 bis 16 Jahren Veränderungen der Signalkomponenten gab. So haben sich zum Beispiel die Amplituden während dieser Zeit verändert und stabilisierten sich bei den 15 bis 16 jährigen (Dustman and Beck, 1969). Fenwick und Kollegen (1981) haben VEPs bei Kindern im Alter von sechs bis elf Jahren,

mittels sich verändernder Mustertafeln, untersucht (Fenwick et al., 1981). Es wurde unter anderem eine größere Amplitude der Signalanteile bei den acht bis neun jährigen beachtet als bei den älteren Kindern (Fenwick et al., 1981).

Im Bereich der Riechforschung haben sich nur wenige Studien mit der Ableitung von OEPs bei Kindern und Jugendlichen beschäftigt (Sandford et al., 2006; Hummel et al., 2007a; Chopra et al., 2008; Qu et al., 2010). Hummel und Kollegen (2007) haben die Möglichkeit der Ableitung von OEPs bei Kindern von drei bis zehn Jahren untersucht. Das Probandenkollektiv war mit zwölf Kindern dabei sehr klein. Dennoch konnten Unterschiede der Signal-Latenzen zwischen jüngeren und älteren Kindern festgestellt werden (Hummel et al., 2007a). Chopra und Kollegen (2008) haben OEPs bei Kindern und Jugendlichen als Antwort auf unangenehme Gerüche, welche teilweise Bestandteil von Körpergerüchen sind, vor und nach der Pubertät untersucht (Chopra et al., 2008).

Zwei weitere Studien befassten sich mit der Ableitung von OEPs bei Kindern mit beeinträchtigtem Riechvermögen. In diesen Studien sind zum einen keine Details zu den OEP Komponenten bekannt (Sandford et al., 2006) zum anderen fehlen Informationen zum untersuchten Probandenkollektiv (Qu et al., 2010).

Die Ableitung von evozierten Potentialen ist bei Kindern und Jugendlichen für die Sinnesmodalitäten Hören und Sehen durch viele Studien gut untersucht (Dustman and Beck, 1969; Fenwick et al., 1981; Silva et al., 2017). Im Bereich Riechen gibt es wenige Studien, diese liefern nicht genügend Informationen über die Gehirnaktivierung und die Entwicklung des Gehirns in Verbindung mit dem Riechprozess.

1.4 Zielstellung

Das Riechvermögen von Kindern und Jugendlichen ist mit Hilfe von psychophysischen Testverfahren gut untersucht (Hummel et al., 2007a; Sorokowska et al., 2015; Gellrich et al., 2017), dabei wurden in den letzten Jahren Testverfahren eigens für Kinder entwickelt (Richman et al., 1992; Cameron and Doty, 2013; Dalton et al., 2013; Schriever et al., 2014b). Diese Testverfahren sind allerdings maßgeblich von den kognitiven Fähigkeiten und der Motivation der Kinder abhängig. Zur objektiven Evaluierung des Riechvermögens und um Informationen über die Riechverarbeitung und -entwicklung zu erhalten, wurde dies in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe der Ableitung von OEPs untersucht.

OEPs bei Kindern und Jugendlichen sind nur wenig untersucht. Eine Studie hat OEPs bei Kindern ab drei Jahren abgeleitet (Hummel et al., 2007a). Die Studie von Hummel und

Kollegen (2007) hatte nur eine sehr kleine Gruppe von zwölf Kindern einbezogen, sodass eventuell eine Selektivität in Bezug auf die Durchführbarkeit der Untersuchung vorliegt (Hummel et al., 2007a). Chopra und Kollegen (2008) untersuchten OEPs bei Kindern und Jugendlichen ab neun Jahren auf sehr spezifische Geruchsreize (Chopra et al., 2008). Ziel dieser Studie war es daher OEPs bei einem großen Probandenkollektiv zu untersuchen. Des Weiteren wurde versucht einen Versuchsaufbau zu gestalten, mit dem auch Kinder ab drei Jahren problemlos untersucht werden können.

Die Anwendbarkeit von evozierten Potentialen ist bei anderen Sinnesmodalitäten gut untersucht und wird teilweise als Routineuntersuchung angewendet (Fenwick et al., 1981; Silva et al., 2017). Im Bereich der AEP gibt es viele detaillierte Studien, welche AEPs bereits bei Neugeborenen abgeleitet haben. Die Entwicklung der Potentiale des akustischen Systems ist dadurch besonders gut untersucht (für einen Überblick siehe Silva et al., 2017). Wir nahmen an, dass sich die neuronale Verarbeitung im Laufe der kindlichen und jugendlichen Entwicklung voneinander unterscheiden wird. Mit der vorliegenden Arbeit sollten ebenfalls die Entwicklung der Geruchsverarbeitung untersucht werden. Dabei lag der Fokus auf Unterschiede zwischen den Altersgruppen sowie zwischen den Geschlechtern.

2 Material und Methoden

2.1 Teilnehmer und Teilnahme Kriterien

Die Durchführung der Studie erfolgte gemäß der Deklaration von Helsinki der „World Medical Association“ und wurde entsprechend dieser durch die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität Dresden genehmigt. Alle Studienteilnehmer und deren Sorgeberechtigten wurden im Vorfeld ausführlich über den Studienablauf und die anzuwendenden Testverfahren aufgeklärt. Das Einverständnis der Teilnehmer und die Einwilligung der Erziehungsberechtigten zur Studienteilnahme wurden schriftlich festgehalten. Den Probanden wurde die Anonymisierung und die vertrauliche Behandlung der erhobenen Studiendaten zugesichert. Die Teilnahme konnte jederzeit von den Teilnehmern oder deren Erziehungsberechtigten ohne Angabe von Gründen abgebrochen werden.

Zur Teilnahme mussten bestimmte Grundvoraussetzungen von den Studienteilnehmern erfüllt werden (siehe Tabelle 1).

Die Studienteilnehmer wurden zum großen Teil durch Aushänge an der Medizinischen Fakultät Carl-Gustav-Carus sowie dem Universitätsklinikum rekrutiert. Zusätzlich wurde auf den Stationen der Klinik und Poliklinik der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde und den Stationen der Neuropädiatrie, der Gastroenterologie der Kinderklinik sowie der Kinderchirurgie nach Teilnehmern gesucht. Bei Teilnehmern von den Stationen wurde streng darauf geachtet, dass der Grund des stationären Aufenthaltes nicht mit einer Beeinflussung des Riechvermögens oder des Allgemeinbefindens einherging. Gründe für den stationären Aufenthalt waren zum Beispiel das Einsetzen von Paukenröhrchen und die Blinddarmentfernung bei einer Appendizites. Darüber hinaus wurden Kinder und Jugendliche aus umliegenden Kindergärten und Schulen rekrutiert.

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien zur Teilnahme an der Studie.

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> - Alter 2 bis 18 Jahre - normales Riechvermögen 	<ul style="list-style-type: none"> - wesentliche gesundheitliche Beeinträchtigungen (z.B. Niereninsuffizienz, Diabetes mellitus), die mit Störungen der Riechfunktion einhergehen können - akute oder ausgeprägte chronische Entzündung der Nase und der Nasennebenhöhlen - neurologische Erkrankungen (z.B. Epilepsie, erlebtes Schädelhirntrauma) - Schwangerschaft - besondere Empfindlichkeit der Nasenschleimhaut

An der Studie nahmen insgesamt 100 Probanden, 48 Mädchen und 52 Jungen, im Alter von zwei bis 18 Jahren teil. Aufgrund unterschiedlicher Hindernisse bei der Durchführung der Studie wurden die Kinder unter sechs Jahren in die Auswertung nicht mit einbezogen. Die Durchführung der Untersuchungen mit Kleinkindern und Kindern unter sechs Jahren war nicht möglich, da die Dauer der Untersuchung zu lang war oder die Untersuchung nicht toleriert wurde. Im Verlauf der Untersuchungen und Auswertung der Studie wurden weitere Eingrenzungen festgelegt, sodass die Altersgrenzen auf sechs und 17 Jahre verschoben wurden. Der Ausschluss der 18-Jährigen erfolgte, weil diese die Volljährigkeit erreicht haben und mit den Methoden der Erwachsenen getestet werden. Zudem wurden zwei Probanden ausgeschlossen, weil diese in der psychophysischen Riechtestung hyposmisch waren (siehe Kapitel 2.3). Damit wurden 81 Probanden eingeschlossen, 45 weibliche und 36 männliche. Die Probanden wurden entsprechend ihres Alters in zwei Gruppen unterteilt: Gruppe A Präpubertäre (sechs bis elf Jahre) und Gruppe B Pubertäre und Nachpubertäre (12 bis 17 Jahre) (Chopra et al., 2008). Gruppe A (Präpubertäre) umfasst 19 Mädchen und 18 Jungen (Durchschnittsalter $8,6 \pm 1,67$ Jahre) und, Gruppe B (Pubertäre) 26 Mädchen und 18 Jungen (Durchschnittsalter: $14,4 \pm 1,95$ Jahre). Die Einteilung der Gruppen erfolgte aus dem Wissen, dass die Pubertät bei Mädchen mit der Menarche um das zwölfte Lebensjahr (Whincup et

al., 2001) und bei Jungen mit dem Stadium zwei des genitalen Wachstums (Villarreal et al., 1989) im Alter von zwölf Jahren beginnt.

2.2 Studienablauf/-design

Die Studie wurde in einen Studienteil A und einen Studienteil B untergliedert. Beide Studienteile wurden innerhalb eines Termins durchgeführt.

Studienteil A beinhaltete die psychophysische Testung der Riechfunktion mit Hilfe des „Sniffin‘ Kids“ Identifikationstests (Schriever et al., 2014b). Sofern die Studienteilnehmer selbst in der Lage waren, wurde vor der Testung eine ausführliche Anamnese erhoben. In den restlichen Fällen wurde das Anamnesegespräch mit den Sorgeberechtigten geführt. Die Testung wurde durchgeführt, um die Riechfunktion objektiv einzuordnen und eine eventuelle Anosmie oder Hyposmie festzustellen. Die Dauer der Untersuchung lag je nach kognitiven Fähigkeiten und Alter des Probanden zwischen 15 bis 30 Minuten. Konnte im Studienteil A eine Normosmie nachgewiesen werden, folgte im Anschluss der Studienteil B, die elektrophysiologische Untersuchung.

Ziel war es OEPs abzuleiten, sowie deren Untersuchung mit Fokus auf Unterschiede zwischen den Altersgruppen und dem Geschlecht. Es wurde ein definierter Duftreiz gesetzt und dabei ein EEG abgeleitet. Im EEG stellt sich die Verarbeitung des Duftreizes in Form einer Potentialänderung dar. Die elektrophysiologische Untersuchung olfaktorisch evozierter Potentiale wurde an einem speziellen Gerät, dem OM2s Olfaktometer von Burghart (Burghart Messtechnik GmbH, Wedel), in einem separaten Untersuchungsraum durchgeführt. Hierfür war eine gründliche Vorbereitung der Probanden notwendig. Vor Messungsbeginn wurden die Probanden ausführlich eingewiesen und mit der Untersuchungssituation vertraut gemacht. Dauer der Untersuchung, eingeschlossen der Vorbereitung, betrug ca. eine halbe Stunde.

Die Gesamtuntersuchungsdauer lag im Durchschnitt bei einer Stunde. Der Großteil der Probanden war in der Lage die Untersuchung konzentriert durchzuführen. Je jünger die Probanden waren, desto mehr Geduld und Zeit musste aufgebracht werden. Für die erfolgreiche Teilnahme erhielten die Probanden eine Aufwandsentschädigung von zehn Euro.

2.3 Psychophysische Untersuchung

Zur Psychophysischen Testung, und damit der Einschätzung der Riechfunktion, kamen die sogenannten „Sniffin‘ Sticks“ (Hummel et al., 1997) zur Verwendung. Einbezogen werden sowohl verbale (Identifikation) als auch nicht verbale, d.h. rein olfaktorische (Schwellentest, Diskrimination) Tests. Zur objektiven Einschätzung der Riechfunktion der Kinder und Jugendlichen wurde nur der Identifikationstest in verkürzter Form (Schriever et al., 2014b) verwendet.

2.3.1 Untersuchungsmethode „Sniffin‘ Sticks“- Identifikationstest

Die „Sniffin‘ Sticks“ sind Filzstifthüllen die anstelle einer Farblösung mit einer Duftstofflösung gefüllt sind (Hummel et al., 2007b). Für die Präsentation der Düfte wird die Kappe von den Stiften entfernt und der Stift etwa zwei Zentimeter unterhalb der Nase für ca. drei Sekunden hin und her bewegt. Der Proband wird zu diesem Zeitpunkt aufgefordert durch die Nase einzusatmen.

Der Identifikationstest erfolgt mit 16 alltäglichen Duftstoffen in überschwelliger Konzentration. Jeder Stift wird dem Probanden einzeln, in oben beschriebener Weise, präsentiert. Gleichzeitig wird dem Probanden eine Karte mit vier Antwortmöglichkeiten vorgelegt, aus welchen er die richtige Antwort auswählen soll. Sofern der Proband den richtigen Duft nicht benennen kann ist es möglich den Stift wiederholt zu präsentieren. Die Antworten werden notiert und die richtigen Antworten ausgezählt.

2.3.2 Modifizierte Form „Sniffin‘ Sticks“- 14 Stift Identifikationstest („Sniffin‘ Kids“)

Die unter 3.3.1 beschriebene Testung mit den „Sniffin‘ Sticks“ nimmt einige Zeit und Konzentration in Anspruch, ferner sind einige der Gerüche den meisten Kindern unbekannt. In Hinblick auf die Untersuchung von Kindern im Alter ab fünf Jahren wurde die Testung der Identifikation, durch den Ausschluss von den für Kinder unbekanntem Gerüchen, modifiziert, um die Anwendbarkeit des Testes zu verbessern (Schriever et al., 2014b).

Aus dem Identifikationstest mit 16 alltäglichen Gerüchen für Erwachsene wurden zwei Gerüche ausgeschlossen, die nach statistischer Berechnung von weniger als der Hälfte der Kinder erkannt wurden (Schriever et al., 2014b). Ausgeschlossen wurden die Gerüche „Grüner Apfel“ und „Terpentin“.

2.4 Elektrophysiologische Untersuchung

2.4.1 Das Olfaktometer

Die Untersuchung der Verarbeitung von olfaktorischen Reizen gelingt mit Hilfe von olfaktorisch evozierten Potentialen. Diese Untersuchungsmethode setzt bestimmte Bedingungen voraus, z.B. die alleinige Reizung der olfaktorischen Rezeptorneurone. Es muss gegeben sein, dass weder Mechano- noch Thermorezeptoren in der Nase gereizt werden (Kobal, 1981). Zudem muss der Reiz möglichst rechteckig und schnell sein (Hummel and Kobal, 2001). Das Interstimulusintervall (ISI) muss geruchsfrei sein und Umschaltvorgänge zwischen dem Reiz und reizfreien Intervallen müssen für den Probanden unmerklich ablaufen (Evans et al., 1993). Diese Bedingungen werden durch das Olfaktometer des Typs OM2s von Burghart, nach einem Prinzip von Kobal (Kobal, 1981), geschaffen.

Das Olfaktometer ist ein Gerät, welches nach den oben genannten Bedingungen zur Präsentation von Gerüchen verwendet wird. Das Gerät ermöglicht u.a., dass während der gesamten Zeit der Messung duftfreie Luft über ein Nasenstück in die Nase des Probanden strömt, die gereinigt, angewärmt und befeuchtet ist. Die Luft wird intranasal über eine Kanüle mit einem Durchmesser von etwa zwei bis drei Millimeter appliziert, dabei liegt die Kanüle etwa ein Zentimeter in der Nase des Probanden.

Damit keine Mechano- und Thermorezeptoren in der Nasenschleimhaut gereizt werden wird ein konstanter Luftstrom vom Olfaktometer erzeugt, indem zwei Luftströme zum Auslass des Olfaktometers strömen. Beide Luftströme haben dieselbe Flussrate (i), Temperatur und Luftfeuchtigkeit. Durch einen Kompressor (K) am Eingang des Olfaktometers wird die Luftströmung erzeugt. Die Luft wird in die verschiedenen Leitungen (C=Kontrolle, O=Duft, D=Verdünnung) abgegeben. In den Teflonschläuchen der verschiedenen Leitungen wird die Luft von Aktivkohlefiltern (A) gereinigt und von Massenflussreglern (R) gemessen und gegebenenfalls nachreguliert. Anschließend wird die Luft mit Hilfe von Waschflaschen, die mit destilliertem Wasser gefüllt sind, mit Wasserdampf gesättigt. Im gesamten System wird die Luft durch eine Luftheizung erwärmt. Sowohl die Waschflaschen als auch die Teflonschläuche sind von warmer Luft umgeben, damit kann die Luft in den Flaschen und Schläuchen angewärmt werden. So hat die Luft am Nasenstück eine Temperatur von 36,5°C und eine Luftfeuchte von 80%. Die Luft im Teflonschlauch O wurde mit Phenylethylalkohol (PEA) angereichert, welches in die zugehörige Waschflasche für diese Leitung gefüllt wurde. Die Luft, die durch diesen Schlauch strömt (O) wird mit der Verdünnung (D)

zusammengeleitet und bilden zusammen einen Auslassschengel. Durch das Zusammenführen dieser zwei Schläuche können verschiedene Duftstoffkonzentrationen eingestellt werden, wenn der Luftstromanteil der Verdünnung verändert wird (für eine schematische Darstellung zur Funktionsweise des Olfaktometers siehe Abbildung 7).

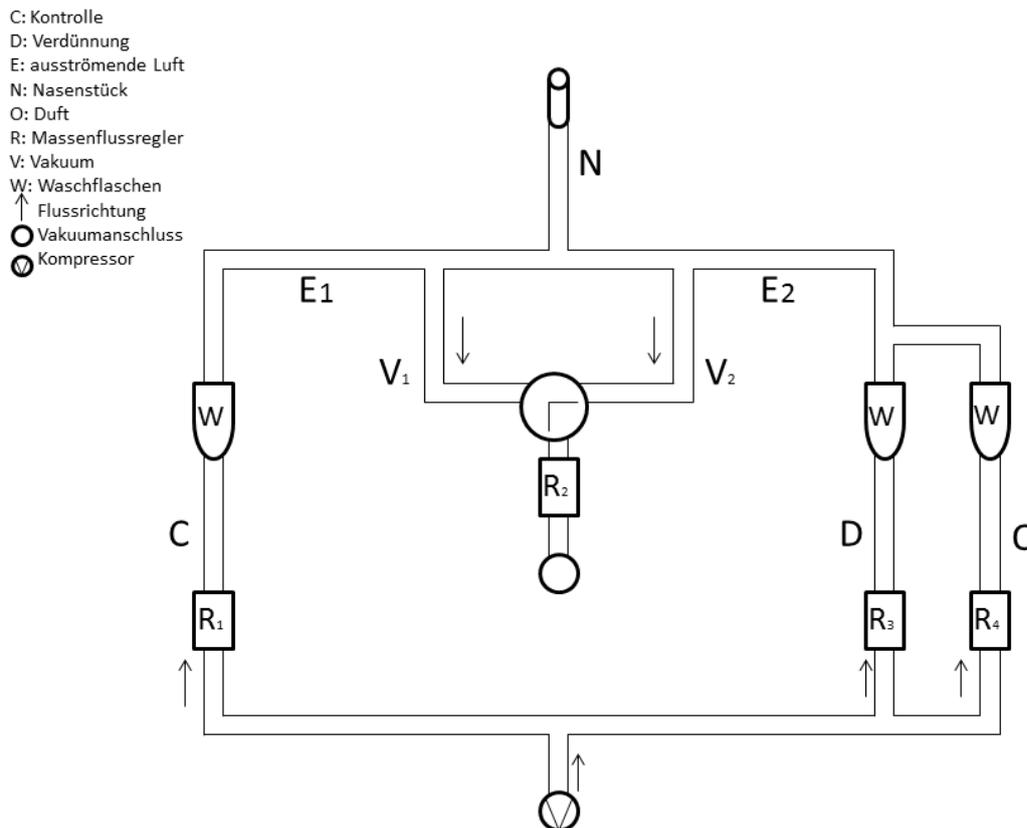


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Funktionsweise des Olfaktometers (modifiziert nach Hummel und Kobal 2001, In: Simon and Nicolelis, Methods in Chemosensory Research).

Die Luft die durch das Nasenstück in die Nase des Probanden gelangt kann aus zwei Schenkeln ausströmen, hier als E1 und E2 bezeichnet. Beide Luftströme die zum Auslass (Nasenstück) führen, sind wie folgt aufgeteilt. Luftstrom E1 beinhaltet den Kontrollfluss, duftfreie Luft die im ISI in die Nase des Probanden strömt. Der andere Luftstrom (E2) setzt sich aus dem Luftstrom mit Duftstoff und der Verdünnung zusammen. Für jeden Schenkel ist direkt vor dem Auslass zum Nasenstück ein Vakuum (V1 und V2) eingebaut. Während des ISI ist das Vakuum für den Schenkel E2 aktiv und saugt den kompletten Luftstrom aus diesem Schenkel ab. Damit gelangt der Kontrollluftstrom (E1) in die Nase des Probanden. Wird ein Reiz gesetzt so ist das Vakuum des Schenkels E1 aktiv und der Luftstrom mit dem

Duft und der Verdünnung gelangt in die Nase (siehe Abbildung 8). Somit gilt: $i_C = i_O + i_D$. Durch diese Methode ist es möglich zwischen beiden Luftströmen in weniger als 20 ms zu wechseln. Außerdem ist gewährleistet, dass der Luftstrom stets gleichmäßig und nicht unterbrochen ist.

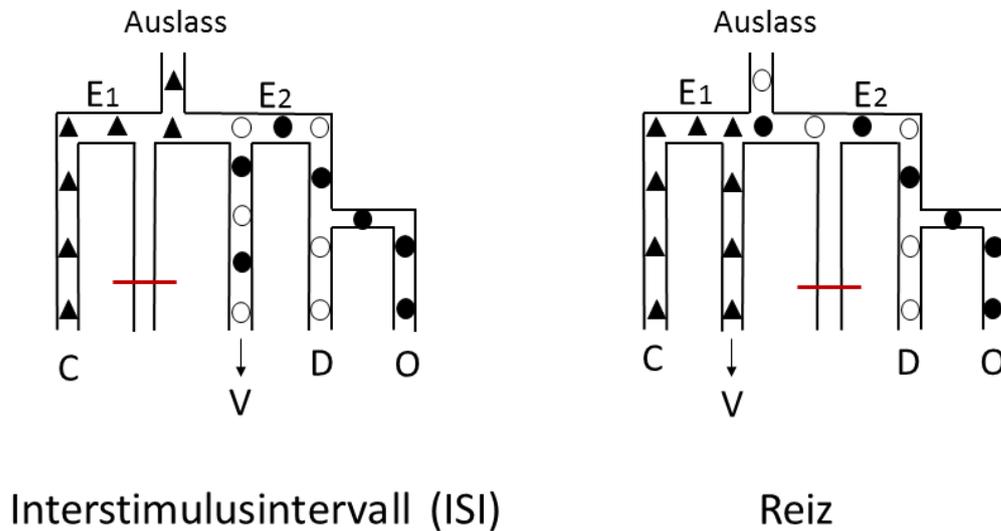


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Luftströme während der Reizpräsentation und des Interstimulusintervalls (ISI), modifiziert nach Hummel und Kobal 2001, In: Simon and Nicolelis, Methods in Chemosensory Research.

2.4.2 Ableitung und Aufzeichnung Olfaktorisch Evozierter Potentiale

Die Aufnahme der EEG-Signale auf die olfaktorisch gesetzten Reize wurden mit Hilfe eines 16-Kanal Verstärkers (SIR: Röttenbach, Germany) aufgezeichnet. Um zwischen den Probanden vergleichbare Daten zu gewinnen wurden bestimmte Aufnahmemodalitäten am Gerät eingestellt. Die Abtastfrequenz betrug 250 Hz und es wurde ein Band-pass Filter von 0,2-30 Hz eingesetzt. Die Aufnahmelänge betrug 1500 ms nach dem gesetzten Reiz sowie 500 ms vor dem gesetzten Reiz.

Gemessen wurde die elektrische Spannung auf der Kopfhaut mit Hilfe von Napfelektroden, aus Silber (Grass® Technologies, Astro-Med, Inc. Product Group, West Warwick, RI, USA) hergestellt wurden. Diese wurden mit einer selbsthaftenden Elektrodencreme (EC2™, Grass Instruments Division, Astro Med Inc., Warwick, RI, USA) auf der Kopfhaut des Probanden angebracht. Um die Leitungsfähigkeit zwischen Elektrode und Kopfhaut zu verbessern wurde

die Kopfhaut mit einer Waschpaste (Skin pure, Nihon Koden, Tokyo, Japan) gründlich gereinigt. Die Ableitung erfolgte standardisiert nach dem internationalen 10/20 System (Klem et al., 1999). Die Aufzeichnung wurde für vier Elektrodenpositionen vorgenommen: Fz, Cz, Pz und Fp2. Zwei Elektroden (A1 und A2) an den Ohrläppchen wurden zu einer gemeinsamen Bezugselektrode (pseudounipolare Ableitung) zusammengeschaltet und als nicht lateralisierte Referenzposition genutzt. Beidseits wurden zusätzlich Elektroden (M1 und M2) für die Erdung, an den Processus mastoidei, befestigt. Die Elektrodenposition Fp2 wurde als Erkennung von Artefakten durch Augenbewegungen, z.B. Zwinkern, genutzt.

2.4.3 Stimulusmodalitäten

Insgesamt wurden bei einer Messung 40 Reize gesetzt, die mit einer Länge von 200 ms definiert waren. Die Länge des ISI war randomisiert und zwischen zehn bis 14 Sekunden lang. Der Luftfluss des Olfaktometers wurde mit 6,2 l/min eingestellt, die Luftfeuchtigkeit betrug 80% und die Temperatur der Luft wurde auf etwa 36,5 °C erwärmt. Als Duftstoff wurde PEA verwendet. Nach jedem zehnten Reiz wurde das Nasenloch gewechselt. Mit welchem Nasenloch begonnen wurde ist randomisiert festgelegt worden. Die Gesamtlänge der Messung am Olfaktometer betrug etwa 15 Minuten.

2.4.4 Abschirmung akustischer und visueller Reize

Ähnlich wie bei der olfaktorischen Reizung, bei der die Reizung von Mechano- und Thermorezeptoren umgangen werden soll, muss bei der Aufzeichnung von olfaktorisch evozierten Potentialen darauf geachtet werden, dass visuelle und akustische Reize vermieden werden und somit die EEG Aufzeichnung nicht beeinflussen.

Zur Abschirmung von akustischen Reizen wurde den Probanden Kopfhörer aufgesetzt über die sie ein weißes Rauschen (white noise) gehört haben. Es handelt sich hierbei um ein Rauschen, bei dem die verschiedenen Frequenzanteile gleichlaut sind. Damit wurden akustisch ausgelöste Artefakte vermieden, die zum Beispiel durch das stimulussynchrone Klicken des Magnetventils des Olfaktometers verursacht werden könnten.

Während der gesamten Zeit der Messung haben die Probanden ein Computerspiel gespielt. In einer Entfernung von ca. eineinhalb Metern hing ein Bildschirm auf Augenhöhe des Probanden. Das Spiel wurde von den Probanden über eine Computermaus gesteuert. Die Aufgabe bestand darin ein sich randomisiert bewegendes blaues Quadrat mit einem weißen Punkt, welcher der Bewegung der Computermaus entspricht, zu verfolgen. Dadurch wurde

erreicht, dass die Probanden keinen weiteren visuellen Reizen ausgesetzt waren. Zudem wurde die Augenbewegung kontrolliert durchgeführt. Es wird damit umgangen, dass schnelle Augenbewegungen und Drehbewegung der Augen ausgeführt werden, da diese wie Dipole im elektrischen Feld wirken und Artefakte im EEG hervorrufen.

2.5 Ablauf des Studientermins und Durchführung

Zur Durchführung der Messungen mussten die Probanden in das „Interdisziplinäre Zentrum Riechen und Schmecken“ in der Hals-Nasen-Ohren Heilkunde der Universitätsklinik Dresden kommen. Es wurde versucht die Messungen beider Versuchsteile in einer Sitzung zu absolvieren, sofern dies nicht möglich war wurde ein zweiter Termin vereinbart.

Zu Beginn wurden die Probanden und die Erziehungsberechtigten detailliert über den Verlauf der Studie aufgeklärt. Es wurde eine ausführliche Anamnese erhoben, sodass sichergegangen werden konnte, dass sowohl Einschlusskriterien erfüllt wurden und keine Ausschlusskriterien zutrafen. Bei Teilnahme wurde sowohl das Einverständnis der Probanden als auch die Einwilligung der Sorgeberechtigten schriftlich festgehalten.

Zuerst wurde mit Hilfe der „Sniffin‘ Sticks“ die Fähigkeit des Riechvermögens überprüft. Zu Beginn jedes einzelnen Tests wurde den Probanden die Aufgabe detailliert erklärt und Fragen beantwortet. Die Testung fand in einer ruhigen Umgebung ohne Störgeräusche statt. Anschließend wurde in den für die Messungen von OEPs vorgesehenen Raum gewechselt. Die Probanden nahmen auf einem Stuhl platz. Vor Beginn wurden nochmals das Vorgehen, die Messung und die Geräte erläutert. Es folgte die Vorbereitung des EEGs mit der Reinigung der Kopfhaut und Kleben der Elektroden. Am Computer wurden die Signale des EEGs überprüft. Die Probanden bekamen die Computermaus gereicht und das Computerspiel wurde erklärt. Sobald die Probanden bereit waren, konnten sie mit dem Spiel beginnen. Die Kopfhörer mit dem weißen Rauschen wurden auf den Ohren platziert. Als letztes wurde nun das Nasenstück in der Nase platziert und die Messung konnte beginnen. Damit die Probanden nicht vom Versuchsleiter abgelenkt wurden, wurde der Messplatz mit einem Vorhang abgetrennt. Über ein Videosystem war es dem Versuchsleiter möglich die Probanden während der Messung zu beobachten.

2.6 Auswertung und Statistik

Die Auswertung erfolgte nach beendeter Versuchssitzung. Die Bearbeitung der EEGs erfolgte mit MATLAB (MathWorks, Inc., Natick, MA, USA) und der Letswave 5 Toolbox (A. Mouraux, Institute of Neuroscience, Université catholique de Louvain).

Da die Datei zunächst im „td“ Format vorlag musste diese zur weiteren Bearbeitung in ein „txt“ Format umgewandelt werden. In dieser Form wurde die Datei nun in das MATLAB-Programm importiert und hier mit der Letswave 5 Toolbox weiterbearbeitet. Die Daten wurden hier für jeden Probanden einzeln importiert und bearbeitet. Zunächst wurden die Daten mit einem zusätzlichen Bandpass-Filter (FFT) zwischen 0,3-15 Hz gefiltert, außerdem wurde eine Baseline Korrektur mit einem Referenzintervall von 500 ms vor dem Stimulus angewendet. Nach diesen ersten Bearbeitungsschritten wurden die 40 aufgenommenen EEG-Epochen eines Probanden auf Artefakte, wie z.B. Zwinkerartefakte, welche außerhalb eines Bereichs von -50/50 μ V lagen, überprüft und gegebenenfalls manuell gelöscht. Zufällig auftretende Augenbewegungen zeigen zweigipflige Amplitudenmaxima und können so von Epochen ohne Artefakte getrennt werden (Kobal, 1981). Im nächsten Schritt folgte die Mittelung der verbliebenen Epochen, dafür mussten mindestens acht Epochen vorhanden sein (Hummel et al., 2000). Nach der Mittelung wurden die Amplituden und die Latenzzeiten zu den Signalanteilen N1 und P2 ausgemessen sowie die Spitze-Spitze-Amplitude von N1/P2. Zusätzlich wurde das Signal-Rausch-Verhältnis als Quotient der Spitze-Spitze-Amplitude von N1/P2 und dem Durchschnitt der zwei größten Spitze-Spitze-Amplitude innerhalb der ersten 500 ms vor dem Stimulus berechnet (Boesveldt et al., 2007).

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Softwareprogramm SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Verwendet wurden der t-Test für unabhängige Stichproben, Korrelationsanalysen nach Pearson und Messwiederholungen. Multifaktorielle Varianzanalysen (mANOVA) mit der Elektrodenposition als Innersubjektfaktoren und Alter und Geschlecht als Zwischensubjektfaktoren wurden genutzt um möglichen Effekte zwischen diesen zu analysieren. Das Signifikanzniveau wurde mit $p \leq 0.05$ festgelegt.

3 Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der psychophysischen Testung sowie der elektrophysiologischen Testung beschrieben. Die gewonnenen Ergebnisse wurden genauer in Hinblick auf Unterschiede zwischen den Altersgruppen sowie dem Geschlecht untersucht.

3.1 Probanden

In die Ergebnisberechnung wurden 81 getestete Probanden eingeschlossen, von denen 45 weiblich (55,6%) und 36 männlich (44,4%) waren. Von den insgesamt 100 getesteten Probanden wurden 19 Probanden aus unterschiedlichen Gründen ausgeschlossen, z.B. weil diese nach Testung der Geruchsidentifikation nicht normosmisch. Die Kinder unter sechs Jahren haben den Schlauch des Olfaktometers in der Nase nicht toleriert und somit wurde die Messung abgebrochen. Das Durchschnittsalter der Probanden lag bei 11,8 Jahren (SD $\pm 3,4$) mit einer Altersspanne von sechs bis 17 Jahren. Das Durchschnittsalter der Mädchen lag bei 12,2 Jahren (SD $\pm 3,5$), die männlichen Probanden waren im Durchschnitt 11,2 Jahre (SD $\pm 3,2$) alt. Das Durchschnittsalter zwischen Jungen und Mädchen war nicht signifikant unterschiedlich ($t=1,25$, $p=0,22$).

Für die Ergebnisermittlung erfolgte eine Einteilung der Probanden in zwei Altersgruppen. Durch die Einteilung ergaben sich die Altersgruppe A (Präpubertäre) von sechs bis elf Jahre mit dem Durchschnittsalter von 8,6 Jahren (SD $\pm 1,67$) und die Altersgruppe B (Pubertäre und Nachpubertäre) von zwölf bis 17 Jahre mit dem Durchschnittsalter von 14,4 Jahren (SD $\pm 1,95$). Gebildet wurde die Altersgruppe A aus 19 Mädchen (51,3%) die im Durchschnitt 8,6 Jahre (SD $\pm 1,8$) alt waren und 18 Jungen (48,7%) die ebenfalls durchschnittlich 8,6 Jahre (SD $\pm 1,5$) alt waren. Die Altersgruppe B schließt 26 Mädchen (59%) mit dem durchschnittlichen Alter von 14,8 Jahren (SD $\pm 1,8$) und 18 Jungen (41%) mit dem Durchschnittsalter von 13,9 Jahren (SD $\pm 2,1$) ein. Die Verteilung der Jungen und Mädchen zwischen den beiden Gruppen war nicht unterschiedlich ($X^2=0,49$, $p=0,51$).

Tabelle 2: Verteilung der Probanden in den Altersgruppen mit Geschlechterverteilung und Durchschnittsalter.

Altersgruppe	Anzahl der Probanden	Durchschnittsalter (Jahre) \pm Standardabweichung
A	37	8,6 \pm 1,67
Mädchen	19 (51,3%)	8,6 \pm 1,8
Jungen	18 (48,7%)	8,6 \pm 1,5
B	44	14,4 \pm 1,95
Mädchen	26 (59%)	14,8 \pm 1,8
Jungen	18 (41%)	13,9 \pm 2,1

3.2 Ergebnisse der psychophysischen Testung

Zur Bewertung der psychophysischen Testung wurden die Ergebnisse der Geruchsidentifikation herangezogen. Fast alle Probanden waren normosmisch in Bezug auf die „Sniffin‘ Kids“ (Schriever et al., 2014). Zwei Probanden mussten ausgeschlossen werden da sie nach der Beurteilung der „Sniffin‘ Kids“ hyposmisch waren. Die durchschnittlich erreichte Punktzahl lag bei 12,1 Punkten (SD \pm 1,3) mit einem Bereich von neun bis 14 Punkten. Es konnte kein Unterschied in der durchschnittlich erreichten Punktzahl zwischen Jungen, mit einer Punktzahl von 12,0 Punkten (SD \pm 1,5), und Mädchen, mit einer Punktzahl von 12,2 Punkten (SD \pm 1,3), gefunden werden (t=0,57, p=0,57).

Es ergab sich ein signifikanter Unterschied der durchschnittlich erreichten Punktzahl zwischen den Altersgruppen mit 11,43 Punkten (SD \pm 1,36) in der Altersgruppe A und 12,66 Punkten (SD \pm 1,14) in der Altersgruppe B (t=4,4, p<0,001).

3.3 Ergebnisse der elektrophysiologischen Testung

3.3.1 Signalhäufigkeiten

Bei der Betrachtung der Signalhäufigkeiten wurden 81 Probanden einbezogen. Es konnte bei 52 (64%) von den 81 einbezogenen Probanden ein OEP beobachtet werden. Dabei war bei 27 Mädchen (60%) und 25 Jungen (69%) ein OEP detektierbar. Obwohl geringfügig mehr OEPs bei den Jungen beobachtet werden konnten gab es keinen signifikanten Unterschied in der Verteilung ($\chi^2=0,78$; $p=0,38$).

Ähnlich war es bei der Verteilung der OEPs in den Altersgruppen. Es konnte bei 25 Probanden der Altersgruppe A (68%) und bei 27 Probanden aus der Altersgruppe B (61%) ein OEP beobachtet werden. Für das Auftreten der OEPs im Vergleich zwischen den Altersgruppen ist jedoch keine Signifikanz nachweisbar ($\chi^2=0,34$, $p=0,56$). Zudem ergibt sich kein Unterschied in der Häufigkeit von OEPs innerhalb der Altersgruppen zwischen Mädchen und Jungen (Altersgruppe A: $\chi^2=1,67$, $p=0,20$; Altersgruppe B: $\chi^2=0,001$, $p=0,98$).

3.3.2 Signalamplituden und Signallatenzen

Die aufgezeichneten OEPs bestehen aus mehreren Signalanteilen. Für die Auswertungen haben wir zwei Signalanteile näher betrachtet. Zum einen die frühe Negativität, der erste Anstieg in den negativen Bereich, welcher N1 genannt wird, und die späte Positivität, der zweite Anstieg in den positiven Bereich, welcher P2 genannt wird. Klassifiziert werden die Signalanteile jeweils über die Signalamplitude, d.h. den Ausschlag ins Positive bzw. Negative und die Signallatenz, welche das zeitliche Auftreten des Signalanteils beschreibt. Im Folgenden werden die aus dieser Studie ermittelten Durchschnittswerte der Signalanteile beschrieben. Die mittlere Amplitude von N1 beträgt $-4,46 \mu\text{V}$ ($\text{SD} \pm 3,52$) und hat eine mittlere Latenz von 419ms ($\text{SD} \pm 91$). Dem Signalanteil N1 folgt P2 mit einer mittleren Amplitude von $7,22 \mu\text{V}$ ($\text{SD} \pm 3,46$) und einer Latenz von 608ms ($\text{SD} \pm 96$). Den Verlauf der Signalanteile gibt die Abbildung 9 wieder. Bei den angegebenen Signalanteilen handelt es sich um Durchschnittswerte die aus allen drei Elektroden gemittelt wurden. Die Mittelwerte der Amplituden und Latenzen der Signalanteile für die einzelnen Elektroden sowie die Beziehung zu anderen Faktoren werden in den folgenden Absätzen im Detail erläutert.

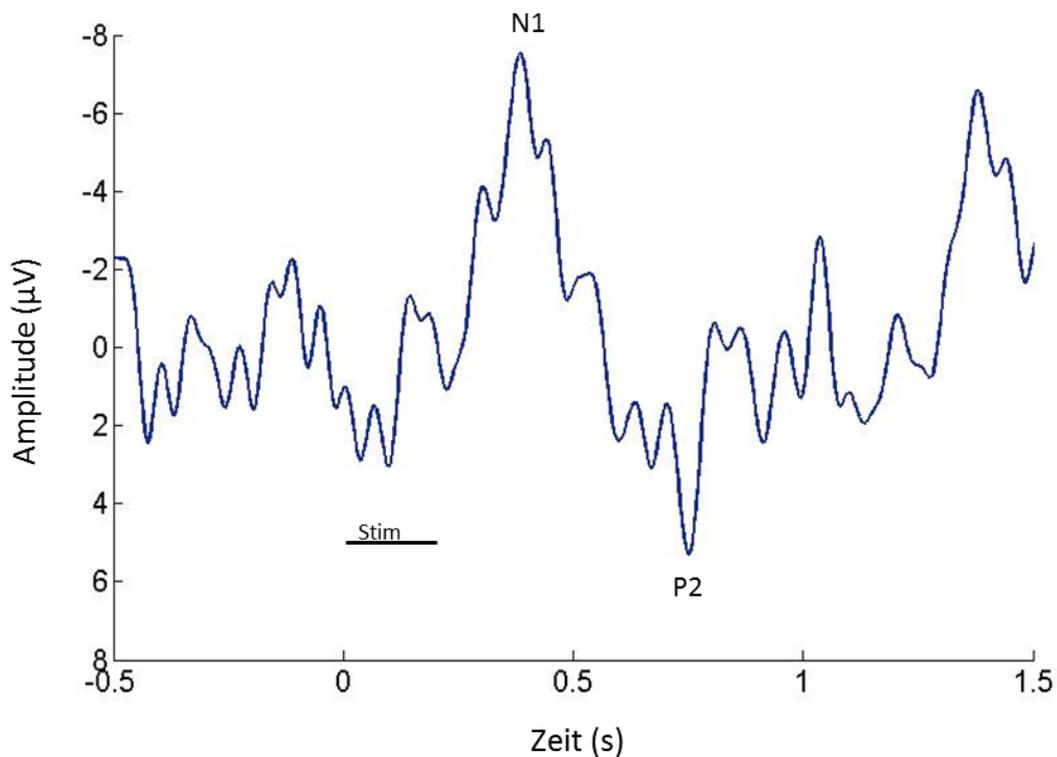


Abbildung 9: Beispiel eines Olfaktorisch Evozierten Potentials.

Dargestellt ist ein OEP, eines einzelnen Probanden, von der Elektrodenposition Cz mit den Signalkomponenten N1 und P2 (Stim: Stimulus, Dauer: 200 ms).

3.3.3 Amplitude und Latenz von N1

Der Signalanteil N1 zeigte eine mittlere Amplitude von $-3,48 \mu\text{V}$ ($\text{SD}\pm 3,17$) für die Elektrodenposition Fz, $-4,46 \mu\text{V}$ ($\text{SD}\pm 3,52$) für Cz und $-4,72 \mu\text{V}$ ($\text{SD}\pm 4,05$) für die Elektrodenposition Pz. Die Latenzen für N1 lagen bei 419 ms ($\text{SD} \pm 89$) für Fz, 419 ms ($\text{SD}\pm 90$) für Cz und bei 416 ms ($\text{SD}\pm 90$) für die Elektrodenposition Pz. Eine Zusammenfassung der gemittelten Werte für die Altersgruppen und Geschlechter ist in der Tabelle drei zu finden.

Tabelle 3: Amplituden und Latenzen der Signalkomponente N1.

Die Tabelle gibt einen Überblick über die Amplituden und Latenzen in Bezug auf Geschlecht und Alter.

		N1	
	Geschlecht	Amplitude in μV	Latenz in ms
AG A	Mädchen (n=11)	-4.56±2.32	428±110
	Jungen (n=14)	-4.69±4.32	409±76
	Alle (n=25)	-4.63±3.51	417±90
AG B	Mädchen (n=16)	-4.55±4.06	413±82
	Jungen (n=11)	-3.94±2.89	433±10
	Alle (n=27)	-4.30±3.58	412±92

3.3.3.1 Untersuchung von N1, Elektrodenposition, Geschlecht und Altersgruppe

Bei der Betrachtung des Signalanteils N1 und den Elektrodenpositionen hat sich ein Einfluss auf die Amplitude gezeigt ($F=3,46$, $p=0,036$), welcher durch die paarweise durchgeführten Bonferroni Korrekturen jedoch nicht bestätigt wurde. Weder wurde die Amplitude von N1 durch die Altersgruppe ($F=0,28$, $p=0,60$) beeinflusst noch zeigte sich ein Unterschied zwischen Jungen und Mädchen ($F=0,23$, $p=0,64$). Für die Latenz des Signalanteils N1 tritt kein Einfluss auf die Elektrodenposition auf ($F=0,89$, $p=0,42$), zudem hatten sowohl die Altersgruppe ($F=0,10$, $p=0,76$) als auch das Geschlecht ($F=0,003$, $p=0,96$) keinen Einfluss.

3.3.3.2 Interaktion von N1-Latenz, Elektrodenposition und Geschlecht

Bei der Untersuchung der drei Parameter wurde eine Interaktion zwischen der Elektrodenposition und dem Geschlecht in Bezug auf die N1 Latenz gefunden ($F=4.03$,

$p=0.021$). Die Latenz von N1 ist bei Mädchen in den Elektrodenpositionen von frontal, Fz mit 424 ms ($SD\pm 89$), nach parietal zu Pz mit 415 ms ($SD \pm 95$) gesunken, wohingegen bei den Jungen die Latenz von Fz (414 ms, $SD\pm 91$) nach Cz (420 ms, $SD\pm 90$) leicht gestiegen ist und von Cz auf Pz (418 ms, $SD\pm 87$) marginal gesunken ist. Diese Interaktion ist in Abbildung 10 dargestellt. Die Korrelation der N1 Latenz mit dem Alter hat keine signifikanten Ergebnisse gezeigt.

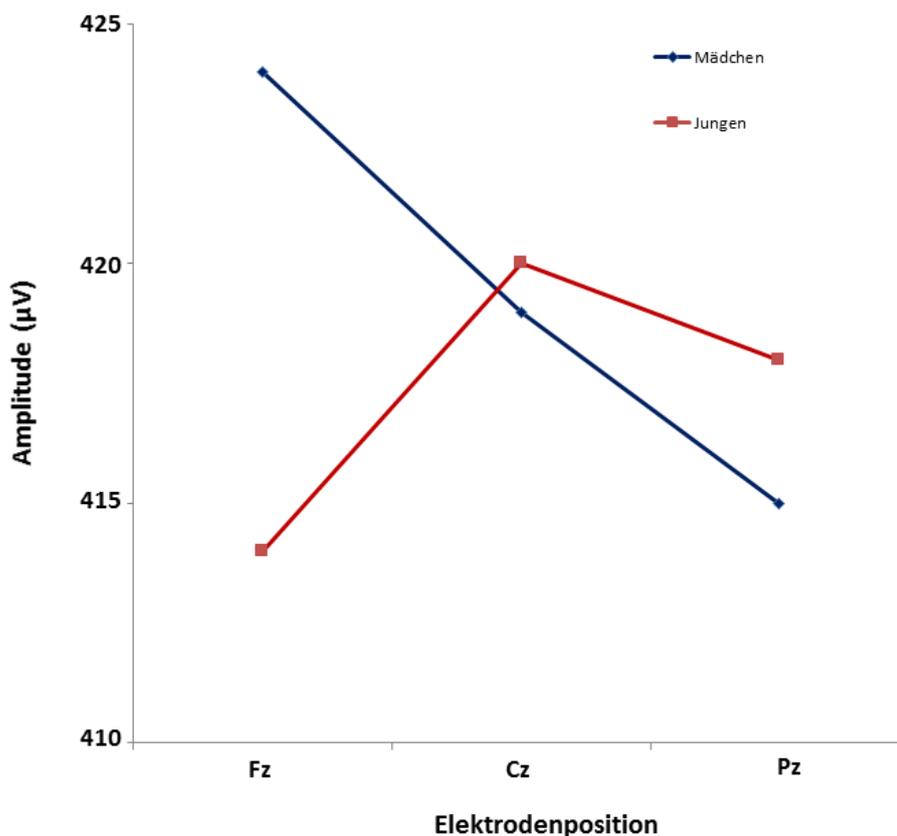


Abbildung 10: Darstellung der Interaktion von N1-Latenz, Elektrodenposition und Geschlecht.

Mädchen haben in der frontalen Ableitposition (Fz) längere Latenzen als in der hinteren (Pz), bei Jungen ist der Effekt umgekehrt.

3.3.4 Amplitude und Latenz von P2

Für den Signalanteil P2 haben sich folgende Amplituden ergeben, für die Elektrodenposition Fz 4,26 μV ($SD\pm 3,23$), Cz 7,22 μV ($SD\pm 3,46$) und Pz 7,34 μV ($SD\pm 3,44$). Die Latenzen liegen für Fz bei 608 ms ($SD\pm 95$), für Cz bei 608 ms ($SD\pm 96$) und für Pz bei 607 ms

(SD±99). In der Tabelle vier ist eine Zusammenfassung der gemittelten Werte für die Altersgruppen und Geschlechter zu finden.

Tabelle 4: Amplituden und Latenzen der Signalkomponente P2.

Die Tabelle gibt einen Überblick über die Amplituden und Latenzen in Bezug auf das Alter und Geschlecht. Kinder der Altersgruppe A (AG A) zeigen signifikant größere Amplituden als Kinder und Jugendliche der Altersgruppe B (AG B).

		P2	
	Geschlecht	Amplitude in μV	Latenz in ms
AG A	Mädchen (n=11)	8.38±3.38	592 ±91
	Jungen (n=14)	9.38±2.34	617 ±76
	Alle (n=25)	8.94±2.82	606 ±98
AG B	Mädchen (n=16)	5.45±3.48	599 ±102
	Jungen (n=11)	5.89±3.05	627 ±92
	Alle (n=27)	5.63±3.26	610 ±97

3.3.4.1 Untersuchung der P2-Amplitude, Elektrodenposition, Alter und Geschlecht

Für den Signalanteil P2 wurde ein Effekt auf die Elektrodenposition gefunden ($F=40,02$, $p<0,001$). Es zeigten sich größere Amplituden in Cz $7,26 \mu\text{V}$ ($SD\pm 3,46$) und Pz $7,34 \mu\text{V}$ ($SD\pm 3,44$) im Vergleich zu Fz $4,26 \mu\text{V}$ ($SD\pm 3,23$) ($t=9,24$, $p<0,001$; $t=6,93$, $p<0,001$). Weiterhin wurde ein signifikanter Effekt der Amplitude von P2 und den Elektroden bezüglich des Zwischensubjektfaktors „Altersgruppe“ gefunden ($F=12,25$, $p=0,001$). Als Beispiel soll Cz dienen. Die Amplitude von P2 ist in der Altersgruppe A mit $8,94 \mu\text{V}$ ($SD\pm 2,52$) signifikant größer als in Altersgruppe B mit einer Amplitude von $5,63 \mu\text{V}$ ($SD\pm 3,26$) ($t=3,90$, $p<0,001$), sichtbar wird der Unterschied in Abbildung 11. Zusätzlich wurde eine negative Korrelation

zwischen der Amplitude von P2 und dem Alter gefunden ($r=-0,43$, $p=0,002$). Ein Effekt vom Geschlecht auf die P2-Amplitude konnte nicht gefunden werden.

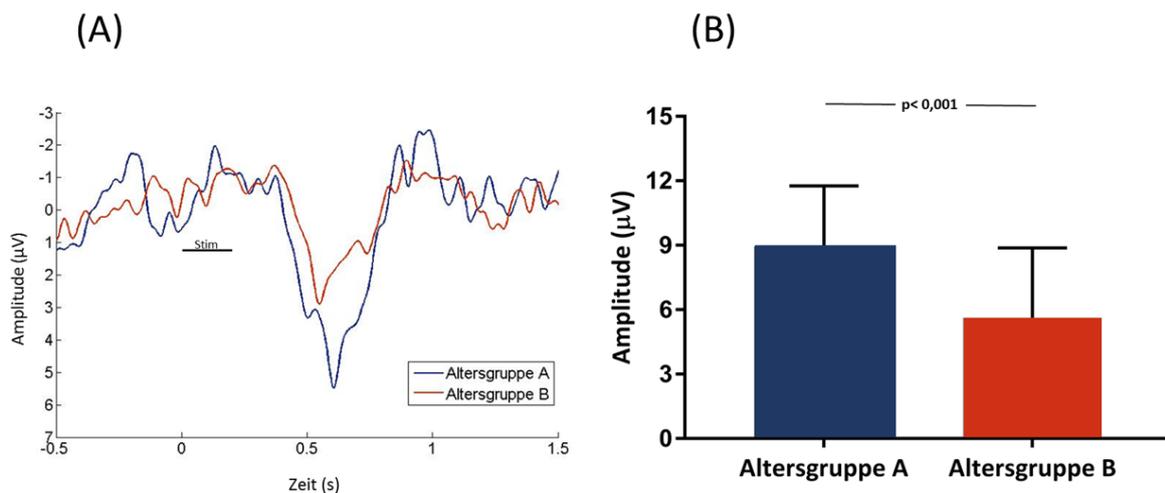


Abbildung 11: Darstellung der P2-Amplituden in Bezug zum Alter für die Elektrodenposition Cz. Jüngere Kinder (Altersgruppe A) haben signifikant größere Amplituden als ältere Kinder und Jugendliche (Altersgruppe B). (A) Dargestellt sind die gemittelten OEPs der Altersgruppe A (dunkel blau) und der Altersgruppe B (rot) (Stim: Stimulus, Dauer: 200 ms). Der Signalanteil P2 tritt in beiden Altersgruppen etwa nach 500 ms auf und stellt sich für die Altersgruppe A wesentlich größer dar. (B) Gegenüberstellung der Signalamplitude von P2 der zwei Altersgruppen. Altersgruppe A zeigt eine signifikant größere Amplitude ($8,94 \pm 2,52 \mu\text{V}$) als Altersgruppe B ($5,63 \pm 3,26 \mu\text{V}$) ($t=3,90$, $p<0,001$).

3.3.4.2 Untersuchung der P2-Latenz, Elektrodenposition, Alter und Geschlecht

Bezogen auf die P2 Latenzen ergaben sich, wie bei den N1 Latenzen, keine Einflüsse von Elektrodenposition ($F=0,21$, $p=0,81$), Altersgruppe ($F=0,03$, $p=0,86$) oder Geschlecht ($F=0,82$, $p=0,37$). Es wurde eine Interaktion zwischen der Elektrodenposition und der Altersgruppe gefunden ($F=3,52$, $p=0,033$). In der Altersgruppe A war die Latenz in Fz mit 611ms ($SD\pm 94$) am längsten und sinkt in Richtung Pz mit nur noch 604 ms ($SD\pm 100$) ab. Bei

den älteren Probanden gibt es zunächst eine Verlängerung der Latenz von Fz mit 606 ms (SD±98) zu Cz mit 610 ms (SD±97), die in Pz mit 609 ms (SD±101) wiederum kürzer ist (siehe Abbildung 12). Es zeigte sich keine Korrelation zwischen der Latenz von P2 und dem Alter.

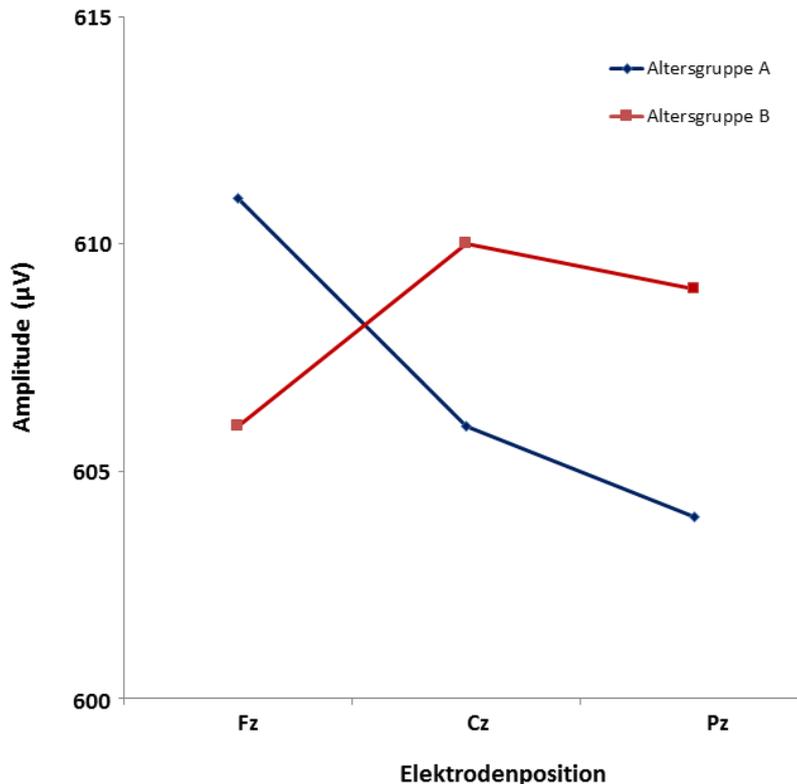


Abbildung 12: Interaktion der P2-Latenz, Elektrodenposition und Alter.

Die Abbildung zeigt die Interaktion der P2-Latenz mit der Elektrodenposition zwischen den beiden Altersgruppen, dargestellt sind die Durchschnittswerte der Latenzen. Die Latenz fällt von der Elektrodenposition Fz (frontal) bis zur Elektrodenposition Pz (parietal) in der Altersgruppe A (dunkelblau) ab. In der Altersgruppe B (rot) steigt die Latenz zunächst von Fz zu Cz (zentral) an und sinkt danach erneut ab.

3.3.5 Signal-Rausch Verhältnis

Die Spitze-Spitze-Amplituden werden von der Spitze von N1 (Minimum) zu der Spitze von P2 (Maximum) gemessen. Es ergeben sich Amplituden von 7,74 µV (SD±3,91) für Fz, 11,68 µV (SD±3,76) für Cz und 12,06 µV (SD±4,87) für Pz. Für das Signal-Rausch Verhältnis wurde

ein signifikanter Effekt der Elektrodenposition beobachtet ($F=17,11$, $p<0,001$). Der nach Bonferroni korrigierte paarweise durchgeführte T-Test bestätigte ein signifikant kleineres Signal-Rausch-Verhältnis für Fz mit 1,40 ($SD\pm 0,65$) im Vergleich zu Cz mit 2,04 ($SD\pm 0,92$) und Pz mit 2,17 ($SD\pm 0,99$) ($t=5,15$, $p<0,001$; $t=4,82$, $p<0,001$). Zwischen dem Geschlecht und der Altersgruppe zeigte sich eine Interaktion ($F=4,44$, $p=0,040$). Die Mädchen der älteren Gruppe hatten ein größeres Signal-Rausch Verhältnis mit 2,53 ($SD\pm 1,31$) als die Jungen derselben Altersgruppe mit 1,76 ($SD\pm 0,56$). Der Effekt ist umgekehrt in der jüngeren Altersgruppe, hier zeigten die Jungen ein größeres Signal-Rausch Verhältnis mit 1,93 ($SD\pm 0,56$) im Vergleich zu den Mädchen mit einem Signal-Rausch Verhältnis mit 1,76 ($SD\pm 0,69$).

4 Diskussion

Viele Testmethoden zur Untersuchung des Geruchssinns beim Erwachsenen nach unterschiedlichen Gesichtspunkten, wie zum Beispiel psychophysisch (Doty et al., 1984c; Hummel et al., 1997) oder elektrophysiologisch (Kobal, 1981; Kobal et al., 1992; Geisler et al., 1999; Murphy et al., 2000; Pause and Krauel, 2000), wurden im Verlauf der letzten Jahrzehnte entwickelt und in zahlreichen Studien validiert. Die Anwendbarkeit dieser Testmethoden wurde bei Kindern und Jugendlichen nur sehr spärlich untersucht und oft wurden nur wenige Kinder untersucht.

In dieser Promotionsarbeit wurde in zwei Versuchsteilen der Geruchssinn bei Kindern und Jugendlichen untersucht, im ersten Teil mit einem psychophysischen Testverfahren und die Geruchsverarbeitung im zweiten Teil mit einem elektrophysiologischen Testverfahren. Dabei soll der Fokus auf den Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Geruchsverarbeitung gelegt werden.

4.1 Diskussion der Testmethoden

4.1.1 Diskussion der Psychophysischen Testung

In der Untersuchung des Geruchssinns werden immer wieder geschlechtsspezifische Unterschiede beschrieben. Viele Studien zeigen, dass Frauen bei Geruchstestungen besser abschneiden als Männer (Koelega and Köster, 1974; Cain, 1982). Das dieses Phänomen nicht nur auf eine bestimmte Population begrenzt ist zeigten Doty und Kollegen indem sie nicht nur die kaukasische Bevölkerungsgruppe in den USA untersuchten, sondern auch Afroamerikaner, Koreaner und gebürtige Japaner (Doty et al., 1985).

Das Ergebnis mit dem Jungen und Mädchen bei Geruchstestungen abschließen wird trotzdem kontrovers diskutiert (Hummel et al., 2007a; van Spronsen et al., 2013; Sorokowska et al., 2015). In der Arbeit von Hummel und Kollegen (2007) wurde ein Effekt zwischen dem Geschlecht und dem Alter gefunden. Frauen schneiden in der Geruchstestung mit den „Sniffin' Sticks“ besser ab, dieser Effekt zeigt sich jedoch nur für Altersgruppen zwischen 16 und 55 Jahren (Hummel et al., 2007b). Ähnlich wie in der Arbeit von Hummel und Kollegen zeigt sich in der vorliegenden Arbeit kein Unterschied der Leistung zwischen Mädchen und Jungen im Alter von 6 bis 17 Jahren.

Des Weiteren wurden von Sorokowska et al. keine Unterschiede in der Geruchsidentifikation zwischen Mädchen und Jungen gefunden. Sorokowska und Kollegen untersuchten mit Hilfe

des Identifikationstestes aus der „Sniffin‘ Sticks“ Testbatterie, welcher 16 verschiedene Gerüche enthält, Probanden zwischen 4 und 80 Jahren (Sorokowska et al., 2015).

Im Kontrast zu den oben genannten Arbeiten steht hierbei die Arbeit von van Spronsen und Kollegen (2013). Untersucht wurde der Geruchssinn von Kindern im Alter von sechs bis 11 Jahren mit Hilfe der „Sniffin‘ Sticks“. Dabei wurde ein Unterschied im Abschneiden zwischen Jungen und Mädchen gefunden, wobei Mädchen die besseren Ergebnisse erzielten (van Spronsen et al., 2013).

Die Tatsache, dass in dieser Arbeit, wie auch Sorokowska und van Spronsen keine Unterschiede zwischen Mädchen und Jungen gefunden werden konnte ist eventuell darauf zurück zu führen, dass in diesen beiden Arbeiten nur der Identifikationstest aus der „Sniffin‘ Sticks“ Testbatterie durchgeführt wurde. Des Weiteren wurde der Identifikationstest nach dem Testverfahren der „Sniffin‘ Kids“ (Schriever et al., 2014b) durchgeführt. Dieser verwendet 14 alltägliche Gerüche, welche sowohl Jungen als auch Mädchen gleichermaßen bekannt sein sollen.

Der Geruchssinn bei Kindern ist gut ausgeprägt, auch in Bezug auf Körpergerüche oder körperähnliche Gerüche (Boesveldt et al., 2007; Hummel et al., 2007a). Viele Studien haben gezeigt, dass Kinder und Neugeborene ab der Geburt in der Lage sind Gerüche zu identifizieren, zu unterscheiden und sogar auf Gerüche reagieren (Schaal, 1988). Gerüche sind eine wichtige Quelle, welche Informationen über die Umwelt, Nahrung und andere Menschen vermitteln.

Dennoch zeigen einige Studien, dass Kinder einen schlechteren Geruchssinn haben sollen als junge Erwachsene. Einige dieser Studien haben ein sehr breites Probandenfeld untersucht (Hummel et al., 2007a). Die Aufteilung der Probanden im Alter von 5 bis über 55 Jahre erfolgte in nur vier Gruppen, davon die Gruppe der Jüngsten mit 5 bis 15 Jahren. Das Ergebnis der Studie war, dass die Gruppe der 5- bis 15-jährigen schlechter abgeschnitten hat als die beiden Gruppen im mittleren Alter (Hummel et al., 2007b). Im Kontrast zu dieser Studie haben Sorokowska und Kollegen (2015) die Gruppe der unter 15-jährigen näher betrachtet. Zum einen wurden alle untersuchten Probanden im Alter von 4 bis 80 Jahren in Dekaden unterteilt, zum anderen wurden die unter 15-jährigen für jedes Jahr einzeln untersucht. Hier wurde ebenfalls herausgefunden, dass Probanden in der Gruppe der 4- bis 9-Jährigen schlechter abgeschnitten haben als die Altersgruppen 10-59. Die Betrachtung der einzelnen Jahre hat ergeben, dass Kinder unter sechs Jahren schlechter waren als Kinder im Alter von 11-15. Sowohl die Betrachtung der Altersgruppen, welche keine detaillierte Unterscheidung der unter 15-jährigen machen und die Betrachtung der einzelnen Jahre zeigt

einen Trend (Sorokowska et al., 2015), wie es auch Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist. Jüngere Kinder schneiden schlechter ab als Ältere, wenn es um die Testung des Riechvermögens geht. Dieser Sachverhalt lässt sich auch mit verschiedenen Testmethoden nachweisen. Sowohl mit den „Sniffin' Sticks“ als auch mit dem University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT) (Doty et al., 1984c) ist die Leistung mit dem Alter gestiegen (Hugh et al., 2015).

Gründe dafür sind zum einen, dass Kinder weniger Erfahrung mit einer Vielzahl von Gerüchen haben. Die olfaktorische Leistung ist außerdem an kognitive und verbale Fähigkeiten geknüpft (Schaal, 1988). Fähigkeiten, welche sich mit dem Alter entwickeln. Deshalb kann es sein, dass der Grund für die altersabhängigen Unterschiede der olfaktorischen Leistung das eingeschränkte olfaktorische Wissen zum einen und die kognitiven Fähigkeiten zum anderen sind (van Spronsen et al., 2013; Hugh et al., 2015; Sorokowska et al., 2015).

4.1.2 Diskussion der elektrophysiologischen Testung

4.1.2.1 Aufnahme von OEP bei Kindern und Jugendlichen

Die Untersuchung der zentralen Geruchsverarbeitung bei Kindern und Jugendlichen ist nicht sehr umfassend erforscht, was die Zusammenschau einer geringen Anzahl von Studien widerspiegelt (Sandford et al., 2006; Hummel et al., 2007a; Chopra et al., 2008; Qu et al., 2010).

In einer Studie von Hummel und Kollegen wurden bei 12 Kindern im Alter von dreieinhalb bis 10 Jahren OEPs abgeleitet. Die Ergebnisse der Studie beinhalten im Wesentlichen einen Unterschied der P2-Latenzen zwischen jüngeren und älteren Kindern. Wobei jüngere Kinder kürzere Latenzen aufweisen. Zu beachten ist hierbei die sehr kleine Anzahl an Probanden (Hummel et al., 2007a). Chopra und Mitarbeiter untersuchten OEPs bei Kindern und Jugendlichen vor, während und nach der Pubertät zu verschiedenen unangenehmen Gerüchen, die z.T. Bestandteil des menschlichen Schweißes sind. Beobachtet wurde hier die Abnahme der P2-Amplitude von den präpubertären zu den postpubertären Jugendlichen. Chopra und Kollegen vermuten einen Zusammenhang mit dem Einsetzen der Schweißsekretion in der Pubertät, welcher zu einer Gewöhnung der verwendeten Gerüche führen könnte (Chopra et al., 2008). Weitere zwei Publikationen sind bekannt, welche sich mit der Ableitung von OEPs bei Kindern mit eingeschränkter Riechfunktion beschäftigt haben. Bedauerlicherweise sind keine Details über die einzelnen Komponenten der

abgeleiteten OEPs (Sandford et al., 2006) oder die Größe der Untersuchten Probandengruppe (Qu et al., 2010) bekannt.

Das Ziel dieser Promotionsarbeit war es OEPs bei Kindern ab dem Alter von zwei Jahren zu untersuchen. Die Analyse der Daten bezog jedoch erst Kinder ab 6 Jahren ein.

Die Durchführung der elektrophysiologischen Untersuchung war durch einen Mangel an Aufmerksamkeit, einer zu langen Versuchsdauer sowie der Unannehmlichkeit des Schlauches in der Nase, bei Kindern unter sechs Jahren, nicht möglich. Lediglich eine Studie zeigte, dass es möglich ist bei Kindern ab dreieinhalb Jahren OEPs abzuleiten (Hummel et al., 2007a). Im Vergleich zu dieser Studie war die Reizwiederholung mit 40 Reizen im Vergleich zu mindestens 12 Reizen wesentlich höher, und in der Summe mit den ISI von deutlich längerer Dauer. Zum anderen hat durch die geringe Anzahl eine Auswahl kooperativer Probanden stattgefunden, die jedoch nicht auf andere Kinder ausgeweitet werden kann.

Insgesamt ist es möglich OEPs bei Kindern abzuleiten. Verschiedene Studien haben unter verschiedenen Aufnahmemodalitäten und bei unterschiedlich großen Probandenkollektiven OEPs bei Kindern untersucht. Dennoch ist intensivere Forschung auf diesem Gebiet nötig.

4.1.2.2 Verteilung der Signalhäufigkeiten und Beeinflussung der OEPs durch Aufnahmemodalitäten

Die Untersuchung des Geruchsinns mit Hilfe von OEPs bei Erwachsenen ist gut untersucht. In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass in etwa 70 % der untersuchten normosmischen Probanden ein OEP abgeleitet werden konnte (Lötsch and Hummel, 2006). Im Vergleich dazu konnten in dieser Studie nur bei 64% der Kinder und Jugendlichen ein OEP abgeleitet werden. Das Auftreten der OEPs war unabhängig vom Geschlecht oder Alter der Kinder und Jugendlichen.

Warum nicht in allen normosmischen Probanden ein OEP abgeleitet werden konnte wird verschieden diskutiert. Zum einen spielt die Aufnahme von Epochen mit Artefakten, wie zum Beispiel Blinkartefakten der Augen oder einer generellen muskulären Anspannung, eine Rolle (Lötsch and Hummel, 2006). Sind zu viele der aufgenommenen Epochen durch Artefakte gestört können diese nicht gemittelt werden, was die Analyse erschwert. Weiterhin ist ein bedeutender Einfluss für die Aufnahme von OEPs der Grad der Aufmerksamkeit der Probanden. OEPs bestehen sowohl aus einem exogenen (z.B. der Signalanteil N1) als auch aus einem endogenen Signalanteil (z.B. der Signalanteil P2 als Teil des Late Positivity Complex (LP)) (Pause and Krauel, 2000). Daher kann die Aufmerksamkeit einen

bedeutenden Einfluss auf das Auftreten und die einzelnen Signalkomponenten haben (Krauel et al., 1998).

Weiterhin stellen sowohl die Intensität des Stimulus, die Bewertung des Stimulus als auch die Synchronisation der neuronalen Aktivität eine beeinflussende Komponente dar. Nicht zuletzt ist das Signal-Rausch-Verhältnis für die Analyse der OEPs ein beeinflussender Faktor (Tateyama et al., 1998; Lötsch and Hummel, 2006; Boesveldt et al., 2007; Huart et al., 2013).

Vergleicht man die Aufnahmemodalitäten aus dieser Studie mit anderen so fällt auf, dass sich vor allem die Flussraten von 8 l/min (Lötsch and Hummel, 2006); (Boesveldt et al., 2007) und 6 l/min, in dieser Studie, unterscheiden. Die niedrigere Flussrate könnte durch ein langsames Anfluten von Duftstoff sowie eine niedrigere Konzentration des Duftstoffs einen Unterschied im Auftreten von OEPs bewirkt haben. Da die Testung Kinder ab einem Alter von sechs Jahren einschließt wurde auf die Anwendung der velopharyngealen Atemtechnik verzichtet. Die Versuchsaufzeichnung der OEPs wurde daher mit einfach geöffnetem Mund durchgeführt. Nachweislich habe die velopharyngeale Atemtechnik zwar einen Einfluss auf die Amplituden des OEPs (Thesen and Murphy, 2001), das Erlernen der Technik mag für Kinder im getesteten Alter jedoch eine große Herausforderung darstellen und könnte so großen Stress auf die Kinder auswirken, sodass zum Beispiel das Signal-Rausch-Verhältnis negativ beeinflusst werden könnte (Hummel and Kobal, 2001). Dies führt wiederum zu Schwierigkeiten in der Analyse der aufgezeichneten OEPs.

Die Aufnahme von OEPs bei Kindern und Erwachsenen und die Häufigkeit des Auftretens unterscheiden sich nicht bedeutend voneinander. Verschiedene Einflussfaktoren könnten ursächlich dafür sein, dass kein OEP abgeleitet werden konnte. Hier spielen die Aufmerksamkeit, Störung durch Artefakte, Modalitäten des Stimulus und die Anwendung verschiedener Atemtechniken eine Rolle.

4.1.2.3 Latenzen der Signalanteile, Interaktion mit Alter, Geschlecht und Elektrodenposition

In der vorliegenden Arbeit hat die Untersuchung der N1-Latenz, mit Fokus auf Unterschieden zwischen dem Geschlecht und dem Alter, keine signifikanten Ergebnisse erbracht. Es wurde jedoch eine signifikante Interaktion zwischen der N1-Latenz, dem Geschlecht und der Elektrodenposition entdeckt. Die Latenzen der Mädchen werden von der Elektrodenposition Fz über Cz bis zur Position Pz kürzer. Bei Jungen ergab sich die längste Latenz auf der

Elektrodenposition Cz, die anderen beiden waren jeweils kürzer. Die unterschiedlichen Latenzen der Elektrodenpositionen zeigen eine topographisch unterschiedliche Verarbeitung des präsentierten Reizes in verschiedenen Hirnregionen. Wie oben beschrieben gilt der Signalanteil N1 als exogene Komponente und wird damit von Einflüssen der Reizmodalitäten, wie zum Beispiel der Intensität des Reizes beeinflusst (Pause and Krauel, 2000). Zusätzlich wirkt sich, wie bereits erwähnt, die Aufmerksamkeit auf die Signalkomponente aus (Krauel et al., 1998). Das Gehirn unterliegt in der Entwicklung strukturellen Veränderungen. Es zeigt strukturelle Unterschiede im Alter, in der Entwicklung von Kindern bis hin zu jungen Erwachsenen, und erzeugt Unterschiede zwischen den Geschlechtern (Forde et al., 2017). Da keine Veränderung der Reizmodalitäten oder Veränderung des Versuchsaufbaus mit Lenkung der Aufmerksamkeit stattgefunden hat, könnten die gefundenen Unterschiede ein Ausdruck der unterschiedlichen Entwicklung des Gehirns zwischen Jungen und Mädchen sein.

Ähnlich wie bei der Signalkomponente N1 und deren Latenz wurde in der vorliegenden Arbeit eine Interaktion zwischen der Latenz des Signalanteils P2 und den Elektrodenpositionen gefunden. Hier zeigte sich jedoch kein Einfluss des Zwischensubjektfaktors Geschlecht, sondern ein Einfluss des Alters. Kinder der jüngeren Altersgruppe weisen in der frontalen Elektrodenposition längere Latenzen als die Kinder und Jugendlichen der älteren Gruppe auf. Für die Elektrodenposition Pz ist dieser Effekt umgekehrt. Im Gegensatz zur Signalkomponente N1 stellt P2 eine späte bzw. endogene Komponente dar und spiegelt damit einen psychologischen Prozess der Reizverarbeitung wieder (Pause and Krauel, 2000). Diesbezüglich haben die Interpretation, die Geruchsidentifikation und die Bewertung des präsentierten Geruchs einen Einfluss auf die späten Komponenten des OEP (Pause et al., 1996b; Pause and Krauel, 2000). Es spielt also die Vertrautheit und die Bewertung des jeweiligen Geruchs eine Rolle (Pause and Krauel, 2000). Daher könnte die fehlende Vertrautheit der Gerüche für jüngere Kinder zu einer Verlängerung des Intervalls zur Identifikation des Geruchs führen. In der vorliegenden Arbeit hat keine Bewertung der Gerüche durch die Probanden stattgefunden. Diese könnte die vorliegenden Ergebnisse möglicher Weise unterstützen. Daher sind weitere Studien zu dieser Fragestellung notwendig.

Im Kontrast zur vorliegenden Arbeit haben Hummel und Kollegen (2007) einen Einfluss des Alters auf die P2-Latenzen gefunden (Hummel et al., 2007a). Elektrophysiologische Messungen wurden von insgesamt 12 Kindern erhoben. Diese wurden in zwei Altersgruppen eingeteilt, die Jüngsten von dreieinhalb bis fünf Jahren und die ältere Gruppe schloss Kinder von sechs bis zehn Jahren ein. Jede der Gruppen hat damit nur sechs Kinder eingeschlossen, drei Mädchen und drei Jungen. Als Ergebnis der elektrophysiologischen Testung wurde eine Zunahme der P2-Latenzen von der jüngeren zur älteren Gruppe

beschrieben. Die Größe des Probandenkollektivs und der Einschluss von dreieinhalb jährigen Probanden führt durch methodische Unterschiede zu divergenten Ergebnissen.

Untersuchungen der N1-Latenz ergaben eine Interaktion mit der Elektrodenposition und dem Geschlecht. Als exogene Signalkomponente kann die Latenz von N1 durch verschiedene Einflüsse, wie z.B. der Intensität des Reizes oder Beeinflussung der Aufmerksamkeit verändert werden (Krauel et al., 1998; Pause and Krauel, 2000). In der vorliegenden Arbeit spielen eine Veränderung exogener Einwirkungen keine Rolle, viel mehr wird ein Einfluss durch die Entwicklung neuronaler Strukturen mit einem Unterschied zwischen beiden Geschlechtern vermutet.

Die Latenzen von P2 zeigten eine Interaktion mit der Elektrodenposition und dem Alter. P2 ist im Unterschied zu N1 eine endogene Signalkomponente und wird unter anderem durch die Vertrautheit und die Bewertung eines Geruchs beeinflusst. Daher wird vermutet, dass die Latenzunterschiede durch mangelnde Vertrautheit mit Gerüchen bei den jüngeren Probanden hervorgerufen werden.

4.1.2.4 Amplituden der Signalanteile, Interaktion der Elektrodenposition mit Alter und Geschlecht

Eine Vielzahl von Studien zeigt, dass sich die Amplituden der Signalanteile von OEPs mit dem Alter verändern (Evans et al., 1995; Hummel et al., 1998; Nordin et al., 1999; Chopra et al., 2008). Vor allem die Amplituden der Signalanteile P2 und P3 werden mit zunehmendem Alter kleiner (Morgan et al., 1997; Hummel et al., 1998; Morgan et al., 1999).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit gehen mit bisherigen Forschungsergebnissen einher. Es konnte gezeigt werden, dass es einen signifikanten Unterschied der P2-Amplituden zwischen den Altersgruppen gibt. Die P2-Amplituden der jüngeren Kinder sind signifikant größer als die Amplituden der älteren Kinder und Jugendlichen. Ein Effekt des Alters konnte für den Signalanteil N1 nicht nachgewiesen werden.

Nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und vorangegangenen Forschungsergebnissen ist eine lebenslange Modulation der zentralnervösen Funktionen anzunehmen. Dabei ist die neuronale Entwicklung bei Kindern und Jugendlichen von der Modulation neuronaler Strukturen bei Erwachsenen abzugrenzen. Bei Erwachsenen ist für die neuronale Veränderung, welche durch die Abnahme der P2-Amplitude widerspiegelt wird, ein genereller Alterungsprozess des Gehirns mit einem Zerfall von Nervenfasern ursächlich (Liss and Gomez, 1958; Morgan et al., 1997; Murphy et al., 2000).

Die Entwicklung des Gehirns und die damit verbundenen Veränderungen der Reizverarbeitung zeigt die Studie von Fenwick und Kollegen (Fenwick et al., 1981). Die oben genannten Unterschiede lassen sich nicht ausschließlich für olfaktorische Reize nachweisen. Fenwick und Kollegen untersuchten visuell evozierte Potentiale bei 84 Kinder im Alter zwischen fünf und 11 Jahren. In der Studie wurde gezeigt, dass die Amplitude der acht bis neun jährigen Kinder größer sind als die der Älteren (Fenwick et al., 1981). Die Ergebnisse der Studie wurden ebenfalls damit begründet, dass die neuronalen Mechanismen mit unterschiedlichen Graden der Reifung des Gehirns zusammenhängen.

Ein weiterer Anhaltspunkt für die Veränderung der zentralnervösen Strukturen und Geruchsverarbeitung ist eine Arbeit von Hummel und Kollegen (Hummel et al., 2012). In dieser fMRT-Studie wurde die neuronale Aktivierung auf drei unangenehme Gerüche bei zwei Altersgruppen, Kinder von neun bis 12 Jahren und junge Erwachsene von 17 bis 20 Jahren, untersucht. Bei jüngeren Kindern zeigte sich eine Aktivierung vor allem der olfaktorischen Kortexareale, wie dem piriformen Kortex und der Amygdala, junge Erwachsene dagegen zeigten vermehrte Aktivität in neokortikalen Arealen, welche eng mit der kognitiven Integration von Gerüchen im Zusammenhang stehen (Hummel et al., 2012). Die Beteiligung dieser unterschiedlichen Gehirnareale bei der Geruchsverarbeitung ist möglicher Weise ein Grund für die abnehmenden P2-Amplituden mit dem Alter.

Die Bedeutung der P2-Amplitude liegt in der Neuheit und der Bedeutung eines Reizes (Pause et al., 1996b; Pause and Krauel, 2000). Haben jüngere Kinder eine größere Amplitude als die Älteren könnte es ein Ausdruck der Unerfahrenheit mit dem präsentierten Reiz sein. Es ist aber auch möglich, dass der Effekt der Gewöhnung, auf sich wiederholende Reize mit demselben Geruch, bei älteren Kindern größer ist und eine Abnahme der Amplitude zur Folge hat. Eine ähnliche Erklärung haben Chopra und Kollegen (2008) für die Ergebnisse ihrer Studie, welche eine Abnahme der P2-Amplitude bei älteren Kindern auf die Stimulation mit körperähnlichen Gerüchen zeigten (Chopra et al., 2008).

Als weiteres signifikantes Ergebnis zeigte sich ein Effekt der Elektrodenposition auf die Größe der P2- Amplitude. Es wurden größere Amplituden für die Elektrodenposition Cz mit 7,26 μ V und Pz mit 7,34 μ V im Vergleich zu Fz mit 4,26 μ V gemessen. Evans und Kollegen (1995) haben die Verteilung der Amplitudengrößen über diese drei Elektrodenpositionen mit einem trigeminalen Reiz (CO₂) ebenfalls nachweisen können. Die Amplituden des Signalanteils P2 waren größer in Cz und Pz als in Fz (Evans et al., 1995). Die topografische Verteilung der Amplituden wurde auch von Pause und Kollegen untersucht (Pause et al., 1997). In ihrem Versuchsaufbau wurden OEPs nach olfaktorischer und trigeminaler Stimulation untersucht. Die Verteilung der Amplituden war für olfaktorische Reize deutlicher

auf den parietalen Schädel konzentriert, für trigeminale Reize fand sich ein Maximum im zentralen Schädelbereich (Pause et al., 1997).

In einer anderen Studie untersuchten Morgan und Kollegen (1999) 16 junge Erwachsene (Durchschnittsalter 23 Jahre) und 16 ältere Erwachsene (Durchschnittsalter 70 Jahre) mit jeweils sechs Frauen und sechs Männern. Unter Anwendung des Geruchsreizes Amylacetat, in einer Konzentration die unterhalb der Konzentration für trigeminale Reizung liegt, wurde beobachtet, dass die größten Amplituden für P2 von den Elektrodenpositionen Cz und Pz abgeleitet werden konnten (Morgan et al., 1999).

Die Aufnahme von OEPs ist nicht nur bei Kindern möglich (Hummel et al., 2007a; Schriever et al., 2015) sondern kann auch bei Neugeborenen und Säuglingen angewendet werden, wie Schriever und Kollegen untersucht haben (Schriever et al., 2014a). In dieser Studie wurden 10 Neugeborene und Säuglinge im Alter zwischen 23 und 41 Tagen untersucht. Es wurden mittels EEG OEPs auf den Geruchsreiz PEA abgeleitet. Bei sieben der zehn gemessenen Säuglinge konnte ein OEP identifiziert werden und es stellte sich in den Elektrodenpositionen Fz und Cz am prominentesten dar (Schriever et al., 2014a).

Die Entwicklung des Gehirns dauert das ganze Kindes- und Jugendalter an, sodass es möglich ist, dass sich die Prominenz der Signale von der frontalen Position sowohl auf die zentrale als auch auf die parietale Position verschiebt. Zusätzliche Hinweise, dass eine Entwicklung der zentralen Geruchsverarbeitung stattfindet zeigt die durchgeführte Arbeit von Baur (Baur, 2010). In der Studie zu ihrer Dissertationsschrift untersuchte Baur die Aktivierung des Gehirns durch Geruchsreize mittels funktionaler MRTs bei Kindern vor der Pubertät im Alter von 9 bis 12 Jahren und bei jungen Erwachsenen, nach der Pubertät, im Alter von 17 bis 20 Jahren. Die präpubertären Kinder zeigten eine vermehrte Aktivierung im Bereich der sekundär olfaktorischen Areale, wie zum Beispiel dem piriformen Kortex, die jungen Erwachsenen in tertiär olfaktorischen Arealen, wie der Inselrinde und dem Gyrus frontalis (Baur, 2010). Die Zusammenschau der Ergebnisse mit denen der vorliegenden Arbeit könnten die Unterschiede der OEP Amplituden durch die Aktivierung unterschiedlicher Gehirnareale erklären.

Des Weiteren wurde eine Interaktion der P2-Amplitude mit der Elektrodenposition nachgewiesen. Auf den Elektrodenpositionen Cz und Pz wurden signifikant größere Amplituden abgeleitet als auf der Elektrodenposition Fz. Die gleiche topographische Verteilung findet sich auch bei Ableitung von OEPs auf olfaktorische Reize bei Erwachsenen (Pause et al., 1997; Morgan et al., 1999). Bei der Ableitung von OEPs bei Neugeborenen und Säuglingen stellte sich die größte Amplitude für P2 auf der Elektrodenposition Fz und Cz dar (Schriever et al., 2014a). Die Verlagerung der Maxima der Amplituden für P2 könnte ein Hinweis auf die Veränderung der olfaktorischen Reizverarbeitung sein. Unterstützt wird diese

Vermutung durch die Untersuchung von olfaktorischen Reizen von Kindern vor und nach der Pubertät im MRT (Baur, 2010). Diese zeigt eine Aktivierung in sekundär olfaktorischen Arealen bei präpubertären Kindern und eine Aktivierung tertiär olfaktorischer Areale bei postpubertären Kindern (Baur, 2010). Zusammenfassend geben die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und die genannten Forschungsergebnisse einen Hinweis auf die Entwicklung und Veränderung der olfaktorischen Reizverarbeitung.

4.1.2.5 Spitze-Spitze-Amplitude N1/P2 und Effekte auf das Signal-Rausch-Verhältnis

Ähnlich der Ergebnisse der P2-Amplitude wurde für die Spitze-Spitze-Amplitude ebenfalls ein Effekt der Elektrodenposition festgestellt. Wie auch schon in anderen Studien berichtet wurde, stellen sich Spitze-Spitze-Amplituden N1/P2 für olfaktorische Duftreize auf der Elektrodenposition Pz am größten dar (Kobal et al., 1992; Hummel et al., 1998). Es ergaben sich Amplituden von 7,74 μV für Fz, 11,68 μV für Cz und 12,06 μV für Pz.

Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den zuvor beschriebenen Beobachtungen für P2-Amplituden. Daraus ergibt sich außerdem der Effekt auf das Signal-Rausch-Verhältnis. Für das Signal-Rausch-Verhältnis wurde ebenfalls ein signifikanter Effekt der Elektrodenposition beobachtet, das Signal-Rausch-Verhältnis ist für Fz mit 1,40 im Vergleich zu Cz mit 2,04 und Pz mit 2,17 signifikant kleiner.

Für die Amplitude des Signalanteils P2 konnte kein Effekt oder eine Interaktion mit dem Geschlecht beobachtet werden, für das Signal-Rausch-Verhältnis zeigt sich jedoch eine Interaktion zwischen dem Geschlecht und der Altersgruppe. Bei Mädchen der älteren Gruppe wurde ein größeres Signal-Rausch-Verhältnis mit 2,53 als bei den Jungen derselben Altersgruppe mit 1,76 beobachtet. In der jüngeren Altersgruppe ist der Effekt umgekehrt, hier zeigten die Jungen ein größeres Signal-Rausch-Verhältnis mit 1,93 im Vergleich zu den Mädchen mit einem Signal-Rausch-Verhältnis mit 1,76.

Einige Studien konnten belegen, dass sich Amplituden für Frauen generell größer darstellen als für Männer (Becker et al., 1993; Lundström et al., 2005). Eine Studie hat speziell das Signal-Rausch-Verhältnis betrachtet. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass nicht nur die Amplituden größer sind, sondern auch das Signal-Rausch-Verhältnis (Boesveldt et al., 2007). Da in die Berechnung des Signal-Rausch-Verhältnisses unter anderem die Amplitude des Signalanteils P2 einfließt erscheint es nachvollziehbar, dass nicht nur die Amplituden, sondern auch das Signal-Rausch-Verhältnis bei Frauen größer sind.

Wie zuvor schon beschrieben sind Unterschiede zwischen Mädchen und Jungen sowie zwischen den Altersgruppen möglicherweise auf unterschiedliche Stadien im Reifungsprozess des Gehirns zurückzuführen. Damit lassen sich eventuell auch die Unterschiede im Signal-Rausch-Verhältnis zwischen den Mädchen und den Jungen der jüngeren Altersgruppe erklären.

Möglicherweise spielt auch die Motivation der Teilnahme an der Studie eine Rolle, damit könnte wiederum die Aufmerksamkeit einen Einfluss haben. Diese hat nachweislich einen Einfluss auf die N1-P2-Amplitude und ist bei geringer Aufmerksamkeit niedriger (Geisler and Murphy, 2000). Nicht zuletzt beeinflussen, im Zusammenhang mit der Aufmerksamkeit, die Artefakte sowie die Aktivität des Gehirns die Aufnahme und Analyse von OEPs. Zu viele Zwinkerartefakte mit einer niedrigen Frequenz und niedrigen Amplituden oder eine zu hohe muskuläre Anspannung sowie hohe Amplituden der normalen Hirnwellen stellen einen Einfluss dar (Lötsch and Hummel, 2006), welche unter Umständen mit einer niedrigen Motivation zusammenhängen können. Die Rekrutierung der männlichen Jugendlichen war sehr mühsam, was auch die unterschiedliche Verteilung in dieser Altersgruppe zeigt, wenn auch nicht mit signifikantem Unterschied.

Für die einzelnen Signalanteile N1, P2 sowie die Spitze-Spitze-Amplitude N1/P2 wurden mit unterschiedlicher Signifikanz und zusätzlichen Interaktionen jeweils ein Einfluss des Geschlechtes gefunden. Möglicherweise könnte der Einfluss durch den weiblichen Zyklus bedingt sein. In einer Studie haben Pause und Kollegen (1996) den Einfluss des weiblichen Zyklus auf den Geruchssinn und die Verarbeitung untersucht (Pause et al., 1996a). Untersucht wurden sechs Frauen (Durchschnittsalter 27 Jahre) in Bezug auf die Geruchsschwelle und OEPs jeweils in der Follikel-, ovulatorischen und Lutealphase. Die Latenzen der Signalanteile N1 und P2 wurden mit dem Verlauf des Zyklus verändert. Für N1 fand sich die längste Latenz während der Follikelphase und ist in der ovulatorischen bis zur Lutealphase abgesunken, für P2 ist die Latenz von der Follikelphase bis zur Lutealphase angestiegen. Die Phase des weiblichen Zyklus hat nachweislich einen Einfluss auf die Geruchsverarbeitung. Die Unterschiede des Signal-Rausch-Verhältnisses zwischen den jungen und den jugendlichen Mädchen sowie den jugendlichen Mädchen und den Jungen können zum Teil durch den Einfluss des weiblichen Zyklus entstanden sein.

5 Zusammenfassung/Summary

5.1 Deutsch

Hintergrund: Olfaktorisch evozierte Potentiale (OEP) sind in ihrer klinischen Anwendung weit verbreitet. Aber nur wenige Studien haben sich mit der Ableitung von OEPs bei Kindern und Jugendlichen beschäftigt. Die Anwendbarkeit sowie Unterschiede in der Verarbeitung von olfaktorischen Stimuli in Zusammenhang mit dem Alter und dem Geschlecht wurden bisher nicht intensiv untersucht.

Ziel: Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es die Anwendbarkeit der elektrophysiologischen Messung von OEP bei Kindern ab drei Jahren und Jugendlichen zu untersuchen. Der Fokus lag auf möglichen OEP-Veränderungen während der Entwicklung, daher untersuchten wir die gewonnenen Ergebnisse genauer in Hinblick auf Unterschiede zwischen den Altersgruppen sowie den Geschlechtern.

Material und Methoden: Insgesamt 81 Probanden im Alter von sechs bis 17 Jahren wurden in dieser Studie untersucht. Es erfolgte eine Unterteilung der Probanden in zwei Altersgruppen (A: 6-11 Jahre; B: 12-17 Jahre). Die Probanden wurden zum einen zur psychophysischen Evaluierung mit dem „Sniffin‘ Kids“ Test untersucht. Zum anderen erfolgte die Aufzeichnung von OEPs zu rosen-ähnlichem Duft (PEA) von drei Elektrodenpositionen (Fz, Cz, Pz), nach dem 10/20 System. Die Präsentation von insgesamt 40 Stimuli erfolgte mit einem computergesteuerten Olfaktometer. Die Gesamtdauer der psychophysischen und elektrophysiologischen Messung betrug etwa eine Stunde.

Ergebnisse: Ergebnisse der psychophysischen Testung mit dem „Sniffin‘ Kids“ Test zeigten zunehmende Punktzahlen der Geruchsidentifikation für die älteren Kinder/Jugendlichen. Bei 52 (64%) der 81 untersuchten Probanden konnte ein OEP aufgezeichnet werden. Für die aufgezeichneten OEPs ergaben sich größere Amplituden des Signalanteils P2 für jüngere Kinder. In Bezug auf die Latenzen hat sich kein Einfluss des Alters ergeben. Dennoch zeigte sich eine Interaktion der Elektrodenposition und den Latenzen zwischen den jüngeren und älteren Kindern sowie zwischen Jungen und Mädchen. Das Signal-Rausch-Verhältnis nimmt bei Mädchen mit dem Alter zu, bei Jungen sinkt das Signal-Rausch-Verhältnis mit dem Alter ab.

Schlussfolgerung: Die elektrophysiologische Untersuchung von OEPs ist eine Methode die gut geeignet ist für die Untersuchung von Kindern ab sechs Jahren. Für Kinder jünger als sechs Jahre ist die hier angewendete Methode der Ableitung von OEPs aus verschiedenen

Gründen, wie zum Beispiel zu lange Versuchsdauer oder zu starke Reizung der Nasenschleimhaut, nicht geeignet. Dennoch zeigten sich in den erhaltenen Ergebnissen Veränderungen der zentralen Geruchsverarbeitung während der Entwicklung der Kinder, als ein Zeichen der Entwicklung und Veränderung der neuronalen Strukturen des Gehirns.

5.2 Summary

Background: Assessment of olfactory event-related potentials (OERP) is a well-established method for clinical use. But just a few studies have investigated OERP in children and adolescents. The usability as well as differences of processing of olfactory stimuli in context with age and gender have not been well investigated so far.

Aim: Aim of the current study therefore was to investigate whether electrophysiological measurement of OERP can be assessed in children as young as three years of age and adolescents with a focus on possible OERP changes during development. A detailed analysis for differences between age and gender of the results have therefore been conducted.

Material and Methods: A total of 81 children and adolescents from the age of six to 17 years have been measured. Regarding to age, participants were divided into two age groups (A: 6-11 years; B: 12-17 years). First odor identification has been measured using the “sniffin’ kids” test. Secondly OERPs have been recorded using rose-like odor (PEA) from three electrodes (Fz, Cz, Pz) according to the 10/20 system. A total of 40 stimuli were presented using a computer-controlled olfactometer. One measurement, including the psychophysical and electrophysiological testing, lasted about an hour.

Results: Results of the psychophysical testing with the “sniffin’ kids” test included increasing identifications scores for older children/adolescents. An OERP was detected in 52 (64%) out of the 81 participants. Age had a significant effect on the amplitudes. For P2 as a component of the LP with younger children having higher amplitudes. Even though no influence of age on the latencies could be observed, interactions of the electrode position and latencies between younger and older children and between boys and girls were observed. The signal-to-noise ratio seemed to increase with age for girls but decreased with age for boys.

Conclusion: Measuring OERPs is well suitable for children aged six years and older. For children younger than six years of age, the method for obtaining OERPs used in the current study, is not adequate. Different reasons, for example the long duration of the measurement or irritation of the nasal mucosa, led to exclusion of these participants. Nevertheless, results

showed changing of central odor processing from childhood to adolescents as a sign of maturation of the brain.

6 Verzeichnisse

6.1 Literaturverzeichnis

Albrecht J, Wiesmann M. 2006. Das olfaktorische System des Menschen. *Nervenarzt* 77:931–939.

Allison T, Goff WR. 1967. Human cerebral evoked responses to odorous stimuli. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 23:558–560.

Mense S. 2010. ZNS- funktionelle Systeme. In: Aumüller G, Aust G, Doll A, Engele J, Kirsch J, Mense S, Reißig D, Salvetter J, Schmidt W, Schmitz F, Schulte E, Spaniel-Borowski K, Wolff W, Wurzinger LJ, Zilch HG. (Hrsg) *Duale Reihe Anatomie*. 2. Aufl. Thieme, Stuttgart. S. 1136-1139.

Bakker K, Catroppa C, Anderson V. 2016. Anosmia and olfactory outcomes following paediatric traumatic brain injury. *Brain Inj* 30:191–198.

Baur MA. 2010. Wahrnehmung unangenehmer Gerüche: Untersuchung alters- und geschlechtsspezifischer Unterschiede vor, während und nach der Pubertät. Technische Universität, Medizinische Fakultät Dresden, Dissertation.

Becker E, Hummel T, Piel E, Pauli E, Kobal G, Hautzinger M. 1993. Olfactory event-related potentials in psychosis-prone subjects. *Int J Psychophysiol* 15:51–58.

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

Buchner H, Milnik V. 2014. Allgemeine Methodik der evozierten Potentiale. In: Buchner H (Hrsg) *Praxisbuch Evozierte Potenziale: Grundlagen, Befundung, Beurteilung Und Differenzialdiagnostische Abgrenzung*. Thieme, Stuttgart. S. 18-29.

Cain WS. 1982. Odor identification by males and females: predictions vs performance. *Chem Senses* 7:129–142.

Cain WS, Goodspeed RB, Gent JF, Leonard G. 1988. Evaluation of olfactory dysfunction in the connecticut chemosensory clinical research center. *The Laryngoscope* 98:83–88.

Cameron EL, Doty RL. 2013. Odor identification testing in children and young adults using the smell wheel. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 77:346–350.

- Cavazzana A, Wesarg C, Schriever VA, Hummel T, Lundström JN, Parma V. 2017. A Cross-Cultural Adaptation of the Sniffin' Sticks Olfactory Identification Test for US children. *Chem Senses* 42:133–140.
- Chopra A, Baur A, Hummel T. 2008. Thresholds and chemosensory event-related potentials to malodors before, during, and after puberty: Differences related to sex and age. *NeuroImage* 40:1257–1263.
- Croy I, Nordin S, Hummel T. 2014. Olfactory Disorders and Quality of Life—An Updated Review. *Chem Senses* 39:185–194.
- Dalton P, Doty RL, Murphy C, Frank R, Hoffman HJ, Maute C, Kallen MA, Slotkin J. 2013. Olfactory assessment using the NIH Toolbox. *Neurology* 80:S32–S36.
- Doty RL, Applebaum S, Zusho H, Settle RG. 1985. Sex differences in odor identification ability: A cross-cultural analysis. *Neuropsychologia* 23:667–672.
- Doty RL, Deems DA, Stellar S. 1988. Olfactory dysfunction in parkinsonism: a general deficit unrelated to neurologic signs, disease stage, or disease duration. *Neurology* 38:1237–1244.
- Doty RL, Marcus A, William Lee W. 1996. Development of the 12-Item Cross-Cultural Smell Identification Test(CC-SIT). *The Laryngoscope* 106:353–356.
- Doty RL, Shaman P, Applebaum SL, Giberson R, Siksorski L, Rosenberg L. 1984a. Smell identification ability: changes with age. *Science* 226:1441–1443.
- Doty RL, Shaman P, Dann M. 1984b. Development of the university of pennsylvania smell identification test: A standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiol Behav* 32:489–502.
- Doty RL, Shaman P, Kimmelman CP, Dann MS. 1984c. University of pennsylvania smell identification test: A rapid quantitative olfactory function test for the clinic. *The Laryngoscope* 94:176–178.
- Dustman RE, Beck EC. 1969. The effects of maturation and aging on the wave form of visually evoked potentials. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 26:2–11.
- Evans WJ, Cui L, Starr A. 1995. Olfactory event-related potentials in normal human subjects: effects of age and gender. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 95:293–301.
- Evans WJ, Kobal G, Lorig TS, Prah JD. 1993. Suggestions for collection and reporting of chemosensory (olfactory) event-related potentials. *Chem Senses* 18:751–756.

- Fenwick PBC, Brown D, Hennesey J. 1981. The visual evoked response to pattern reversal in 'normal' 6–11-year-old children. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 51:49–62.
- Ferdon S, Murphy C. 2003. The cerebellum and olfaction in the aging brain: a functional magnetic resonance imaging study. *NeuroImage* 20:12–21.
- Finkenzeller P. 1966. Gemittelte EEG-Potentiale bei olfaktorischer Reizung. *Pflüg Arch Für Gesamte Physiol Menschen Tiere* 292:76–80.
- Forde NJ, Ronan L, Zwiers MP, Schweren LJS, Alexander-Bloch AF, Franke B, Faraone SV, Oosterlaan J, Heslenfeld DJ, Hartman CA, Buitelaar JK, Hoekstra PJ. 2017. Healthy cortical development through adolescence and early adulthood. *Brain Struct Funct* 1–11.
- Frank RA, Dulay MF, Gesteland RC. 2003. Assessment of the Sniff Magnitude Test as a clinical test of olfactory function. *Physiol Behav* 78:195–204.
- Frank RA, Dulay MF, Niergarth KA, Gesteland RC. 2004. A comparison of the sniff magnitude test and the University of Pennsylvania Smell Identification Test in children and nonnative English speakers. *Physiol Behav* 81:475–480.
- Frasnelli J, Hummel T. 2005. Olfactory dysfunction and daily life. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol Head Neck* 262:231–235.
- Geisler MW, Morgan CD, Covington JW, Murphy C. 1999. Neuropsychological Performance and Cognitive Olfactory Event-Related Brain Potentials in Young and Elderly Adults. *J Clin Exp Neuropsychol Neuropsychol Dev Cogn Sect A* 21:108–126.
- Geisler MW, Murphy C. 2000. Event-related brain potentials to attended and ignored olfactory and trigeminal stimuli. *Int J Psychophysiol* 37:309–315.
- Gellrich J, Stetzler C, Oleszkiewicz A, Hummel T, Schriever VA. 2017. Olfactory threshold and odor discrimination ability in children – evaluation of a modified “Sniffin’ Sticks” test. *Sci Rep* 7:.
- Giesen M, Mrowinski D. 1970. Klinische Untersuchungen mit einem Implus-Olfactometer. *Arch Hals-Nas-Kehlk Heilk* 196, 377–380.
- Haehner A, Boesveldt S, Berendse HW, Mackay-Sim A, Fleischmann J, Silburn PA, Johnston AN, Mellick GD, Herting B, Reichmann H, Hummel T. 2009. Prevalence of smell loss in Parkinson's disease – A multicenter study. *Parkinsonism Relat Disord* 15:490–494.
- Haehner A, Hummel T, Reichmann H. 2011. Olfactory Loss in Parkinson's Disease. *Park Dis* 2011:.

- Huart C, Rombaux P, Hummel T, Mouraux A. 2013. Clinical usefulness and feasibility of time-frequency analysis of chemosensory event-related potentials. *Rhinology* 51:210–221.
- Hugh SC, Siu J, Hummel T, Forte V, Campisi P, Papsin BC, Propst EJ. 2015. Olfactory testing in children using objective tools: comparison of Sniffin' Sticks and University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT). *J Otolaryngol - Head Neck Surg* 44:.
- Hummel T, Barz S, Pauli E, Kobal G. 1998. Chemosensory event-related potentials change with age. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Potentials Sect* 108:208–217.
- Hummel T, Bensafi M, Nikolaus J, Knecht M, Laing DG, Schaal B. 2007a. Olfactory function in children assessed with psychophysical and electrophysiological techniques. *Behav Brain Res* 180:133–138.
- Hummel T, Hummel C, Iannilli E, Baur A, Gerber J, Chopra A. 2012. Olfactory Processing in Children and Young Adults. *Chemosens Percept* 5:128–137.
- Hummel T, Klimek L, Welge-Lüssen A, Wolfensberger G, Gudziol H, Renner B, Kobal G. 2000. Chemosensorisch evozierte Potentiale zur klinischen Diagnostik von Riechstörungen. *Hno* 48:481–485.
- Hummel T, Kobal G. 2001. Olfactory Event-Related Potentials. In: Simon SA, Nicolelis MA (Hrsg) *Methods in Chemosensory Research*. CRC Press, Washington D.C. S. 429-464.
- Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A. 2007b. Normative data for the "Sniffin" Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects." *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol Off J Eur Fed Oto-Rhino-Laryngol Soc EUFOS Affil Ger Soc Oto-Rhino-Laryngol - Head Neck Surg* 264:237–243.
- 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.
- Hummel T, Welge-Lüssen A, Czesnik D, Damm M, Gudziol H. 2008. *Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie und therapeutische Ansätze*. Stuttgart; New York: Thieme. 176 p.
- Hüttenbrink K-B, Hummel T, Berg D, Gasser T, Hähner A. 2013. Olfactory Dysfunction: Common in Later Life and Early Warning of Neurodegenerative Disease. *Dtsch Ärztebl Int* 110:1–7.

- James Evans W, Cui L, Starr A. 1995. Olfactory event-related potentials in normal human subjects: effects of age and gender. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 95:.
- Kahle W, Frotscher M. 2009. Funktionelle Systeme. In: Kahle W, Frotscher M. (Hrsg) Taschenatlas Anatomie, Band 3: Nervensystem Und Sinnesorgane. 10. überarb. Aufl. Thieme, Stuttgart. S. 334-335.
- Klem GH, Lüders HO, Jasper HH, Elger C, others. 1999. The ten-twenty electrode system of the International Federation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 52:.
- Kobal G. 1981. Elektrophysiologische Untersuchungen Des Menschlichen Geruchssinns. Thieme, Stuttgart.
- Kobal G, Hummel C. 1988. Cerebral chemosensory evoked potentials elicited by chemical stimulation of the human olfactory and respiratory nasal mucosa. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Potentials Sect* 71:241–250.
- Kobal G, Hummel T, Van Toller S. 1992. Differences in human chemosensory evoked potentials to olfactory and somatosensory chemical stimuli presented to left and right nostrils. *Chem Senses* 17:233–244.
- Kobal G, Kettenmann B. 2000. Olfactory functional imaging and physiology. *Int J Psychophysiol* 36:157–163.
- Kobal G, Plattig K. 1978. Methodische Anmerkungen zur Gewinnung olfaktorischer EEG-Antworten des wachen Menschen (objektive Olfaktometrie). *Z EEG-EMG* 9, 135–145.
- Koelega HS, Köster EP. 1974. Some experiments on sex differences in odor perception. *Ann N Y Acad Sci* 237:234–246.
- Krauel K, Pause BM, Sojka B, Schott P, Ferstl R. 1998. Attentional modulation of central odor processing. *Chem Senses* 23:423–432.
- Kromer J, Hummel T, Pietrowski D, Giani AS, Sauter J, Ehninger G, Schmidt AH, Croy I. 2016. Influence of HLA on human partnership and sexual satisfaction. *Sci Rep* 6:.
- 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* 14:1455–1461.
- Liss L, Gomez F. 1958. The nature of senile changes of the human olfactory bulb and tract. *AMA Arch Otolaryngol* 67:167–171.

- Lötsch J, Hummel T. 2006. The clinical significance of electrophysiological measures of olfactory function. *Behav Brain Res* 170:78–83.
- Lüllmann-Rauch R. 2009. Geruchs- und Geschmacksorgane. In: Lüllmann-Rauch (Hrsg) Taschenlehrbuch Histologie. 3. vollst. überarb. Aufl. Thieme, Stuttgart. S. 556-557.
- Lundström JN, Frasnelli J, Larsson M, Hummel T. 2005. Sex differentiated responses to intranasal trigeminal stimuli. *Int J Psychophysiol* 57:181–186.
- Malnic B, Hirono J, Sato T, Buck LB. 1999. Combinatorial receptor codes for odors. *Cell* 96:713–723.
- Maruniak JA, Silver WL, Moulton DG. 1983. Olfactory receptors respond to blood-borne odorants. *Brain Res* 265:312–316.
- Miwa T, Furukawa M, Tsukatani T, Costanzo RM, DiNardo LJ, Reiter ER. 2001. Impact of Olfactory Impairment on Quality of Life and Disability. *Arch Otolaryngol Neck Surg* 127:497–503.
- Morgan CD, Covington JW, Geisler MW, Polich J, Murphy C. 1997. Olfactory event-related potentials: older males demonstrate the greatest deficits. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 104:351–358.
- Morgan CD, Geisler MW, Covington JW, Polich J, Murphy C. 1999. Olfactory P3 in young and older adults. *Psychophysiology* 36:281–287.
- Müller A, Landis BN, Zahnert T, Reichmann H, Hummel T. 2005. Riechen: Normale Funktion und Störungen. *Aktuelle Neurol* 32:15–27.
- Müller A, Müngersdorf M, Reichmann H, Strehle G, Hummel T. 2002. Olfactory function in Parkinsonian syndromes. *J Clin Neurosci* 9:521–524.
- Murphy C, Morgan CD, Geisler MW, Wetter S, Covington JW, Madowitz MD, Nordin S, Polich JM. 2000. Olfactory event-related potentials and aging: normative data. *Int J Psychophysiol* 36:133–145.
- Murphy C, Nordin S, Wijk RA de, Cain WS, Polich J. 1994. Olfactory-evoked potentials: assessment of young and elderly, and comparison to psychophysical threshold. *Chem Senses* 19:47–56.
- Nikolaus JC. 2009. Entwicklung und Validierung mehrerer neuartiger Verfahren zur psychophysischen und elektrophysiologischen Untersuchung des Riechvermögens von Kindern. Technische Universität, Medizinische Fakultät Dresden. Dissertation.

- Nordin S, Quiñonez C, Morgan CD, Geisler MW, Polich J, Murphy C. 1999. Olfactory Event-related Potentials in Young and Elderly Adults: Evaluation of Tracking Task versus Eyes Open/Closed Recording. *Chem Senses* 24:459–464.
- Pause BM, Krauel K. 2000. Chemosensory event-related potentials (CSERP) as a key to the psychology of odors. *Int J Psychophysiol* 36:105–122.
- Pause BM, Sojka B, Ferstl R. 1997. Central processing of odor concentration is a temporal phenomenon as revealed by chemosensory event-related potentials (CSERP). *Chem Senses* 22:9–26.
- Pause BM, Sojka B, Krauel K, Fehm-Wolfsdorf G, Ferstl R. 1996a. Olfactory information processing during the course of the menstrual cycle. *Biol Psychol* 44:31–54.
- Pause BM, Sojka B, Krauel K, Ferstl R. 1996b. The nature of the late positive complex within the olfactory event-related potential (OERP). *Psychophysiology* 33:376–384.
- Picton TW. 1988. Endogenous Event-Related Potentials. In: Picton TW. (Hrsg) *Handbook of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, Revised Series, Vol. 3*. Elsevier, Amsterdam. S. 361-426.
- Poletti SC, Michel E, Hummel T. 2017. Olfactory Training Using Heavy and Light Weight Molecule Odors. *Perception* 46:343–351.
- Porter RH, Balogh RD, Markin J. 1988. Olfactory influences on mother– infant interactions. In: Rovee-Collier C, Lipsitt, editors. *Advances in Infancy Research*. Vol. 5, Norwood NJ: Ablex, p 39–68.
- Qu Q, Liu J, Ni D, Zhang Q, Yang D, Wang N, Wu X, Han H. 2010. Diagnosis and clinical characteristics of congenital anosmia: case series report. *J Otolaryngol - Head Neck Surg J Oto-Rhino-Laryngol Chir Cervico-Faciale* 39:723–731.
- Richman RA, Post EM, Sheehe PR, Wright HN. 1992. Olfactory performance during childhood. I. Development of an odorant identification test for children. *J Pediatr* 121:908–911.
- Romantshik O, Porter R, Tillmann V, Varendi H. 2007. Preliminary evidence of a sensitive period for olfactory learning by human newborns. *Acta Pædiatrica* 96:372–376.
- Rotstein M, Stolar O, Uliel S, Mandel D, Mani A, Dollberg S, Reifen R, Steiner JE, Harel S, Leitner Y. 2015. Facial Expression in Response to Smell and Taste Stimuli in Small and Appropriate for Gestational Age Newborns. *J Child Neurol* 30:1466–1471.

- Sandford AA, Davidson TM, Herrera N, Gilbert P, Magit AE, Haug K, Gutglass D, Murphy C. 2006. Olfactory dysfunction: A sequela of pediatric blunt head trauma. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 70:1015–1025.
- Schaal B. 1988. Olfaction in infants and children: developmental and functional perspectives. *Chem Senses* 13:145–190.
- Schaal B, Marlier L, Soussignan R. 1998. Olfactory function in the human fetus: evidence from selective neonatal responsiveness to the odor of amniotic fluid. *Behav Neurosci* 112:1438–1449.
- Schaal B, Marlier L, Soussignan R. 2000. Human Foetuses Learn Odours from their Pregnant Mother's Diet. *Chem Senses* 25:729–737.
- Hatt H. 2010. Geschmack und Geruch In: Schmidt RF, Lang F, Heckmann (Hrsg) *Physiologie Des Menschen - Mit Pathophysiologie*. 31. Aufl. Springer Medizin Verlag, Heidelberg. S. 393-400.
- Schriever VA, Boerner C, Mori E, Smitka M, Hummel T. 2015. Changes of olfactory processing in childhood and adolescence. *Neuroscience* 287:15–22.
- Schriever VA, Góis-Eanes M, Schuster B, Huart C, Hummel T. 2014a. Olfactory Event-Related Potentials in Infants. *J Pediatr* 165:372–375.e2.
- Schriever VA, Mori E, Petters W, Boerner C, Smitka M, Hummel T. 2014b. The "Sniffin" Kids" test--a 14-item odor identification test for children." *PloS One* 9:e101086.
- Schriever VA, Studt F, Smitka M, Grosser K, Hummel T. 2014c. Olfactory function after mild head injury in children. *Chem Senses* 39:343–347.
- Silva LAF, Magliaro FCL, Carvalho ACM de, Matas CG, Silva LAF, Magliaro FCL, Carvalho ACM de, Matas CG. 2017. Maturation of long latency auditory evoked potentials in hearing children: systematic review. *CoDAS* 29:.
- Sorokowska A, Schriever VA, Gudziol V, Hummel C, Hähner A, Iannilli E, Sinding C, Aziz M, Seo HS, Negoias S, Hummel T. 2015. Changes of olfactory abilities in relation to age: odor identification in more than 1400 people aged 4 to 80 years. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol Off J Eur Fed Oto-Rhino-Laryngol Soc EUFOS Affil Ger Soc Oto-Rhino-Laryngol - Head Neck Surg* 272:1937–1944.
- Müller F, Kaupp UB. 2013. Olfaktorisches System. In: Speckmann E-J, Hescheler J, Köhling (Hrsg) *Physiologie*. 6. Aufl. Elsevier, München. S.155-160.

- Spronsen E van, Ebbens FA, Fokkens WJ. 2013. Olfactory function in healthy children: normative data for odor identification. *Am J Rhinol Allergy* 27:197–201.
- Steiner JE. 1979. Human Facial Expressions in Response to Taste and Smell Stimulation. *Adv Child Dev Behav* 13:257–295.
- Stevenson RJ. 2010. An Initial Evaluation of the Functions of Human Olfaction. *Chem Senses* 35:3–20.
- Tateyama T, Hummel T, Roscher S, Post H, Kobal G. 1998. Relation of olfactory event-related potentials to changes in stimulus concentration. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Potentials Sect* 108:449–455.
- Thesen T, Murphy C. 2001. Age-related changes in olfactory processing detected with olfactory event-related brain potentials using velopharyngeal closure and natural breathing. *Int J Psychophysiol* 40:119–127.
- Varendi H, Porter RH, Winberg J. 1994. Does the newborn baby find the nipple by smell? *The Lancet* 344:989–990.
- Villarreal SF, Martorell R, Mendoza F. 1989. Sexual maturation of Mexican-American adolescents. *Am J Hum Biol* 1:87–95.
- Wedekind C, Seebeck T, Bettens F, Paepke AJ. 1995. MHC-Dependent Mate Preferences in Humans. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 260:245–249.
- Whincup PH, Gilg JA, Odoki K, Taylor SJ, Cook DG. 2001. Age of menarche in contemporary British teenagers: survey of girls born between 1982 and 1986. *BMJ* 322:1095–1096.
- Wilson RS, Arnold SE, Schneider JA, Boyle PA, Buchman AS, Bennett DA. 2009. Olfactory Impairment in Presymptomatic Alzheimer's Disease. *Ann N Y Acad Sci* 1170:730–735.
- Winberg J, Porter RH. 1998. Olfaction and human neonatal behaviour: clinical implications. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992 87:6–10.
- Witt M, Hansen A. 2009. Strukturelle Und Funktionelle Grundlagen Des Riechens. In: Hummel T, Welge-Lüssen A. (Hrsg) *Riech- Und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie Und Therapeutische Ansätze*. Thieme, Stuttgart. S. 11-26.
- Yousem DM, Maldjian JA, Hummel T, Alsop DC, Geckle RJ, Kraut MA, Doty RL. 1999. The Effect of Age on Odor-Stimulated Functional MR Imaging. *Am J Neuroradiol* 20:600–608.

Zald DH, Pardo JV. 2000. Functional neuroimaging of the olfactory system in humans. *Int J Psychophysiol* 36:165–181.

6.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Sagittalschnitt durch die Nase.....	3
Abbildung 2: Schematische Darstellung des Riechepithels	4
Abbildung 3: Vordere Gehirnhälfte von kaudal.....	6
Abbildung 4: Schematische Darstellung der Riechbahn.	7
Abbildung 5: Schematische Darstellung eines Olfaktorisch Evozierten Potentials	12
Abbildung 6: Elektrodenpositionen nach dem 10/20 System.	13
Abbildung 7: Schematische Darstellung der Funktionsweise des Olfaktometers (modifiziert nach Hummel und Kobal 2001, In: Simon and Nicolelis, Methods in Chemosensory Research).....	21
Abbildung 8: Schematische Darstellung der Luftströme während der Reizpräsentation und des Interstimulusintervals (ISI), modifiziert nach Hummel und Kobal 2001, In: Simon and Nicolelis, Methods in Chemosensory Research.....	22
Abbildung 9: Beispiel eines Olfaktorisch Evozierten Potentials.....	29
Abbildung 10: Darstellung der Interaktion von N1-Latenz, Elektrodenposition und Geschlecht.	31
Abbildung 11: Darstellung der P2-Amplituden in Bezug zum Alter für die Elektrodenposition Cz.....	33
Abbildung 12: Interaktion der P2-Latenz, Elektrodenposition und Alter.....	34

6.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien zur Teilnahme an der Studie.....	17
Tabelle 2: Verteilung der Probanden in den Altersgruppen mit Geschlechterverteilung und Durchschnittsalter.....	27
Tabelle 3: Amplituden und Latenzen der Signalkomponente N1. Fehler! Textmarke nicht definiert.	
Tabelle 4: Amplituden und Latenzen der Signalkomponente P2.....	32

7 Veröffentlichungen und Konferenzen

- Schriever VA, Boerner C, Mori E, Smitka M, Hummel T. 2015. **Changes of olfactory processing in childhood and adolescence.** Neuroscience 287:15–22.
- Schriever VA, Mori E, Petters W, Boerner C, Smitka M, Hummel T. 2014. **The “sniffin’ kids” test- a 14-item odor identification test for children.** PLoS One 9:e101086.
- Teilnahme am **Annual Meeting AChemS 2014**
Posterpräsentation bei der Association for Chemoreception Sciences, Bonita Springs, Florida, USA (Travel Award der European Chemoreception Organization (Ecro))
- Teilnahme am Symposium **Clinical Chemosensation 2014**
Posterpräsentation, Dresden