

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde des
Universitätsklinikums Carl Gustav Carus Dresden
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Th. Zahnert

**Einfluss von HLA-Klasse-I-Übereinstimmungen und oralen
Kontrazeptiva auf die Wahrnehmung von Körpergerüchen
und die Partnerwahl**

Dissertationsschrift

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus
der Technischen Universität Dresden

von

Diana Pietrowski
aus Dessau

Dresden 2018

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der mündlichen Prüfung: _____

gez. Vorsitzender der
Promotionskommission

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	GRUNDLAGEN	3
2.1	Geschichte	3
2.2	Genetik.....	3
2.3	HLA Klasse I.....	7
2.3.1	Vorkommen und Funktion	7
2.3.2	Aufbau	7
2.3.3	Prozessierung.....	8
2.3.4	Interaktion	9
2.4	HLA Klasse II.....	9
2.4.1	Vorkommen und Funktion	9
2.4.2	Aufbau	10
2.4.3	Prozessierung.....	10
2.4.4	Interaktion	11
2.5	Nomenklatur	12
2.6	Olfaktorische Wahrnehmung der HLA-assoziierten Moleküle.....	13
2.7	Fragestellung und Hypothesen.....	15
3	MATERIAL UND METHODEN	17
3.1	Stichprobe	17
3.2	Untersuchungsdurchführung.....	17
3.3	Geruchsidentifikation.....	18
3.4	Geruchsschwelle	18
3.5	HLA-Typisierung.....	19
3.5.1	Materialgewinnung	19
3.5.2	Herauslösen der DNA.....	20
3.5.3	Vorbereitung zur PCR	20
3.5.4	PCR	22

3.5.5	Aufreinigung.....	23
3.5.6	Sequenzierung.....	24
3.6	„HLA-Matches“	26
3.7	T-Shirts	26
3.7.1	HLA-Übereinstimmungen der vorgegebenen T-Shirts	26
3.7.2	Bewertung des T-Shirt-Geruchs.....	27
3.7.3	Hormonstatus der Probandinnen.....	28
3.7.4	Lagerung der T-Shirts.....	29
3.8	Statistische Methoden.....	29
4	ERGEBNISSE.....	30
4.1	HLA-Übereinstimmungen der Partner-T-Shirts	30
4.2	Attraktivität in Abhängigkeit vom „HLA-Match“	31
4.3	Intensität in Abhängigkeit vom „HLA-Match“	34
4.4	Attraktivität in Abhängigkeit von der Einnahme oraler Kontrazeptiva	35
4.5	Attraktivität in Abhängigkeit vom Zykluszeitpunkt.....	37
4.6	Attraktivität des Partner-T-Shirts in Abhängigkeit von der Partnerschaftsdauer	38
4.7	Übereinstimmung von „subjektiv“ und „objektiv“ wahrgenommenem Körpergeruch des Partners	39
4.8	Attraktivität in Abhängigkeit vom Kinderwunsch	39
4.9	Attraktivität in Abhängigkeit von der Partneridentifikation	39
4.10	Kurzfassung Ergebnisse.....	40
5	DISKUSSION.....	41
5.1	Einfluss von HLA-Übereinstimmungen auf den allgemeinen und geschlechtsspezifisch wahrgenommenen Körpergeruch	41
5.1.1	Attraktivitätsbewertungen unserer Studie.....	41
5.1.2	Vergleich mit weiblichen Attraktivitätsbewertungen anderer Studien.....	42
5.1.3	Vergleich mit männlichen Attraktivitätsbewertungen anderer Studien	44
5.1.4	Vergleich mit Übersichtsarbeiten sowie nähere Beleuchtung der Hintergründe	44

5.1.5	Intensitätsbewertungen	47
5.2	Einfluss des weiblichen Hormonstatus auf die Bewertung von Körpergerüchen.....	47
5.2.1	Orale Kontrazeption.....	47
5.2.2	Menstruationszyklus	48
5.3	Einfluss des HLA-abhängigen Körpergeruchs auf verschiedene Partnerschaftsaspekte	49
5.4	Schlussfolgerungen	51
6	ZUSAMMENFASSUNG	52
7	SUMMARY.....	54
8	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	56
9	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	58
10	TABELLENVERZEICHNIS	59
11	LITERATURVERZEICHNIS.....	60
ANHANG		
	Verhaltensvoraussetzungen.....	66
	Bewertungsprotokoll.....	69
	Danksagung.....	71
	Erklärungen.....	72

1 Einleitung

Berlin, März 2013 – hunderte junge Leute riechen bei elektronischer Musik und Diskobeleuchtung an getragenen T-Shirts in Plastiktüten. Es findet Deutschlands erste „Pheromonparty“, veranstaltet von einer Online-Single-Börse, statt. In England und den USA ist es der Trend schlechthin... (frei wiedergegeben nach Klette, 2013)

Die ständige Suche nach dem Erfolgsrezept für die Wahl des optimalen Partners ist allgegenwärtig, wie auch das breite gesellschaftliche und mediale Interesse an dieser Thematik zeigt. Was dort schlichtweg als Pheromone bezeichnet wurde, muss bei genauerer Betrachtung eher als Einfluss vom Human Leukocyte Antigen (HLA) auf den Körpergeruch betrachtet werden. Es sollte jedoch nicht vergessen werden, dass dies nur ein Aspekt der vielfältigen Kriterien eines optimalen Partner ist, was sicherlich auch den ausgebliebenen Erfolg dieser Veranstaltung erklärt.

Wenn man sich der Hypothese der HLA-abhängigen Partnerwahl durch wissenschaftliche Recherche nähert, findet man neben einer Vielzahl an Artikeln über neu entdeckte HLA-Allele in den letzten Jahren, vor allem unzählige z.T. widersprüchliche Publikationen dazu. Dabei spiegelt dies die wichtige Rolle dieser unter Experten verschiedenster Fachbereiche extrem kontrovers diskutierten Thematik wider. Die Vergleichbarkeit der einzelnen Studien ist durch unterschiedliche und teilweise auch nicht im Einzelnen nachvollziehbare Methodik sowie den technischen Fortschritt extrem schwierig. Aber allein der Fakt, dass die Rolle von HLA-Molekülen in der sozialen Kommunikation und Interaktion seit über 40 Jahren erforscht wird und diesem auch weiterhin großes wissenschaftliches Interesse gilt, bestätigt die anhaltende aktuelle Brisanz. Es wird auch zukünftig von Bedeutung sein, die genauen Wechselwirkungen dieser Moleküle des Immunsystems mit dem molekularbiologischen, sensorischen und neurophysiologischen System von Säugetieren und Menschen im Speziellen mittels neuer technischer Methoden detailliert zu betrachten.

Anknüpfend an eine groß angelegte Studie über den Einfluss von HLA-Allelen auf die Partnerschaft und verschiedene Partnerschaftsaspekte (Kromer et al., 2016), welche mittels Fragebögen durchgeführt wurde, war es nun das Ziel, diesen Einfluss auf den Körpergeruch auch experimentell zu erforschen. Da sich unsere Testpaare alle in stabilen Partnerschaften befanden, wollten wir herausfinden, ob der Geruch des Partners wirklich am attraktivsten erscheint und wie sich HLA-Übereinstimmungen auf die Präferenz von Körpergerüchen auswirkt. Nachdem die vorhergehende Studie explizit die entscheidende Rolle des HLA-B und -C im Zuge solcher zwischenmenschlicher Interaktionen darstellen konnte, sollte dieser Zusammenhang auch mit Hilfe von Riechexperimenten überprüft werden. Weiterhin

beschäftigte mich die Frage, ob Frauen stärker als Männer durch olfaktorische Einflüsse geprägt sind und ob die Verwendung oraler Kontrazeptiva dabei Veränderungen hervorruft. Die von Jana Kromer gefunden Einflüsse von HLA-Merkmalen auf einige partnerschaftliche Aspekte, wie Partnerschaftsdauer und Kinderwunsch, sollten hierbei ebenfalls zusätzlich experimentell untersucht werden.

2 Grundlagen

2.1 Geschichte

Ende der 50er Jahre wurde erstmals festgestellt, dass Mehrgebärende und Personen, die Transfusionen erhalten hatten, sog. Alloantiseren besitzen. Es zeigte sich also, dass deren Seren mit fremden Leukozyten interagieren, indem diese Leukozyten agglutiniert oder lysiert werden. 1958 wurde dieses Merkmal auf den Leukozytenoberflächen erstmals von dem Pariser Arzt J. Dausset als „Mac“ beschrieben, wofür er 1980 den Medizin-Nobelpreis erhielt. Die Entdeckung des heutigen HLA-A2 fand jedoch damals noch keine weitere Beachtung. Im Jahr 1963 entdeckten J. van Rood und A. van Leeuwen weitere zwei Merkmale, welche damals als 4a und 4b bezeichnet wurden und verschiedensten Subgruppen des heutigen HLA-B entsprechen. Ab diesem Zeitpunkt konnten große Fortschritte erzielt werden, so dass schlussendlich 1965 der erste internationale Histocompatibility Workshop in Durham, North Carolina, USA, stattfand. Dort wurde dann die Notwendigkeit für eine standardisierte Nomenklatur erkannt und ein erstes Komitee gewählt. Beim nächsten Workshop zwei Jahre später beschlossen die Mitglieder die Verwendung von HL-A zur Klassifikation der Hauptgruppen von Leukozytenantigenen. Im darauffolgenden Jahr wurden die ersten acht Antigene benannt. 1975 verstand man, dass das damalige HL-A eigentlich zwei verschiedene Genprodukte sind und verwendete ab sofort HLA zur Nomenklatur. Das ursprüngliche HL-A wurde nun explizit HLA-A und HLA-B genannt (Fischer und Mayr, 2010). Seitdem fanden noch viele weitere Workshops statt, welche den Grundstein für die weltweite Standardisierung der Nomenklatur, der Untersuchungsmethoden und der biologische Bedeutung im Allgemeinen darstellen. Auch die Etablierung einheitlicher Untersuchungsmethoden trug dazu bei. Es wurden anfänglich mikrolymphozytische Tests und später PCR zur Typisierung angewendet.

2.2 Genetik

Die HLA-Moleküle werden von Genen kodiert, die im Major Histocompatibility Complex (MHC) liegen. Dieser ist auf dem p21.31-Band des Chromosoms 6 gelegen und umfasst klassisch 3,6 Mb mit 224 Loci (Consortium, 1999). Seit 2004 wurde der „erweiterte (extended) MHC“ (xMHC) sequenziert, welcher weitere in der Nähe befindliche MHC-relevante Gene beinhaltet und sich über eine Länge von 7,6 Mb mit 421 Loci erstreckt (Horton et al., 2004). Diese Region weist bei allen Individuen eine hohe Gendichte und einen extrem hohen Grad an Polymorphismen auf (Ka et al., 2017). Insgesamt konnten bisher über

17695 verschiedene HLA-Allele identifiziert werden (Stand 02/2018, HLA Nomenclature @ hla.alleles.org). Unterteilen lässt sich dieser Bereich des menschlichen Genoms in drei klassische Bereiche: Klasse I, II und III. Zusätzlich zählen seit 2004 zwei weitere Bereiche dazu, wodurch sich der xMHC in insgesamt fünf Subregionen gliedert. Vom Zentromer zum Telomer sind diese in folgender Reihenfolge angeordnet: erweiterte Klasse-II-, klassische Klasse-II-, klassische Klasse-III-, klassische Klasse-I- und erweiterte Klasse-I-Subregion (s. Abb. 1).

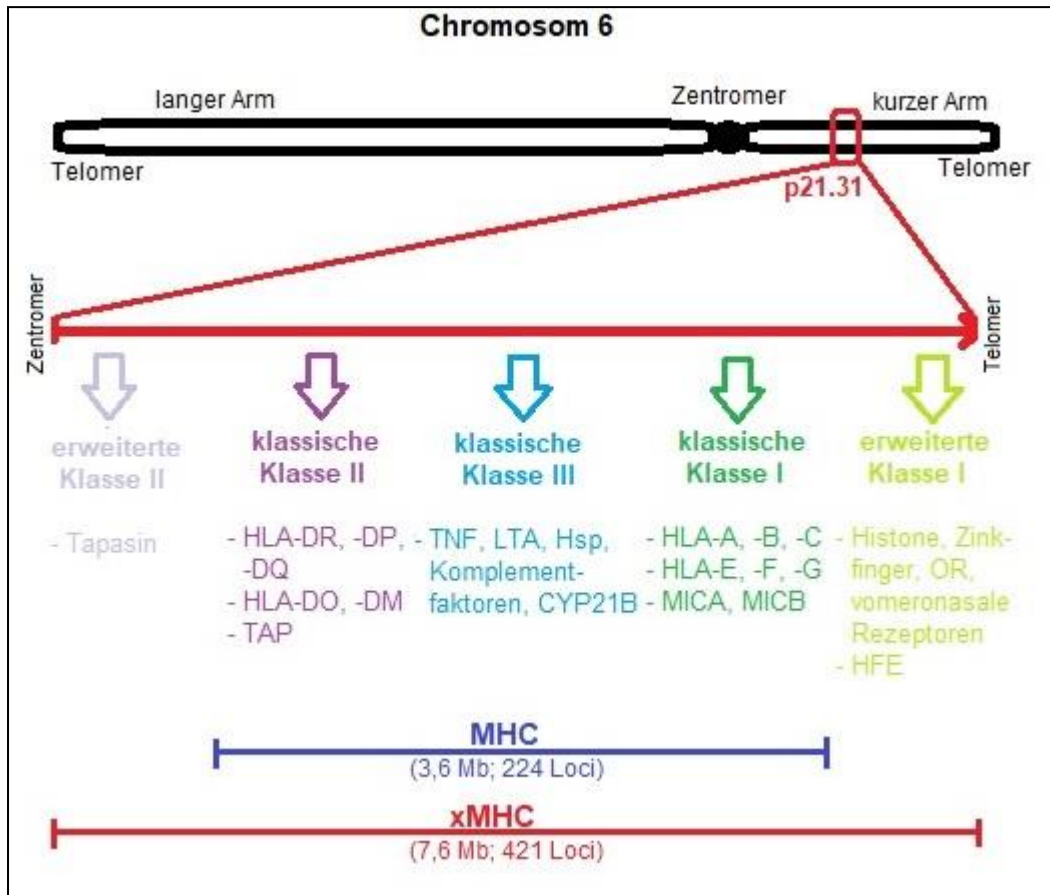


Abb. 1: vereinfachte schematische Darstellung des Major Histocompatibility Complex mit seinen Abschnitten und den dort gelegenen Genen. Der MHC befindet sich auf der p21.31 Bande des Chromosoms 6. Von zentromer nach telomer findet man im klassischen MHC (dunkelblau gekennzeichnet) die Klasse-II-Region (lila), gefolgt von der Klasse-III- (türkis) und Klasse-I-Region (grün). Zum erweiterten MHC (extended MHC, xMHC, rot gekennzeichnet) gehören zusätzlich noch die erweiterte Klasse-II-Region (helllila), noch vor der klassischen Klasse-II-Region gelegen und die erweiterte Klasse-I-Region (hellgrün), welche sich an die klassische Klasse-I-Region anschließt. Unter den jeweiligen Subregionen sind die wichtigsten jeweiligen dort enthaltenen Gene aufgeführt (keine vollständige Darstellung aller Gene).

Dem Zentromer am nächsten gelegen ist die **erweiterte Klasse-II-Region**, welche einige für die Immunabwehr relevante Gene beherbergt. Bspw. befindet sich dort der Genort für

Tapasin, einem Protein, das im Lumen des ER (endoplasmatisches Retikulum) sowohl an TAP (transporter associated with antigen processing) als auch an leere HLA-I-Moleküle bindet und so zur Bindung von Proteinen an Klasse-I-Molekülen beiträgt (Rieber und Roers, 2010)

Es schließt sich der etwa 900 kb umfassende **klassische Klasse-II-Bereich** an. In diesem sind die Genorte für die drei klassischen HLA-II-Moleküle, HLA-DR, -DP, -DQ, vorzufinden, wobei es jeweils ein A- und ein B-Gen für die α - und β -Kette der fertigen Moleküle gibt. Eine Ausnahme stellt das -DR-Gen dar. Bei dieser Subklasse ist das A-Gen monomorph, das B-Gen mit einer Vielzahl an verschiedenen Ausprägungen jedoch sehr polymorph. Durch weitere neue Forschungsfortschritte können und konnten noch weitere Allele dieser Region identifiziert werden, welche jedoch z.T. auch als Pseudogene fungieren und somit die Zahl an biologisch relevanten HLA-Varianten nicht gleichzusetzen ist mit der Anzahl der einzelnen Allele (Horton et al., 2004). Zwischen der -DP-Region und der -DQ-Region liegen weitere für die Prozessierung von Antigenen relevante Gene, deren Produkte für den Peptidtransport durch die ER-Membran während des Beladungsvorgangs von HLA-I-Molekülen zuständig (TAP) sowie am Immunproteasom beteiligt (proteasome subunit β -type, PSMB) sind und deshalb auch besonders durch IFN- γ (Interferon- γ) induziert werden (Fischer und Mayr, 2010; Kayser et al., 2014). Auch die Gene der nichtklassischen Klasse-II-Moleküle HLA-DM, welches die Peptidbeladung von HLA-II-Molekülen im ER katalysiert, und HLA-DO, welches die DM-Funktion moduliert, gehören zu dieser Subregion (Mellins und Stern, 2014).

Weiter Richtung Telomer ist die **Klasse-III-Region** gelegen. Sie umfasst mehr als 36 Gene und die daraus entstehenden Produkte (C21-Steroid-Hydroxylase, C3-Konvertase, Hsp70-2 und Hsp70-1, TNF- α und LT α) spielen eine entscheidende Rolle im Prozess und der Regulation der Immunantwort. Zu ihren vielfältigen Funktionen zählen: Reaktion auf zellulären Stress, Aktivierung des angeborenen Immunsystems, Proteinfaltung, intrazellulärer Transport von Proteinen, Produktion von proinflammatorischen Zytokinen in Monozyten bzw. Makrophagen sowie Ausschüttung deren zelleigener Entzündungsmediatoren (Fischer und Mayr, 2010; Kayser et al., 2014)

Die sich anschließende **klassische Klasse-I-Region** ist am weitesten Richtung Telomer gelegen. Sie beherbergt neben den klassischen Klasse-Ia-Gene (HLA-A, -B, -C) auch noch weitere nichtklassische Klasse-Ib-Gene (HLA-E, -G, -F) sowie „MHC class-I-like genes“ (MIC-Gene) (Horton et al., 2004). Die klassischen, welche von Zentromer nach Telomer in der Reihenfolge HLA-B, HLA-C, HLA-A vorzufinden sind, befinden sich in großem Abstand zueinander. Zwischen -B und -A liegen über 1200 kb und auch ein hoher Grad an Polymorphismus ist an dieser Stelle zu verzeichnen. So existieren bspw. über 4000 Varianten des HLA-B (Robinson et al., 2017), welches dem höchsten Polymorphismusgrad im gesamten menschlichen Genom entspricht (Mungall et al., 2003). Zwischen HLA-C und

HLA-A liegt der HLA-E-Locus. Dies ist der Bereich des MHC mit dem geringsten Polymorphismus. Das Genprodukt interagiert mit anderen HLA-I-Molekülen und Nk-Zell-Rezeptoren (natürliche Killerzellen). Dabei wird sowohl über inhibitorische (Braud et al., 1998) als auch aktivierende (Rölle et al., 2014) Rezeptoren Einfluss auf die Aktivität der Nk-Zellen genommen. Auf dem Chromosomen folgt anschließend HLA-G, welches physiologisch auf dem Zytotrophoblast exprimiert wird und dem Schutz des Kindes vor maternalen zytotoxischen Zellen dient (Rouas-Freiss et al., 2000). Nachfolgend zeigt sich die kodierende Region des HLA-F. Das Genprodukt wird vorrangig in lymphatischen Geweben (Tonsillen, Milz, Thymus) exprimiert und scheint durch Interaktion mit NK-Zell-Rezeptoren das Immunsystem während der Schwangerschaft und Infektionen zu regulieren sowie nach neuen Erkenntnissen auch selber große Proteine zu präsentieren (Dulberger et al., 2017). Des Weiteren sind über die gesamte Spanne der Klasse-I-Region noch verschiedenen MIC-Gene verteilt, welche bei zellulärem Stress IFN- γ -unabhängigen von Fibroblasten und Epithelzellen exprimiert werden.

Die größte räumliche Nähe zum Telomer weist die **erweiterte Klasse-I-Region** auf. Dort befinden sich Gene, deren Produkte eng an die Vererbung, Funktion und Wahrnehmung von HLA-Molekülen geknüpft sind. Bspw. ist dort eine Vielzahl an Histongenen gelegen, welche den Kern von Nukleosomen und somit die strukturelle und funktionelle Grundeinheit des Chromatins im Zellkern darstellen. Über deren Modifikation kann auch die Genexpression selbst gesteuert werden.

Weiterhin ist dies auch der Genort für einige Zinkfingerproteine. Diese erfüllen vielfältige Funktionen und können als Enzyme, Speicherproteine, Beteiligte der Replikation und Transkriptionsfaktoren fungieren (Horton et al., 2004)

Sogar das Gen eines weiteren nichtklassischen HLA-I-Moleküls, HFE, dessen Produkt ursprünglich lediglich als wichtiger Teil des Eisentransports angesehen wurde, befindet sich in diesem Bereich. Es wird an Zellen des Gastrointestinaltrakts exprimiert und bindet im ER stabil an den Transferrin-Rezeptor. Diese Bindung bleibt bis zur Zelloberfläche erhalten, wodurch der Rezeptor bis dorthin freigehalten wird. Weiterhin wird so die Rezeptorinternalisierung nach Bildung des Transferrin-Eisenkomplexes gehemmt. Neuere Studien weisen dem HFE jedoch, obwohl es selbst keine Peptide präsentieren kann, es aber wohl zur Erkennung durch und Interaktion mit T-Zellen kommt, eine Verbindung des angeborenen und erworbenen Immunsystems zu (Reuben et al., 2017).

Interessanterweise sind auch die Gene für olfaktorische und vomeronasale Rezeptoren in größter Nähe zum klassischen MHC gelegen (Horton et al., 2004).

Vererbt wird der komplette MHC-Lokus meist „en bloc“. Weiterhin lässt sich sagen, dass die Mehrzahl der Menschen einen heterozygoten HLA-Haplotyp besitzt. Dabei können die verschiedenen HLA-Typen je nach Ausprägung ihrer Peptidbindungsgrube unterschiedliche

Spektren an Peptiden repräsentieren. Dadurch und durch die Vielzahl an existierenden Klasse-I und Klasse-II-Moleküle erhöht sich die Zahl präsentierbarer Antigene. Dieser Polymorphismus entwickelte sich evolutionär, um auf die Vielzahl der Pathogene von Parasiten und Viren reagieren zu können, selbst wenn sich diese durch diverse Mechanismen, um dem Immunsystem entkommen zu können, immer weiterentwickeln. Nicht im MHC, sondern auf Chromosom 15 lokalisiert, ist das Gen für β_2 -Mikroglobulin, welches an der Struktur des HLA I-Moleküls beteiligt ist (Fischer und Mayr, 2010).

2.3 HLA Klasse I

2.3.1 Vorkommen und Funktion

Die HLA I-Moleküle befinden sich an der Membranoberfläche fast aller kernhaltigen Zellen. Ausnahmen stellen dabei ZNS-Neurone, Zellen des exokrinen Pankreas, Cornea-Endothel-Zellen und Synzytiotrophoblastenzellen dar. Die Moleküle präsentieren den zytotoxischen CD8-Zellen Peptide aus dem Zellinnerem, welche beim Abbau körpereigener Strukturen oder intrazellulärer Mikroorganismen entstehen. Dabei handelt es sich um zytoplasmatisch existierende Viren und einzelne Bakterienarten oder in Vesikeln enthaltene intrazellulär wachsende Bakterien, wie Mykobakterien, Legionellen und Salmonellen, sowie Protozoen (Rieber und Roers, 2010).

2.3.2 Aufbau

Die Klasse-I-Moleküle bestehen aus der membranständigen α -Kette, welche mit 44kDa und 350 Aminosäuren auch als schwere Kette bezeichnet wird und dem nichtkovalent gebundenen β_2 -Mikroglobulin (s. Abb. 2). Dieses besteht aus 99 Aminosäuren und ist mit 12 kDa die leichte Kette. Die α -Kette weist dabei drei extrazelluläre Domänen auf, wovon die α_1 -Kette und α_2 -Kette eine Peptidbindungstasche für ein Peptidstück von 8 bis 12 Aminosäuren bilden. Strukturell besteht die Tasche aus jeweils vier antiparallel verlaufenden β -Strängen, welche den Boden bilden, mit anschließenden C-terminalen α -Helices, welche die Wände darstellen. In der Antigenbindungsgrube sind die Aminosäuren der beiden Ankerpositionen individuell je nach exprimiertem Molekül und Haplotyp variabel. Die α_3 -Domäne wird durch ein Transmembranstück mit kurzem intrazellulärem, zytoplasmatischem Anteil gebildet. Weiterhin stellt diese Domäne die Bindungsstelle für die CD8-Zellen dar. Die Molekülstruktur wird durch das β_2 -Mikroglobulin stabilisiert, ohne das keine Expression auf Zelloberfläche möglich ist (Fischer und Mayr, 2010; Rieber und Roers, 2010).

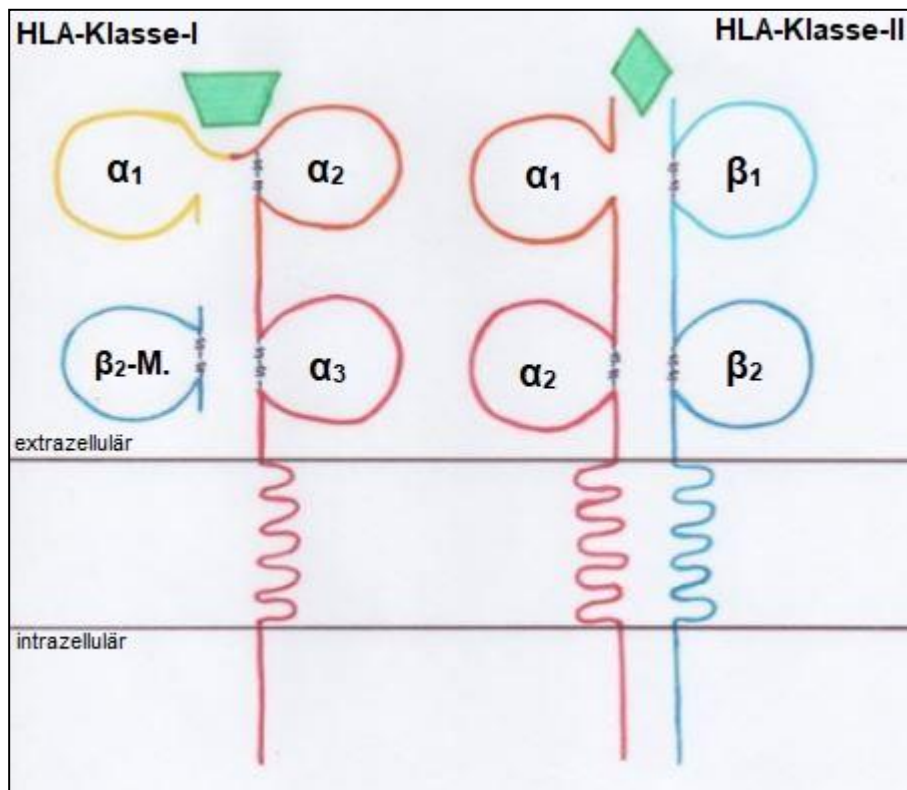


Abb. 2: Schematische Darstellung des Aufbaus von HLA-Klasse-I- und -Klasse-II-Molekülen. Die Klasse-I-Moleküle (links) bestehen aus einer α -Kette mit drei Domänen, wobei die α_1 - und α_2 -Kette die Peptidbindungstasche bilden und werden durch das assoziierte β_2 -Mikroglobulin (β_2 -M.) stabilisiert. Die α_3 -Domäne bildet den transmembranösen Anker. Die Klasse-II-Moleküle (rechts) bestehen aus einer α - und einer β -Kette. Bei diesen wird die Peptidbindungsgrube von der α_1 - und β_1 -Domäne geformt. Die α_2 - und β_2 -Domäne stellen dabei die Verankerung in der Membran und den Kontakt nach intrazellulär dar.

2.3.3 Prozessierung

Nach Bildung der α -Kette im ER kommt es mit Hilfe von Chaperonen (Calnexin) und Faltungsenzymen zur Faltung in Tertiär- und Quartärstruktur sowie zur stabilisierenden Assoziation an β_2 -Mikroglobulin. Die endgültige Form kommt jedoch erst nach der Bindung von Peptiden zustande.

Im Proteasom, welches der Entsorgung fehlgefalteter Proteine sowie der Erschaffung präsentierbarer Peptide dient, kommt es regulär nach vorheriger Poly-Ubiquitylierung oder im Falle einer Virusinfektion durch Induktion spezifischer Proteasen zum Abbau der notwendigen Proteine. Bei Infektionen entsteht unter Einfluss von Interferonen ein sogenanntes Immunproteasom, das zur verstärkten Präsentation von abgebauten Peptiden und somit zur besseren T-Zell-Erkennung beiträgt. Bereits im Proteasom werden die Peptide so zersetzt, dass sie eine für die Bindungsgrube des HLA-I-Moleküls passende Länge

aufweisen. Die gespaltenen Fragmente werden anschließend mittels TAP-Transportkomplex durch die ER-Membran ins Lumen transportiert, wo sie unter Einfluss von Tapasin an die Peptidbindungstasche des MHC-I gebunden werden. Dieser Komplex gelangt nachfolgend durch Bindung an den Golgi-Apparat über Trans-Golgi und Transportvesikel an die Zelloberfläche, wo es schlussendlich zur Präsentation des Antigens kommt (Kayser et al., 2014; Dörries und Hof, 2017)

2.3.4 Interaktion

An der Zelloberfläche findet dann die Bindung von zytotoxischen T-Zellen statt. Es bildet sich ein trimolekularer Komplex aus dem HLA-Molekül, dem präsentierten Antigen und dem T-Zell-Rezeptor aus. Zur Auslösung einer Immunantwort kommt es jedoch erst durch die Bindung des sogenannten Corezeptors CD8. Dies ist eine Art Erkennungsmolekül auf der Oberfläche von zytotoxischen T-Zellen. Handelt es sich bei dem präsentierten Antigen um körpereigenes Material, werden die Nk-Zellen, welche die T-Zell-vermittelte Immunantwort komplettieren, durch inhibitorische Rezeptoren daran gehindert die jeweilige Zelle zu töten. Ist die Zelle jedoch infiziert, wird durch Granzyme, Perforine und über den Fas-Ligand von Nk- und zytotoxischen Zellen die Apoptose mittels Caspasen induziert. Diese Reaktion kann durch Entzündungsmediatoren und Zytokine (v.a. IFN- α , - β , - γ) hochreguliert werden (Fischer und Mayr, 2010).

Bei Zellstress kann jedoch auch eine gesteigerte Nk-Zell-Reaktion mittels aktivierender Signale induziert werden („induced self“ –Theorie). Kommt es durch den Einfluss diverser Erreger zu einer verminderten Dichte von präsentierenden HLA-Rezeptoren, fehlen dadurch auch die inhibitorischen Signale und es kommt somit trotzdem zum Zelltod („missing self“-Theorie). Im Allgemeinen ist bei Nk-Zellen im Gegensatz zu T-Zellen keine vorherige Aktivierung für deren Funktion notwendig. (Rieber und Roers, 2010)

2.4 HLA Klasse II

2.4.1 Vorkommen und Funktion

Die MHC-II-Moleküle kommen auf allen auf Antigen-präsentierenden Zellen (APC), also dendritische Zellen, B-Zellen und aktivierte Makrophagen bzw. Monozyten vor. Diese bewirken eine Immunantwort durch unspezifische kontinuierliche Darstellung des extrazellulären Milieus mittels permanenter Pinozytose oder durch Präsentation von gezielt phagozytierten Pathogenen. Dabei wird die Makrophagenaktivität erhöht und es kommt zur

gezielten Abwehr mittels B-Zell-Antwort, welche durch CD4-positive T-Zellen in Gang gesetzt wird.

Die Klasse-II-Moleküle kommen auch in Thymusepithelzellen vor, wo sie vorwiegend der Selektion von T-Zellen dienen. Es kommt zur negativen Selektion bei Nichterkennen von HLA-Komplexen und wiederum zur positiven Selektion von T-Zellen, die einen Antigenrezeptor haben, mit welchem körpereigene HLA-Moleküle erkannt werden (Rieber und Roers, 2010).

2.4.2 Aufbau

Die Moleküle dieser HLA-Klasse bestehen aus zwei transmembranösen Ketten, der α - und der β -Kette (s. Abb. 2). Die Ketten setzen sich aus jeweils zwei etwa 90 bis 100 Aminosäuren messenden extrazellulären Domänen, einer Transmembrandomäne (etwa 23 Aminosäuren) und einem kurzen zytosolischen Endstück zusammen. Diese sind nichtkovalent miteinander assoziiert und bilden zwischen den membranfernen Domänen, also der α_1 -Kette und β_1 -Kette, eine Peptidbindungsgrube aus. Dieser Bereich ist sehr polymorph, da es dort zu einer Koexistenz von β -Faltblatt und α -Helix kommt. Diese Moleküle besitzen also keine spezifischen Bindungstaschen am Anfang und Ende der Bindungsgrube und benötigen auch keine spezielle funktionelle Gruppe zur Antigenbindung. Weiterhin ist die HLA-II-Bindungsgrube dort auch offener an den Seiten und so ist die Bindung von Peptiden, die länger als die Bindungsgrube sind, möglich. Diese umfassen meist 14 bis 24 Aminosäuren, es können aber auch größere Peptide bis hin zu ganzen Eiweißmolekülen sein. Durch die damit verbundene höhere Flexibilität der Peptidbindung im Gegensatz zu den HLA-I-Molekülen ist eine Vorhersage der Ankerposition bzw. des zu bindenden Peptids schwierig. Somit ist eine Vielzahl an verschiedenen Peptiden denkbar, die unter der Voraussetzung von gleicher oder ähnlicher Ankerposition gebunden werden könnten. Die α_2 -Kette und die β_2 -Kette ähneln in ihrer Struktur dagegen sehr den konstanten Domänen von Immunglobulinen. Weiterhin stellt die β_2 -Domäne die Bindungsstelle für CD4-Moleküle dar (Fischer und Mayr, 2010; Dörries und Hof, 2017).

2.4.3 Prozessierung

Die Expression wird v.a. durch IFN- γ induziert, wird jedoch auch durch andere Zytokine, Entzündungsmediatoren, Immunkomplexe, bakterielle Toxine und Viren hochreguliert. Dabei kommt es durch CIITA (MHC class II transactivator) zur Aktivierung der Transkription. Die neusynthetisierte α - und β -Kette werden dann im ER mithilfe von Chaperonen (Calnexin)

gefalten. Um eine vorzeitige bereits im ER stattfindende Peptidbindung zu vermeiden, ist die Bindungsgrube dort durch das spezielle Peptid CLIP (class II-associated invariante chain peptide) besetzt. Diese invariante Kette stabilisiert außerdem das gerade gebildete Heterodimer und ist bei dem sich anschließenden Transport ins Endosomen behilflich. Die durch Endozytose, Phagozytose oder Pinozytose aufgenommenen extrazellulären Erreger fusionieren intrazellulär mit dem Lysosomen und werden durch den Kontakt mit dem dort vorherrschenden sauren Milieu und Endoproteasen, wie bspw. Cathepsinen, zu Peptiden prozessiert. Auch CLIP wird dort, katalysiert durch HLA-DM, zersetzt, sodass die entstanden Peptide an das HLA-Molekül binden können. Anschließend wird dieser Komplex zur Plasmamembran transferiert und die aus dem Extrazellulären aufgenommenen Bestandteile werden präsentiert (Kayser et al., 2014).

2.4.4 Interaktion

Zur Erkennung des HLA-Antigen-Komplexes durch die T-Zelle ist auch hier ein Corezeptor, in diesem Fall CD4, notwendig. Die nachfolgend ausgelöste Reaktion ist von der Art der präsentierenden Zelle abhängig. Eine Sonderrolle nehmen dabei die dendritischen Zellen ein, da diese nach Antigenkontakt als einzige in der Lage sind naive T-Zellen zu aktivieren. Dies stellt die Grundvoraussetzung für die adaptive Immunantwort dar. Je nach Ausdifferenzierung kommt es zu unterschiedlichen Abwehrmechanismen. Die wichtigsten CD4-positiven Zellpopulationen sind dabei Th1-, Th2- und Th17-Zellen. Zu welcher Spezies die T-Zelle ausdifferenziert, hängt wiederum von den sezernierten Botenstoffen ab. Unter dem Einfluss von Interleukin-12 bspw. entsteht eine Th1-Zelle, welche bei Kontakt mit dem HLA-Antigen-Komplex auf der Oberfläche von Makrophagen zu deren Aktivierung führt. Da z.B. bei Mykobakterien die normale Phagozytose nicht ausreichend zur Vernichtung dieser ist, wird die Phagozytoseeffizienz auf Grund dessen durch IFN- γ und TNF gesteigert. Kommt es zur Bindung von Th2-Zellen, werden über diverse Effektorstoffe eosinophile und basophile Granulozyten rekrutiert, was besonders in der Abwehr von Helminthen eine Rolle spielt. Dazu trägt auch der durch diese Zellpopulation in der B-Zelle induzierte Klassenwechsel v.a. zu IgE bei.

Bei der Infektion durch bakterielle Erreger, Pilze oder Parasiten kommt es durch die Th17-Zellen im Knochen zyto- und chemokinvermittelt zur Stimulation der Neutrophilen- und Monozytenproduktion.

Insgesamt sind die CD4-positiven T-Helfer-Zellen entscheidend an der Aktivierung von B-Zellen beteiligt. Diese Aktivierung geht in zwei Stufen von statten. Das erste Aktivierungssignal wird durch die Bindung eines intakten Antigens an den B-Zell-Rezeptor ausgelöst. Nach anschließender Internalisierung, Prozessierung und HLA-II-abhängigen

Präsentation der entstandenen Peptide, kommt es zur Interaktion mit den T-Helfer-Zellen. Die Ausbildung eines Komplexes aus HLA-II, Antigen und T-Zell-Rezeptor stellt das zweite Aktivierungssignal dar. Um dabei jedoch endgültig eine B-Zell-Aktivierung auszulösen ist auch hier eine Costimulation von Nöten. Hierzu ist eine Interaktion zwischen dem CD40-Ligand, welcher sich auf der T-Zell-Oberfläche befindet, und dem CD40-Rezeptor auf der B-Zelle notwendig. In Folge der Aktivierung kommt es zur klonalen Expansion der B-Zelle. Es entstehen IgM-sezernierende Plasmazellen, welche v.a. der akuten Abwehr dienen, und Gedächtniszellen, welche bei später erneut auftretender Infektion eine schnellere Immunabwehr ermöglichen (Rieber und Roers, 2010; Dörries und Hof, 2017).

2.5 Nomenklatur

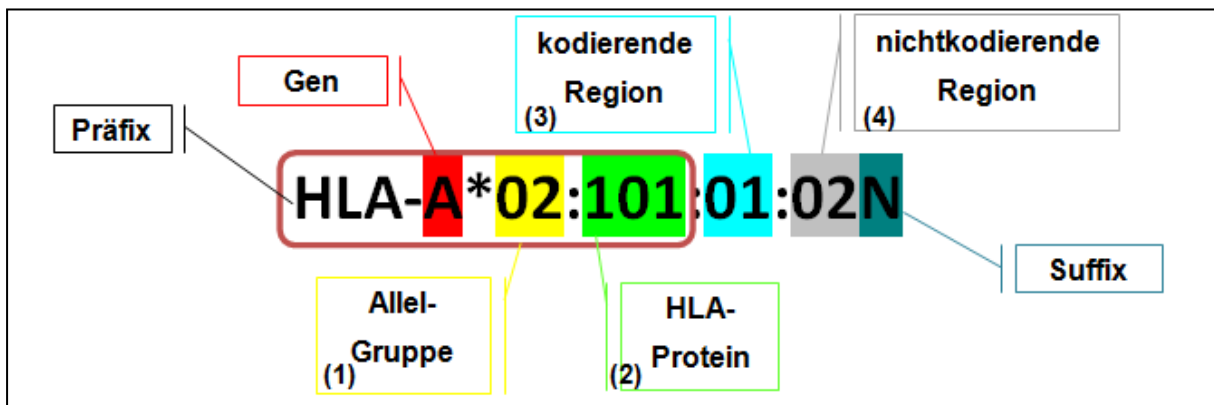


Abb. 3: Nomenklatur. Nach dem Präfix HLA folgt ein Großbuchstabe, der das jeweilige Gen beschreibt. Die nachfolgenden Zahlen beschreiben die individuellen HLA-Merkmale genauer. Die erste Zahl (1) gibt die Allelhauptgruppe an, welche durch die nächste Zahl (2) genauer charakterisiert wird, da diese das spezifische HLA-Protein widerspiegelt. Am Ende befinden sich Ziffern, welche einen Austausch der DNA bei gleichbleibendem Produkt in der kodierenden Region (3) sowie Unterschiede in den nichtkodierenden Regionen (4) wiedergeben. Unter Umständen findet man abschließend einen weiteren Großbuchstaben vor, der Veränderungen in der Expression anzeigt. Der rote Rahmen verdeutlicht hierbei, welche Teile des jeweiligen HLA-Codes zur Auswertung auf dem „four digit level“ (s. Material und Methoden) herangezogen wurden. (modifiziert nach SGE Marsh)

Die Nomenklatur wird durch das WHO-Nomenklatur-Komitee vorgegeben. Bei der offiziellen Nomenklatur (s. Abb. 3) folgt nach dem HLA-Präfix ein Großbuchstabe, der den HLA-Locus und somit das Gen näher beschreibt. An den darauffolgenden Separator „*“ schließt sich eine Zahl an, welche die Allelhauptgruppe angibt. Diese wird, durch einen Doppelpunkt „:“ getrennt, von der Zahl für das spezifische Allel gefolgt. Zwei weitere Zahlenfelder, welche ebenfalls jeweils durch „:“ getrennt sind, schließen sich an. Dabei spiegelt das erste dieser beiden eine Mutation im kodierenden Bereich bei jedoch gleichbleibendem Genprodukt wider und die letzten Ziffern geben Mutationen in der nichtkodierenden Region an. Unter

Umständen endet der HLA-Code mit einem Suffix, welches eine Veränderung in der Expression darstellt. Die verbreitetsten sind dabei „N“ und „L“. Diese stehen für ein Nullallel, also ein Allel, das nicht exprimiert wird und „Low expression“, also ein Allel, das signifikant weniger exprimiert wird. Diese ausführliche Angabe des HLA-Codes wird bei molekulargenetischen Verfahren verwendet. Bei serologischer Testung endet die Bezeichnung mit der Zahl der Allelgruppe, welche hierbei ohne Trennung folgt (Fischer und Mayr, 2010; Marsh et al., 2010).

2.6 Olfaktorische Wahrnehmung der HLA-assoziierten Moleküle

Die Sinnesqualität „Riechen“ ist sowohl bei Säugetieren im Allgemeinen als auch beim Menschen im Speziellen von großer Tragweite. Beeinflusst es doch neben dem Nahrungsverhalten insbesondere das soziale Verhalten und menschliche Interaktionen. Bei Tieren gelten Pheromone als die führenden Lockduftstoffe. Wie bei diesen Stoffen wurde ursprünglich angenommen, dass auch HLA-Moleküle fast ausschließlich über das Vomeronasalorgan (VNO), das sog. Jacobson-Organ, wahrgenommen werden. Bei vielen Wirbeltieren ist dieses Organ, bestehend aus vomeronasaler Tasche, vomeronasalem Nerv und akzessorischem Bulbus olfactorius, noch in seiner Gesamtheit ausgebildet. Beim Menschen hingegen ist nur bei zwei Dritteln der Bevölkerung eine vomeronasale Tasche vorzufinden, welche sich am nasalen Septum befindet (Witt und Hummel, 2006). Zwar ist embryonal auch der vomeronasale Nerv angelegt, jedoch bildet sich die Verbindung zur Tasche so wie diese selber durch bisher noch nicht geklärte Prozesse während der Fetalperiode teilweise oder größtenteils zurück. Dass es sich hierbei eher um ein akzessorisches olfaktorisches System handelt, spiegelt auch die hohe Anzahl an Pseudogenen in den VNO-Loci, enthalten im menschlichen MHC, wider (Horton et al., 2004). Möglicherweise besitzt das humane vomeronasale Tasche jedoch eine endokrine Aktivität, wodurch sich auch ein Pheromoneinfluss auf den Menschen erklären ließe (D’Aniello et al., 2017).

Jedoch sprechen diverse Studienergebnisse gegen die Wahrnehmung von HLA-Molekülen über das vomeronasale System. So können bspw. Mäuse, denen das VNO chirurgisch entfernt wurde, immer noch olfaktorische Reize durch HLA wahrnehmen (Spehr et al., 2006). Und auch der Fakt, dass verschiedenen HLA-Typen unterschiedlichen Gefallen beim Menschen finden, spricht dagegen.

Nichtsdestotrotz zeigten Studien, dass über das Jacobson-Organ bei Tieren tatsächlich HLA-Moleküle im Urin wahrgenommen werden und die Peptiderkennung dabei bereits ab einer

niedrigeren Schwelle, als es bei olfaktorischen Rezeptoren der Fall wäre, stattfindet (Spehr et al., 2006).

Das zweite große und beim Menschen weitaus wichtigere olfaktorische System ist das Riechepithel mit den Geruchsrezeptoren, wovon bei der Wahrnehmung von HLA v.a. olfaktorische Rezeptoren (OR) von Bedeutung sind. Kommt es über den Second-Messenger-Signalweg dieser G-Protein-gekoppelten Rezeptoren zur Depolarisation und Signaltransduktion, werden Aktionspotenziale an die Axone der jeweiligen Zelle weitergeleitet. Die Gesamtheit aller Axone bildet den N. olfactorius, welcher sich in den Bulbus olfactorius fortsetzt. In diesem sind Glomeruli und Mitralzellen vorzufinden, an denen es zur Modulation, bspw. durch Hemmung und Umschaltung der Geruchsinformation, kommt. Aus den Axonen dieser Zellen entsteht der Tractus olfactorius, von wo aus die Informationen zu Anteilen des limbischen Systems, nämlich dem piriformen Kortex, der Amygdala und dem entorhinalen Kortex sowie dem Hippocampus, gelangen. Schließlich setzt sich der Informationsfluss zum orbitofrontalen und insulären Kortex sowie auch anteilig zum Thalamus fort. Dort werden die Informationen in Gehirnzentren integriert, wo auch Gefühle, Erinnerungen und Emotionen verarbeitet werden. Bemerkenswert ist v.a., dass die Projektion der Geruchsinformationen, im Gegensatz zu vielen anderen zentralnervösen Verarbeitungsprozessen, fast ausschließlich ipsilateral stattfindet (Manzini et al., 2014).

Über die Frage, wie die HLA-Moleküle nun explizit molekularchemisch mit den OR interagieren, besteht weiterhin Uneinigkeit, zumal die Testung unter biologisch exakten Bedingungen schwierig bleibt (Natsch, 2014). Da diese Immunkomponenten ein hohes Molekulargewicht aufweisen, sind sie im Gegensatz zu den sonstigen OR-Liganden nicht volatil. Diskutiert werden hingegen die direkte Übertragung durch engen Körperkontakt (Spehr et al., 2006) sowie die HLA-abhängige Besiedlung eines Individuums mit Bakterien, welche die Zusammensetzung und somit den Geruch von Achselschweiß und Körperflüssigkeiten im Allgemeinen so individuell beeinflussen (Ziegler et al., 2010). Auch lösliche HLA-Peptid-Liganden scheinen nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip als Schlüssel einen indirekten Rückschluss auf das HLA als Schloss zuzulassen. Dies soll insbesondere dann der Fall sein, wenn sie als Fragmente im Urin vorkommen (Spehr et al., 2006; Kwak et al., 2009). Jedoch ist hier der Rückschluss von Tierversuchen auf den Menschen durch unterschiedliches Sozial- und Sexualverhalten kritisch zu betrachten, da die menschliche Nase nicht direkt bei alltäglichen sozialen Interaktionen Kontakt zu genitoanaligen Regionen aufnimmt. Allerdings konnte unter Versuchsbedingungen eine zentralnervöse Reaktion auf Applikation von solchen Peptidfragmenten mittels Luftstrom gezeigt werden. Dabei kam es im fMRT vor allem zur Aktivierungen in Arealen, die mit Selbsterkennung in Verbindung gebracht werden (Milinski et al., 2013). Nachfolgend wurde hierbei zwar der non-volatile

Charakter dieser Proteinanteile angemerkt, jedoch komme möglicherweise eine Übertragung als Aerosol in Betracht (Natsch, 2014). Studien an Fledermäusen zeigten weiterhin, dass bei der Wahrnehmung von HLA-Molekülen u.U. auch sogenannte trace amine associated receptors (TAAR) eine Rolle spielen (Santos et al., 2016). Da dies eine im menschlichen Riechepithel ebenfalls vertretene Rezeptorgattung ist, sollte hier auch eine mögliche Interaktion in Betracht gezogen und in zukünftigen Studien genauer untersucht werden. Jedoch spielen die OR nicht nur im Riechepithel eine wichtige Rolle. Auch auf der Oberfläche von Spermien wurden sowohl HLA-Moleküle, allerdings mit veränderter Funktionalität, als auch OR gefunden. Die OR dienen hier möglicherweise der Wahrnehmung von Stoffen der Chemotaxis durch die Spermien auf ihrem Weg zur Eizelle. Spekuliert wird auch über die dadurch mögliche Prägung der OR auf HLA-Moleküle, die sich von den eigenen unterscheiden (Ziegler et al., 2010).

Einen weiteren Hinweis auf die starke Verknüpfung von HLA und olfaktorischen Rezeptoren erhält man auch, wenn man deren Lage im Genom genauer betrachtet. Zwar sind die OR-Gene mit insgesamt 347 möglichen funktionalen Genen über 25 Orte des menschlichen Genoms verteilt, jedoch findet sich bei den 24 auf dem Chromosomen 6 gelegenen OR-Genen eine wesentliche höhere Allelvariation als an allen anderen Genorten (Zozulya et al., 2001). Noch bemerkenswerter ist allerdings die allelische Assoziation, auch Kopplungsungleichgewicht („linkage disequilibrium“), auf dem xMHC, wodurch die Allele der benachbarten OR- und HLA-Loci überzufällig häufig gemeinsam vererbt werden und es so (bei fast allen Säugetieren) zu MHC-gekoppelter Clusterbildung der OR-Gene kommt (Younger et al., 2001). Wenngleich noch nicht vollständig geklärt suggeriert bspw. das Team um Ziegler und Kollegen, dass dies dazu diene, die Interaktion mit HLA-Molekülen, die den eigenen ähneln, zu minimieren und so die Interaktion mit zu dem eigenen HLA-Repertoire komplementären Molekülen zu bevorzugen (Ziegler et al., 2010).

2.7 Fragestellung und Hypothesen

Inwieweit beeinflussen HLA-Klasse-I-Übereinstimmungen und der weibliche Hormonstatus den Körpergeruch und die Partnerwahl?

- 1) Einfluss von HLA-Übereinstimmungen auf den Körpergeruch
 - Der Körpergeruch des Partners wird am attraktivsten empfunden.
 - HLA-verschieden Körpergerüche erscheinen attraktiver als HLA-gleiche.
 - Frauen sind in der Lage genauer olfaktorisch zu differenzieren.
 - Unangenehme Körpergerüche erscheinen intensiver.

- 2) Einfluss des weiblichen Hormonstatus auf den Körpergeruch und dessen Bewertung
 - Die Verwendung oraler Kontrazeptiva verändert die Bewertung von Körpergerüchen.
 - Der weibliche Menstruationszyklus nimmt Einfluss auf den Körpergeruch der Frau und die Bewertung männlicher Körpergerüche.

- 3) Einfluss des HLA-abhängigen Körpergeruchs auf bestimmte Partnerschaftsaspekte
 - Je länger die Partnerschaft bereits andauert, desto attraktiver ist der Körpergeruch des Partners.
 - Bei „subjektiv“ attraktivem Partnergeruch wird auch der „objektive“ Geruch als attraktiver bewertet.
 - Je attraktiver der Körpergeruch des Partners, desto eher besteht der Wunsch mit diesem Partner ein Kind zu bekommen.
 - Wird das Partnershirt korrekt identifiziert, bewerten die Probanden dessen Geruch als attraktiver.

3 Material und Methoden

3.1 Stichprobe

Zur Probandengewinnung wurden diejenigen Probanden, die bereits an einer vorherigen Studie (Kromer et al., 2016) teilgenommen hatten, per E-Mail über diesen weiteren Studienteil informiert. Außerdem wurde der Ablauf geklärt und die Bereitschaft zur Teilnahme erfragt.

Ausgewählt wurden dabei alle Probanden im Alter von 18 bis 40 Jahren, welche sich seit mindestens zwei Monaten in einer Partnerschaft befanden und mehr als die Hälfte der Woche beieinander übernachteten.

Insgesamt erklärten sich 48 Paare zu einer Teilnahme bereit, wodurch also 96 Probanden getestet wurden.

Die 48 männlichen Probanden befanden sich im Alter von 20 bis 35 Jahren und waren im Durchschnitt 25,7 Jahre alt ($SD=3,2$). Das Alter der 48 weiblichen Probanden reichte von 18 bis 32 Jahren, wobei das Durchschnittsalter 23,9 Jahre betrug ($SD=2,7$). Weiterhin waren zwei Probandinnen zum Untersuchungszeitpunkt schwanger und weitere drei Frauen stillten zu diesem Zeitpunkt. Die Dauer der Partnerschaft lag zum Zeitpunkt der Testung zwischen 9 Monaten und 8 Jahre + 8 Monate. Durchschnittlich bestand die Partnerschaft seit 40 Monaten ($SD=26,4$). 60,1% der Probandinnen verhüteten mit oralen Kontrazeptiva.

3.2 Untersuchungsdurchführung

Den Probanden wurde per Post ein Päckchen mit den für die Testung benötigten T-Shirts, sowie allen notwendigen Materialien und Verhaltensvoraussetzung in schriftlicher Form (s. Anhang) zugesendet. Um den Körpergeruch so unverfälscht wie möglich zu gewinnen, wurden die Probanden über den Einfluss einiger Aktivitäten (z.B. Sport), der Einnahme von den Körpergeruch beeinflussenden Nahrungs- und Genussmitteln sowie von Medikamenten oder der Anwendung von Deo und Parfüm informiert und gleichzeitig um Vermeidung dieser ganzen Einflüsse gebeten. Im Folgenden baten wir die Teilnehmer, nach Einhaltung der Voraussetzungen, zwei Nächte hintereinander in den bereitgestellten T-Shirts zu schlafen. Dies sollte in möglichst kurzem zeitlichem Abstand zum vereinbarten Versuchstermin, jedoch maximal eine Woche vorher, geschehen. Zwischen den Nächten sollte das Kleidungsstück in

der mitgesendeten doppelt wiederverschließbaren Plastetüte gelagert werden und bis zur Testung zusätzlich im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Am Untersuchungstermin testeten wir nach der Aufklärung und dem schriftlichen Einverständnis bei den Partnern getrennt voneinander die Geruchsschwelle und die Geruchsidentifikation. Außerdem wurden Informationen zu relevanten Vorerkrankungen und Operationen sowie zur subjektiven Geruchswahrnehmung, Medikamenteneinnahme, Schwangerschaft, Einnahme oraler Kontrazeptiva sowie Menstruationsstatus in schriftlicher Form erhoben. Im Hauptteil sollte dann die Attraktivität und Intensität der Gerüche vier verschiedener gegengeschlechtlich getragener T-Shirts beurteilt werden. Dabei waren die T-Shirts so zugeteilt, dass eines vom Partner, eines HLA-B-gleich, eines HLA-C-gleich und eines, das in diesen beiden HLA-Subgruppen verschieden war, stammte. Die Zuordnung von HLA-gleichen Kleidungsstücken konnte an dieser Stelle gelingen, da die HLA-Typisierung mittels Buccal Swabs bereits bei den vorangegangenen Studienteilen durch die Deutsche Knochenmarkspenderdatei (DKMS) durchgeführt worden war. Abschließend sollten die Probanden eines der T-Shirts als des Partners Shirt identifizieren.

Die Studie wurde den Vorgaben der Deklaration von Helsinki entsprechend durchgeführt. Des Weiteren gab die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Carl-Gustav Carus der Technischen Universität Dresden dem Ethikantrag mit der Antragsnummer EK195062013 vor Beginn der Studie statt.

3.3 Geruchsidentifikation

Zur Testung der Fähigkeit zur Geruchsidentifikation kamen „Sniffin‘ Sticks“ (Hummel et al., 1997) zum Einsatz. Dabei wurde dem Probanden mit verbundenen Augen jeder der 16 Stifte im Abstand von 2 cm zur Nase dargeboten. Für jeden Stift gab der Versuchsleiter, welcher die ganze Zeit Handschuhe trug, vier Antwortmöglichkeiten vor, aus denen der Proband denjenigen Geruch wählte, der seiner Meinung nach am ehesten zutraf. Der zur Auswertung benötigte Zahlenwert ergibt sich hierbei aus der Anzahl korrekt identifizierter Gerüche. Es ist also ein maximaler Wert von 16 und ein minimaler Wert von 0 erreichbar.

3.4 Geruchsschwelle

Zur Festlegung der individuellen Geruchsschwelle wurden auch hierbei „Sniffin‘ Sticks“ eingesetzt. Bei den 16 Konzentrationsstufen kamen jeweils drei Stifte, wovon zwei ein Lösungsmittel und einer Phenylethylalkohol beinhalten, zum Einsatz. Bei jedem Durchgang

wurden nun im Abstand von 30 Sekunden alle drei Stifte in zufälliger Reihenfolge hintereinander weg dargeboten. Nachfolgend sollte der Proband den Stift benennen, der seiner Meinung nach den Duftstoff enthält. Begonnen wurde die Testung bei der niedrigsten Konzentration. Nachfolgend wurde die Konzentration bei jedem Nichterkennen gesteigert bis der Duftstoff zweimalig hintereinander korrekt identifiziert werden konnte. Diese Konzentrationsstufe ist dann der eigentliche Startpunkt. Ab hier begann eine siebenstufige Testung in auf- und absteigender Konzentration bis zum Erreichen jeweiliger Wendepunkte. Der Wendepunkt bei absteigender Konzentration ist einmaliges Nichterkennen, bei aufsteigender Konzentration zweimaliges Erkennen des Stiftes, der den Duftstoff enthält. Der Durchschnittswert aus den letzten vier Wendepunkten stellte dabei den endgültigen Schwellenwert dar. Der Schwellenwert kann also maximal 16 und minimal 0 Punkte betragen.

3.5 HLA-Typisierung

3.5.1 Materialgewinnung

Zur Gewinnung von genetischem Material wurden von der DKMS zur Verfügung gestellte Wattestäbchen (Buccal Swabs) verwendet. Diese dienen der Entnahme von Zellen an der Wangenschleimhaut. Dazu wurde mit dem Buccal Swab mindestens 30 Sekunden mit kräftigem Druck an der Wangenschleimhaut entlang gerieben. Um eine ausreichende Konzentration an zellulärem Material für jeden Probanden sicherzustellen, wurde eine zweite Probe auf der anderen Wangenseite gewonnen. Voraussetzung für die Materialentnahme ist ein zeitlicher Abstand von der Entnahme zur letzten Mahlzeit von mindestens einer Stunde. Anschließend wurden die Buccal Swabs nach mindestens fünfminütiger Trocknungszeit zum Schutz vor äußeren Einflüssen und Verschmutzung in Briefumschläge verpackt. Diese waren mit dem Probandencode und einem Barcode zur späteren computergestützten HLA-Analyse versehen. So konnte eine anonymisierte Typisierung gewährleistet werden und trotzdem war eine Zuordnung zu den restlichen Probandenunterlagen möglich.

Die Abnahme des Abstrichs erfolgte entweder durch die Versuchsleiter oder durch die Probanden selber. War letzteres der Fall, wurde eine schriftliche Anleitung zur korrekten Entnahme der Probe ausgehändigt.

Zur anschließenden Analyse der HLA-Typen wurden die Proben dem Labor der DKMS übergeben, wo sie ein standardisiertes Analyseverfahren (Lange et al., 2014) durchliefen.

3.5.2 Herauslösen der DNA

Zur weiteren Verarbeitung wird eine Deepwell Platte verwendet. Die Platte fasst 96 Proben, wobei zwei dieser Proben zur Kontrolle dienen. Es findet sich eine Positivkontrolle in Form einer bereits typisierten Probe und eine Negativkontrolle ohne DNA, welche zur Kontaminationskontrolle verwendet wird. Es können also 94 Buccal Swabs analysiert werden, in dem die Watteköpfe in ein bereits vorgelegtes Gemisch aus Puffer und Proteinase K gegeben werden. Zur Optimierung der daraus resultierenden Lyse wird die Platte für eine Stunde bei 56 °C inkubiert. Nach dem die Zellen nun aus der Watte herausgelöst und die DNA freigesetzt wurde, wird die überstehende Lyseflüssigkeit durch Löcher im Boden der Deepwell Platte abzentrifugiert. Anschließend wird mit Hilfe verschiedener Waschpuffer die Elution durchgeführt. Am Ende dieses Waschens wird die DNA in ein 12x8 Panel überführt.

3.5.3 Vorbereitung zur PCR

Nachdem mittels eines Fluoreszenzverfahrens kontrolliert wurde, ob die DNA-Konzentration ausreichend für die weiteren Verfahren ist, kann die Polymerase Chain Reaction (PCR) vorbereitet werden, was etwas mehr als eine Stunde dauert. Als Ort der Reaktion kommt nun ein 192.24 Access Array Chip der Marke Fluidigm (s. Abb. 4) zum Einsatz. Auf diesem befindet sich eine Platte mit Vertiefungen (Wells). Von den Wells führen Mikrokanäle zur Mitte der Platte, wo sie in verschiedenen kleinen Kammern enden, welche den eigentlichen Reaktionsort der PCR darstellen. Zur optimalen Überführung der Reagenzien in die Reaktionskammer sind sowohl ein genügender Druckaufbau als auch die Benetzung der Kanäle mit Öl notwendig. Dies dient der Sicherstellung eines garantierten Durchflusses. Weiterhin wird die sogenannte Harvest Solution in die Wells pipettiert, um den Chip vor Austrocknung zu schützen. Diese wird im Laufe der Reaktion mehrmalig erneuert und dient außerdem dem Rücktransport der Produkte in die Wells am Ende der PCR, wo sie dann entnahmebereit sind.

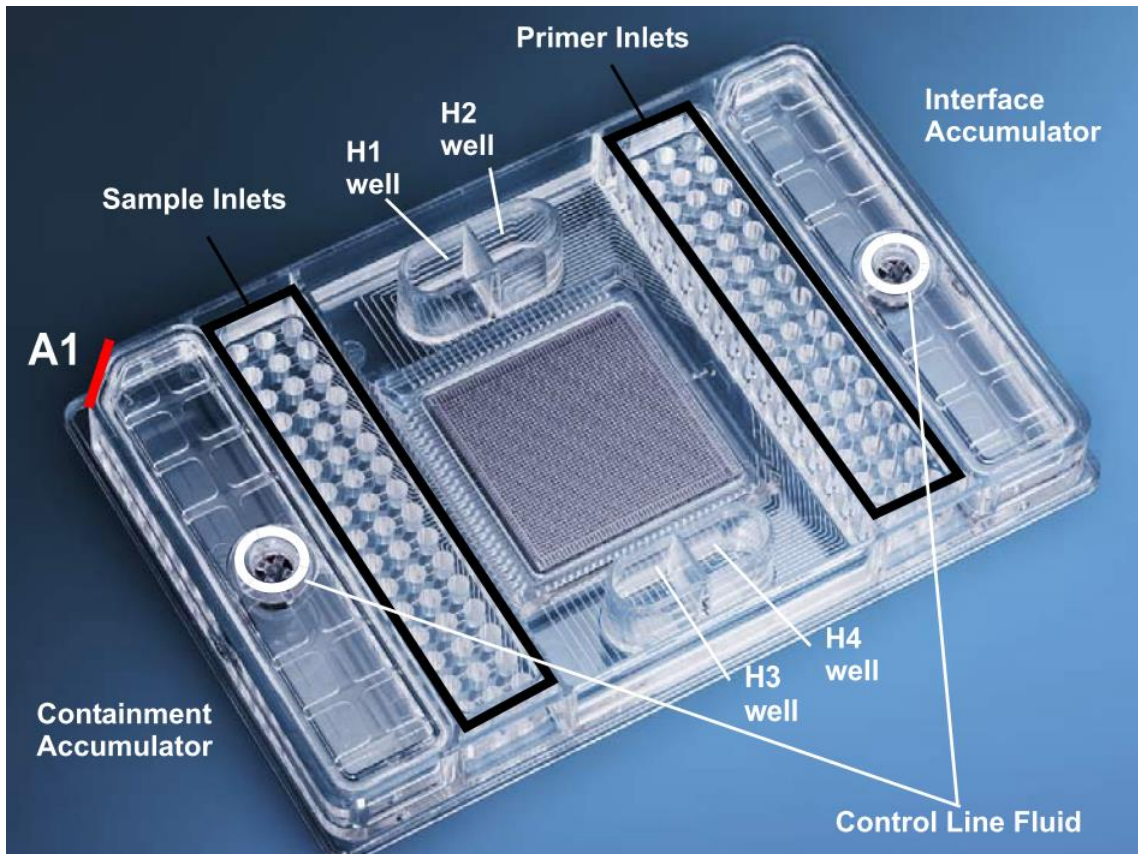


Abb. 4: beispielhafter Access Array Chip. Die Mischung aus Probanden-DNA und PCR-Mix wird dabei in die Sample Inlets gegeben und die Primer in die Primer Inlets. Durch Überdruck werden die Materialien nun ins Zentrum des Chips überführt. Dies ist der zentrale Reaktionsort. Zum Schutz vor Austrocknung des Chips wird vorangehend Harvest Solution in die Wells gegeben. (Mit freundlicher Genehmigung der DKMS Life Science Lab GmbH)

Die nachfolgenden Schritte laufen dann im Gerät „Tecan Evo“ ab. Dabei wird nun die DNA von zwei Panels auf die Arbeitsplatte des Gerätes gegeben, wo die PCR-Mischung (Taq-Polymerase, Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTPs), $MgCl_2$, Puffer) hinzugefügt wird. Weiterhin werden Mikro-Barcodes, sogenannte Molecular Identifier (MID), beigemischt. So wird jede Probanden-DNA mit einer individuellen Sequenz aus 10 Basenpaaren gekennzeichnet, was die Identifizierung und Zuordnung nach Abschluss der PCR ermöglicht. Nachdem alles miteinander vermischt ist, werden die Proben von der Arbeitsplatte auf spezielle Vertiefungen des Chips, sogenannte Inlets, übertragen. Somit können auf dem Chip zweimal 94 Probanden-Proben sowie zwei mal zwei Kontroll-Proben, also insgesamt 192 Proben, analysiert werden. Als letzter Beladungsschritt erfolgt die Hinzugabe von 24 Primergruppen, wovon sechs für die Exons der verschiedenen zu analysierenden HLA-Genorte und der Rest zur Ermittlung von Blutgruppen und Rhesusfaktor dienen.

Abgeschlossen wird die Vorbereitung durch den sogenannten Loader (IFC Controller AX-HAT), welcher die Proben durch Druckaufbau von den Inlets in die Reaktionskammern im Inneren des Chips befördert und dort mit den Primern zusammenführt (s. Abb. 5). Diese Kammern sind der Reaktionsort für die spätere Primeranlagerung an die Exons.



Abb. 5: Automatisierte Beladung der Fluidigm Chips. Die Abbildung zeigt die komplett automatisierte Überführung der Probanden-DNA, der Primer, des PCR-Mixes und der Harvest Solution auf die Access Array Chips (Mit freundlicher Genehmigung der DKMS Life Science Lab GmbH)

3.5.4 PCR

Zur Amplifikation kommt nun die zweieinhalb Stunden dauernde PCR zum Einsatz. Diese vollautomatische Vervielfachung der HLA-bestimmenden DNA-Abschnitte besteht aus 30 bis 50 Zyklen und produziert so bei n Zyklen eine Ausbeute von 2^n Kopien des Ausgangsmaterials. Dabei wird die Temperatur der Einzelschritte durch den Fluidigm-Cycler geregelt.

Nachdem bei der Vorbereitung bereits die zu amplifizierende DNA mit den spezifischen Primern, den dNTPs, dem $MgCl_2$, der Pufferlösung sowie der Taq-Polymerase gemischt wurden, startet nun im ersten Schritt die Denaturierung. Dabei werden bei $95\text{ }^\circ\text{C}$ die Wasserstoffbrücken der DNA-Doppelstränge aufgebrochen, wobei die Temperatur im ersten Zyklus länger als in den darauffolgenden beibehalten wird, um eine weitere Existenz von

Doppelsträngen auszuschließen. Anschließend erfolgt ein schnelles Abkühlen, um die erneute Zusammenlagerung der Einzelstränge zu vermeiden.

Im nächsten Schritt, der Hybridisierung, folgt die Anlagerung des Primers an die komplementäre DNA. Die genaue Temperatur dieser 30 Sekunden dauernden Reaktion ist abhängig von der Länge der eingesetzten Primer. Dabei liegt die optimale Temperatur 3 °C unter dem Schmelzpunkt des Primers, im Allgemeinen jedoch zwischen 50 und 60 °C.

Im letzten Teil der PCR erfolgt die Elongation. Hierbei kommt die thermostabile (Taq-)Polymerase zum Einsatz, welche die Bildung des zur Matrizen-DNA komplementären Strangs katalysiert. So werden die dNTPs bei den hier vorherrschenden 68-72 °C ans 3'-Ende des Primers angelagert. Die genaue Temperatur zur Bildung des neuen Strangs ist dabei vom Arbeitsbereich der Polymerase abhängig.

Am Ende aller Arbeitsschritte werden die Proben auf 4-8 °C abgekühlt. Wenn die Zyklen komplett durchlaufen wurden, werden die bearbeiteten Chips entnommen.

3.5.5 Aufreinigung

Im nun folgenden Post-PCR-Schritt wird die bereits amplifizierte DNA von den Reaktionskammern zurück in die Wells gedrängt. Dies geschieht durch das Gerät, welches auch das Loading bewirkt hat, hier jedoch als Harvester bezeichnet wird.

Nach der Entnahme werden nun je 96 Proben in eine Vertiefung einer Eluat-Platte mit 96 Wells gegeben, so dass die gesamte Probanden-DNA nun in einer Vertiefung gemischt ist und so ein Pool aus den PCR-Produkten von 96 Proben entsteht. Wenn die nun im Gerät Biomek befindliche Platte vollständig belegt ist, setzt die Aufreinigung ein. Dabei wird das Gemisch von den nun nicht mehr benötigten Stoffen des PCR-Mixes befreit. Nachfolgend kommt eine Quantifizierungsplatte zum Einsatz, welche drei verschiedene Verdünnungsstufen beinhaltet. Diese dienen einer Quantifizierungs-PCR (qPCR). Dabei wird mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen eine Konzentrationsbestimmung der DNA durchgeführt, was die Erstellung einer Quantifizierungskurve zur Folge hat. Aus dieser kann dann die Konzentration der PCR-Produkte der Probanden-DNA ermittelt werden.

In einem Vereinigungstube werden die aufgereinigten Pools für die spätere Auswertung zu einem Library-Pool mit bis zu 6x96 Proben zusammengeführt.

Anschließend ermittelt die Laborsoftware „LIMS Software“ das Volumen, das von den einzelnen gepoolten Gemischen notwendig ist, damit bei allen die gleiche Konzentration

vorherrscht. Letztendlich beträgt das Volumen bei allen Vereinigungen 100 µl, wobei das fehlende Volumen mit MilliQ (ultrapure water) aufgefüllt wird. Davon werden dann wiederum 10µl mit 10µl NaOH zur Denaturierung gemischt, was nach 5 Minuten dann durch Zugabe von 80µl eines HT1-Puffers gestoppt wird. Daraus werden dann 40µl entnommen und mit 100µl Phix (bekannte Virus-DNA zur Sequenzierungskontrolle) gemischt. Dieses Gemisch wird anschließend mit HT1-Puffer auf 600µl aufgefüllt.

3.5.6 Sequenzierung

Abgeschlossen wird die HLA-Typsierung durch die Sequenzierung, welche insgesamt 48 Stunden dauert und aus 522 Zyklen besteht.

Die soeben erstellte Endverdünnung wird nun in die „Load Sample“-Vertiefung gegeben. Diese befindet sich in einer Kartusche, welche bereits weitere Reagenzien enthält. Das Gerät „MiSeq“ (s. Abb. 6) führt nachfolgend diese Reagenzien mit der Endverdünnung zusammen. Nachdem zusätzlich ein Kitpuffer hinzugefügt wurde, laufen nun die Reaktionszyklen auf einer sogenannten „Flow Cell“ ab. An die auf der „Flow Cell“ befindlichen Primer binden nun die PCR-Produkte. Über einen an die Produkte angehefteten



Adapter, binden diese Stränge an weitere ebenfalls auf der „Flow Cell“ vorherrschende komplementäre Primer und bilden so Brücken aus. Nach der Brückenamplifikation mit Synthese des gegenüberliegenden Stranges kommt es zur Denaturierung, wodurch die Brücken gelöst werden, sowie zur Renaturierung und Neusynthese an die so gelösten Einzelstränge. Das Ergebnis daraus sind klonale Cluster mit vielen identischen DNA-Fragmenten. Anschließend kommt es zur Sequenzierung durch Synthese. Dabei geht unter Verwendung von fluoreszenzmarkierten Nucleotiden nach jedem Einbau dieser dNTPs eine Darstellung der momentanen Fluoreszenz auf der „Flow Cell“ von statten. So entsteht eine Vielzahl an Bildern, deren Summe und Abfolge die Identifikation der Basenabfolgen zulassen. Die Auswertung wird nachfolgend durch die Software NeXtype vorgenommen, wobei die Ergebnisse direkt in die HLA-Nomenklatur übersetzt werden und mittels MID auch individuell zuordenbar werden.

Abb. 6: MiSeq. An diesen Geräten findet die Sequenzierung der HLA-DNA statt. (Mit freundlicher Genehmigung der DKMS Life Science Lab GmbH)

3.6 „HLA-Matches“

Von der DKMS wurden bei den Klasse I-Genen HLA-A, -B, -C typisiert und bei den Klasse II-Genen HLA-DR, -DP, -DQ. Auf Grundlage der vorangegangenen Studienergebnisse (Kromer et al., 2016) wurden für die hier vorliegende Studie jedoch lediglich HLA-B und HLA-C betrachtet. Dabei wurden jeweils die beiden Allele der einzelnen Probanden betrachtet. Die Auswertung fand auf dem sogenannten „four digit level“ statt (s. Tab. 1, s. Abb. 3 roter Rahmen). D.h. es wurde sowohl die jeweilige Allel-Gruppe als auch das spezifisches HLA-Protein verglichen. Als „Match“ wurde es nur gewertet, wenn sowohl die Allel-Gruppe als auch das Protein übereinstimmten. Die Probanden konnten also in keinem, einem oder beiden Allelen ein „Match“ aufweisen.

Als HLA-gleich wurden die Shirts dann zugeordnet, wenn ein Allel oder mehr übereinstimmte.

Geschlecht	Allel 1	Allel 2	Übereinstimmung
♀ ♂	04:01:01G 07:01:01G	03:03:02G 03:04:01G	} keine
♀ ♂	15:01:01G 35:03:01G	07:02:01G 15:01:01G	} 1 Allel
♀ ♂	06:02:01G 05:01:01G	05:01:01G 06:02:01G	} beide Allele

} HLA-gleich

Tab. 1: Beispielhafte Vorgehensweise bei der HLA-Auswertung. Bei diesen fiktiven HLA-Codes wurden wieder lediglich die rot markierten Ziffern betrachtet (entspricht dem „four digit level“).

3.7 T-Shirts

3.7.1 HLA-Übereinstimmungen der vorgegebenen T-Shirts

Wie bei 3.2. beschrieben wurden den Probanden neben dem Partner-T-Shirt und den HLA-verschiedenem T-Shirt je ein HLA-B-gleiches und ein HLA-C-gleiches T-Shirt zugeteilt. Bei Betrachtung der Übereinstimmungen (s. Tab. 2-3.) der HLA-gleichen T-Shirts lässt sich erkennen, dass sowohl bei den HLA-B- als auch bei den HLA-C-gleichen T-Shirts vorwiegend ein übereinstimmendes Allel von Körpergeruchsspender und jeweiligem Proband vorzufinden war.

32% der HLA-B-gleichen T-Shirts stimmten zusätzlich auch noch in einem HLA-C-Allel überein. Bei den HLA-C-gleichen T-Shirts ist diese zusätzliche Übereinstimmung mit einem HLA-B-Allel nur bei 7% zu beobachten. Weitere 8,5% stimmen sowohl in beiden Allelen des HLA-C als auch in einem Allel des HLA-B überein. T-Shirts ohne Übereinstimmung wurden definitionsgemäß nicht verwendet.

Bei den HLA-verschiedenen T-Shirts ist, wie durch die Untersuchungsdurchführung vorgegeben, keine Übereinstimmung in keinem der Allele des HLA-B und -C vorhanden.

		HLA C - Übereinstimmung		
		Keine	1 Allel	2 Allele
HLA B	Keine Übereinstimmung	0	0	0
	1 Allel	53	27	1
	2 Allele	0	3	1

Tab. 2: Auflistung der Anzahl der jeweiligen Übereinstimmungen in Subklasse „-B“ und „-C“ bei den zugeteilten HLA-B-gleichen T-Shirts

		HLA B-Übereinstimmung		
		Keine	1 Allel	2 Allele
HLA C	Keine Übereinstimmung	0	0	0
	1 Allel	64	6	0
	2 Allele	4	10	1

Tab. 3: Auflistung der Anzahl der jeweiligen Übereinstimmungen in Subklasse „-B“ und „-C“ bei den zugeteilten HLA-C-gleichen T-Shirts

3.7.2 Bewertung des T-Shirt-Geruchs

Jeder Proband wurde gebeten, den Geruch von vier gegengeschlechtlich getragenen T-Shirts zu beurteilen. Zur Beurteilung standen, wie bereits erwähnt, ein T-Shirt des Partners, zwei HLA-gleiche und ein HLA-verschiedenes bereit. Bei den HLA-gleichen bezogen wir uns lediglich auf HLA-B und HLA-C (Kromer et al., 2016). Auch bei den HLA-verschiedenen wurden nur die Subklassen „-B“ und „-C“ einbezogen, aber im Folgenden vereinfachend immer als HLA-verschieden betitelt. Es sollten bei jedem T-Shirt die Intensität und die Attraktivität bewertet werden. Dazu wurde eine metrische Skala von 0 bis 10 verwendet,

wobei 0 dem unattraktivsten/ dem schwächsten und 10 dem attraktivsten/ dem intensivsten Geruch entsprach. Dabei wurden den Probanden die T-Shirts in zufälliger Reihenfolge mindestens zweimal, maximal dreimal, dargeboten und es wurde jeweils das arithmetische Mittel der angegebenen Werte berechnet. Des Weiteren wurden pro T-Shirt zwei verschiedenen Stellen zur Geruchsprobe angeboten, um nicht nur den Geruch einzelner Regionen aufzuzeigen, sondern bestmöglich den gesamten Körpergeruch zu vermitteln. Abschließend sollten die Probanden das T-Shirt benennen, von dem sie dachten, dass es das T-Shirt des Partners sei.

3.7.3 Hormonstatus der Probandinnen

Die Probandinnen wurden gebeten, zu notieren in welchem Zeitpunkt ihres Menstruationszyklus sie sich während der Spendennächte befanden. In Tab. 4 ist zu erkennen, wie viele Spenderinnen sich in welcher Zykluswoche befanden, wobei dies nach den zu testenden T-Shirts aufgetrennt wurde. Durch nur begrenzte „HLA-Matches“ mussten u.U. manche T-Shirts mehrfach zugeteilt werden, so dass bei diesen T-Shirts andere Verteilungen als bei den Partnershirts vorzufinden sind.

Es ist zu erkennen, dass die Mehrzahl der Spender-T-Shirts in der Mitte des Menstruationszyklus getragen wurde und somit eine zeitliche Nähe zur Ovulationsphase gegeben war (Aitken et al., 2008).

Weiterhin ließ sich durch das Führen des Verhaltenstagebuches, wo das Datum der Spendennächte sowie die Zyklustage währenddessen notiert waren, Rückschluss auf den Zyklustag während der Bewertung der Shirts ziehen.

Auch die Einnahme oraler Kontrazeptiva wurde dokumentiert. Es zeigte sich, dass mit 28 Frauen mehr als die Hälfte (60,1%) diese Form der Verhütung anwendeten.

T-Shirt	Schwangerschaft, Stillzeit	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4
Partner	5	9	8	13	7
HLA-B-gleich	6	7	3	19	8
HLA-C-gleich	10	9	11	5	7
HLA-verschieden	9	10	9	13	6

Tab. 4: zahlenmäßige Verteilung der Spenderinnen auf die vier Wochen des Menstruationszyklus aufgetrennt nach dem jeweiligen Einsatz als Test-T-Shirt. Als Grundlage dient ein normaler Zyklus mit 28 Tagen, wobei Tag 1 dem Einsetzen der Menstruation entspricht. Woche 1=Tag 1 bis 7, Woche 2 = Tag 8 bis 14, Woche 3 = Tag 15 bis 21, Woche 4 = Tag 22 bis 28.

3.7.4 Lagerung der T-Shirts

Bis zur Abgabe am Testungsort wurden die Probanden gebeten, die getragenen T-Shirts im doppeltverschlossenen Plastbeutel im eigenen Kühlschrank zu lagern. Der Zeitraum bis zur Testung sollte dabei möglichst kurz gehalten werden, aber maximal eine Woche betragen. Zur Lagerung der T-Shirts wurden diese direkt nach dem Eintreffen bei -30°C tiefgefroren und für die Testung etwa eine Stunde vorher aufgetaut (Lenochova et al., 2009). Das T-Shirt des Partners wurde frisch hinzugefügt. Das Material wurde dabei maximal zehnmal aufgetaut und wieder tiefgefroren bzw. wurde darauf geachtet, die T-Shirts so selten wie möglich mehrfach zu verwenden.

3.8 Statistische Methoden

Vor der statistischen Auswertung wurden T-Shirts des Partners ausgeschlossen, die bei der Lagerung im eigenen Kühlschrank des Probanden durch dort vorherrschende Gerüche kontaminiert wurden. Da auf Grund der Probandenzahl und seltener Allele für einige Personen kein HLA-gleiches T-Shirt gefunden werden konnte, wurden zur Aufrechterhaltung einer einheitlichen Testung HLA-verschiedene T-Shirts zugeordnet. Jedoch mussten auch diese letztendlich ausgeschlossen werden. Weiterhin wurden alle Daten von Probanden, die bei der Geruchsidentifikation einen Wert kleiner 11 erreichten, eliminiert. Der Ausschluss von schwangeren und stillenden Probandinnen bewirkt kaum eine Veränderung der Werte, wodurch sie bei allen Analysen beibehalten wurden. Nach dem Ausschluss oben genannter Probanden blieben 46 Frauen und 47 Männer zur Analyse übrig. Bei den T-Shirts standen insgesamt noch 83 Partnershirts, 85 HLA-B-gleiche, 85 HLA-C-gleiche und 93 HLA-verschiedene für die Auswertung zur Verfügung. Weiterhin wurde aufgrund der ähnlichen Ergebnisse für HLA-B-gleiche und HLA-C-gleiche T-Shirts ein gemeinsamer Mittelwert gebildet, wodurch man hier 90 auswertbare Daten erhält (s. Tab. 5)

Die Auswertung erfolgte unter Zuhilfenahme des Programms SPSS.

Es wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse für Messwiederholungen, in der der Haupteffekt „Match“ auf die Geruchsattraktivität bzw. -intensität von je zwei T-Shirts verglichen wurde, angewendet. So wurden die Bewertungen von T-Shirts mit einem „HLA-Match“, also HLA-B-gleiche und HLA-C-gleiche, den Bewertungen von T-Shirts mit einem „HLA-Non-Match“, also das Partnershirt und das HLA-verschiedene gegenübergestellt. Des Weiteren kam eine einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung und drei Stufen zum Einsatz. Dabei wurde der gemeinsame Mittelwert der Attraktivitäten der HLA-gleichen Shirts mit den Attraktivitäten der beiden HLA-unterschiedlichen Shirts (Partnershirt und HLA-verschiedenes Shirt) verglichen. Bei Verletzungen der Varianzhomogenitätsannahme

wurden die Ergebnisse nach Greenhouse-Geisser-Korrektur der Freiheitsgrade angegeben. Gleiches Procedere kam auch zur Beurteilung der Abhängigkeit der Geruchsintensität zum Einsatz.

Eine Korrelation nach Pearson wurde zur weiteren Überprüfung eines linearen Zusammenhangs zwischen der Attraktivität des Partnershirts und Partnerschaftsdauer sowie zwischen subjektiver und tatsächlicher Geruchsattraktivität des Partnershirts angewendet.

Zum Mittelwertvergleich zwischen wahrgenommener Geruchsattraktivität bei Frauen mit und ohne orale Kontrazeptiva, zwischen Probanden mit und ohne Kinderwunsch sowie zwischen Probanden mit und ohne korrekte Identifikation des Partnershirts wurde jeweils ein t-Test für unabhängige Stichproben benutzt.

Mittels einer Regressionsanalyse (für quadratische Anpassungen) wurde ein Effekt des weiblichen Zyklus auf die Attraktivitätsbewertungen der T-Shirts theoriegeleitet für einen umgekehrt u-förmigen Zusammenhang überprüft.

Als signifikant galten die Ergebnissen dann, wenn $p < 0,05$ entsprach.

T-Shirt	N	R	Min	Max	\bar{x}	$\sigma(\bar{x})$	σ
Partner	83	9,00	1,00	10,00	5,45	0,21	1,95
HLA-verschieden	93	9,00	1,00	10,00	5,16	0,18	1,70
HLA-B-gleich	85	9,00	1,00	10,00	4,97	0,20	1,82
HLA-C-gleich	85	9,00	0,00	9,00	4,91	0,21	1,97
gemeinsamer Mittelwert HLA-gleich	90	6,25	2,25	8,50	4,92	0,15	1,46

Tab. 5: Stichprobenbeschreibung. Durch Ausschluss von verunreinigten Partnershirts, Identifikation <11, fehlende „HLA-Matches“ bei den HLA-gleichen T-Shirts kommt die unterschiedliche Anzahl der verschiedenen T-Shirts zustande.

4 Ergebnisse

4.1 HLA-Übereinstimmungen der Partner-T-Shirts

Nach der Auswertung der „HLA-Matches“ der Partner-T-Shirts (s. Tab. 6, Abb. 7) zeigte sich, dass mit 70% der überwiegende Teil in keinem der beiden untersuchten HLA-Subklassen mit dem Partner übereinstimmten. Weiterhin gab es keine Partnerschaft, in der nur das HLA-B

gleich war, jedoch 19% mit einer alleinigen Übereinstimmung eines HLA-C-Allels. Bei den restlichen 11% fanden sich Übereinstimmungen bei beiden Subklassen.

		HLA C		
		Keine Übereinstimmung	1 Allel	2 Allele
HLA B	Keine Übereinstimmung	58	16	0
	1 Allel	0	5	2
	2 Allele	0	0	2

Tab. 6: Auflistung der Anzahl der jeweiligen Übereinstimmungen in Subklasse „-B“ und „-C“ bei den Partner-T-Shirts

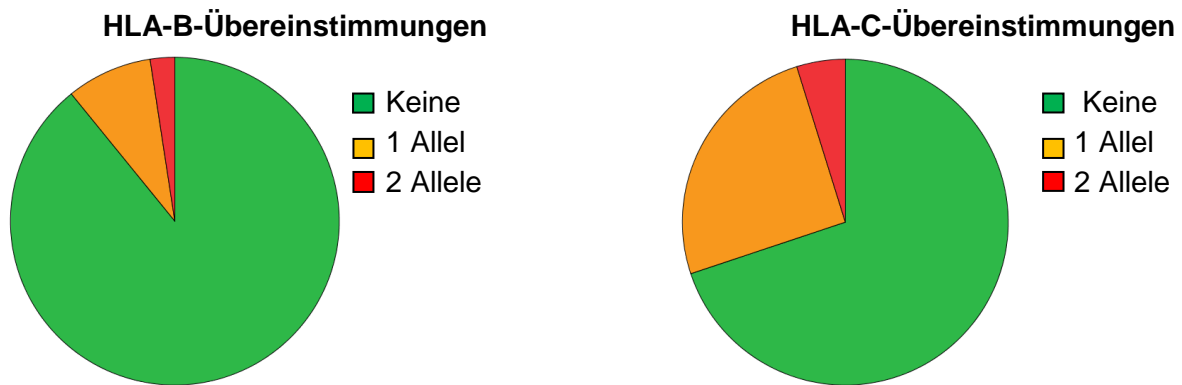


Abb. 7: Übereinstimmungen in Subklasse „-B“ und „-C“ bei den Partner-T-Shirts. Es zeigt sich, dass die meisten Probanden mit ihrem Partner weder bei „-B“ (links) noch bei „-C“ (rechts) übereinstimmen. Wenn es „HLA-Matches“ gab, dann war dies vorrangig beim HLA-C der Fall.

4.2 Attraktivität in Abhängigkeit vom „HLA-Match“

Bei der Betrachtung des Haupteffekts „Match“ in Hinblick auf die Bewertung der Attraktivität zeigt sich bei der Anwendung der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung eine Tendenz ($F(1,69)=2,83, p=0,097$) dahingehend, dass Shirts ohne „HLA-Match“ (also Partnershirt und HLA-verschiedenes Shirt) als attraktiver empfunden werden. Weiterhin lässt sich auch sagen, dass der Unterschied zwischen den Attraktivitäten des HLA-B-gleichen und HLA-C-gleichen Shirts kaum ins Gewicht fällt ($p=0,44$).

Es zeigte sich, dass die Attraktivität der HLA-gleichen Shirts am schlechtesten und die des Partnershirts am besten bewertet wird. Die Attraktivität des HLA-verschiedenen T-Shirts befindet sich dazwischen (s. Abb. 8).

Um die Effekte weitergehend zu analysieren, wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung und drei Stufen angewendet. Dabei wurde aus den Attraktivitäten der HLA-gleichen Shirts ein gemeinsamer Mittelwert gebildet und dieser mit dem gemeinsamen Mittelwert der Attraktivitäten der beiden HLA-unterschiedlichen Shirts (Partnershirt und HLA-verschiedenes Shirt) verglichen. Im Ergebnis dieser Analyse erhält man einen signifikanten linearen Haupteffekt ($F(1,79)=4,73$, $p=0,033$) des T-Shirts.

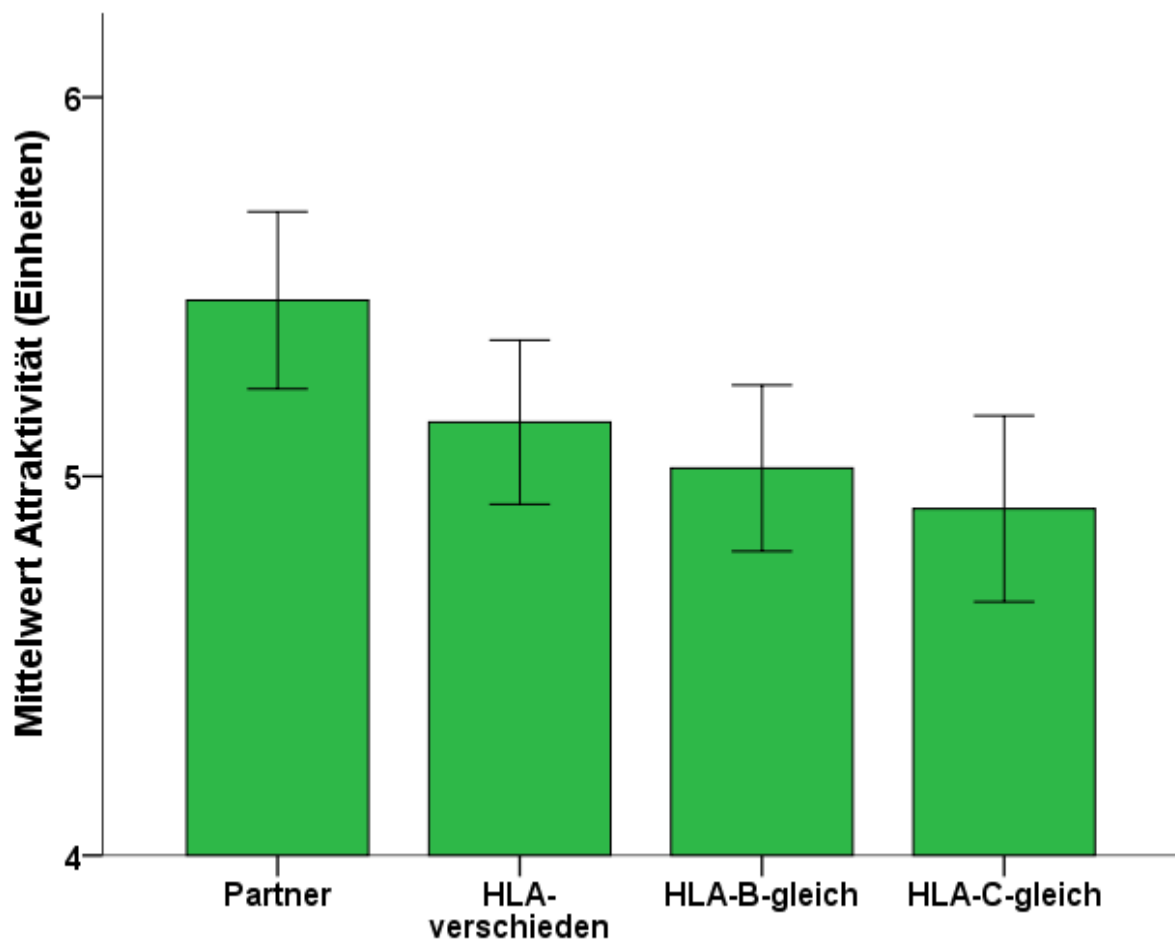


Abb. 8: Mittelwerte der bewerteten Geruchsattraktivität der vier verschiedenen T-Shirts. Es zeigt sich ein linearer Haupteffekt, dahingehend dass HLA-unterschiedliche T-Shirts (Partner, HLA-verschieden) bevorzugt wurden. Ein höherer Skalenwert entspricht hierbei einer höheren Attraktivität des Geruchs, wobei ein neutraler Geruch dem Wert 5 entspricht. Die Fehlerbalken geben den einfachen Standardfehler an.

Bei der Betrachtung des Einflusses des Geschlechts auf die Bewertungen der T-Shirts stellt sich heraus, dass das Geschlecht kein signifikanter Haupteffekt ist ($p=0,90$) und auch keine signifikante Interaktion zwischen dem Geschlecht und den verschiedenen T-Shirts ($p=0,40$) vorherrscht.

Deskriptiv zeigen sich allerdings spezifische Ergebnisse, die hier kurz vorgestellt werden sollen.

Bei geschlechtsspezifischer Auftrennung der Ergebnisse (s. Abb. 9, Tab. 7), kann man anhand der grafischen Darstellung erkennen, dass bei beiden Geschlechtern die Attraktivität des Partnergeruchs am höchsten eingestuft wird ($t(81)=-0,56$, $p=0,57$), wobei die männlichen Probanden diesen Geruch noch positiver bewerteten als die weiblichen. Die HLA-gleichen T-Shirts wurden von beiden Parteien am schlechtesten bewertet ($t(88)=-0,52$, $p=0,60$). Dabei ist der Attraktivitätsunterschied vom HLA-B-gleichen zum HLA-C-gleichen sehr gering ($t(79)=0,77$, $p=0,44$). Allerdings lässt sich beobachten, dass die Frauen die B-Subgruppe schlechter als die Männer und auch insgesamt am schlechtesten bewertet haben ($t(83)=-1,05$, $p=0,30$). Wohingegen bei der C-Subgruppe kein geschlechtsspezifischer Unterschied zu erkennen ist ($t(83)=-0,50$, $p=0,96$). Die HLA-verschiedenen T-Shirts wurden als etwas attraktiver empfunden. Dabei ist eine positivere Bewertung durch die Probandinnen zu verzeichnen ($t(91)=1,08$, $p=0,29$). Insgesamt lässt sich also rein deskriptiv feststellen, dass bei den Männern die Partnershirts, gefolgt von den HLA-B-gleichen, am attraktivsten bewertet wurden. Die HLA-C-gleichen und HLA-verschiedenen T-Shirts wurden ähnlich bewertet und schnitten somit am schlechtesten ab. Bei den Frauen ist zusammenfassend zu erkennen, dass das HLA-verschiedene und das Partnershirt gleichstark bevorzugt wurden. Die HLA-gleichen T-Shirts wurden dagegen als weniger attraktiv empfunden, wobei das HLA-B-gleiche T-Shirt noch schlechter abschnitt als das HLA-C-gleiche.

Geschlecht	T-Shirt	N	\bar{x}	σ
weiblich	Partner	41	5,33	2,05
	HLA-verschieden	46	5,35	1,82
	HLA-B-gleich	41	4,76	1,82
	HLA-C-gleich	43	4,90	2,21
männlich	Partner	42	5,57	1,87
	HLA-verschieden	47	4,97	1,58
	HLA-B-gleich	44	5,17	1,82
	HLA-C-gleich	42	4,92	1,71

Tab. 7: Überblick über die Mittelwerte und Standardabweichungen der Attraktivität der T-Shirts nach dem Geschlecht der Probanden aufgetrennt

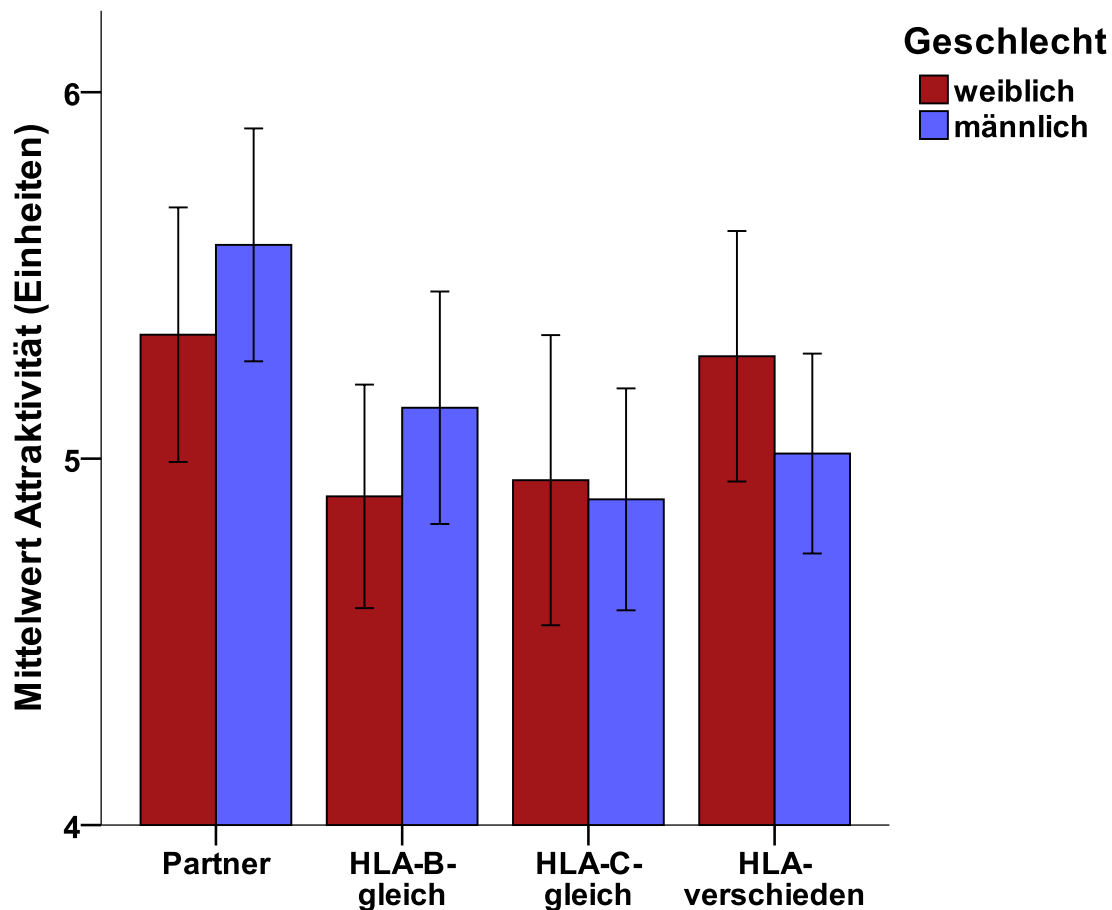


Abb. 9: Mittelwerte der bewerteten Geruchsattraktivität der vier verschiedenen T-Shirts, nach dem Geschlecht der Probanden aufgetrennt. Ein höherer Skalenwert entspricht hierbei einer höheren Attraktivität des Geruchs, wobei ein neutraler Geruch dem Wert 5 entspricht. Es zeigt sich, dass männliche Probanden eher das Bekannte (Partner) präferieren und die weiblichen Probanden eher Körpergerüche von HLA-verschiedenen Personen bevorzugen. Die HLA-B-gleichen T-Shirts werden durch die Männer etwas besser bewertet, wohingegen die HLA-C-gleichen von beiden Geschlechtern gleichermaßen schlecht beurteilt werden. Die Fehlerbalken geben den einfachen Standardfehler an.

4.3 Intensität in Abhängigkeit vom „HLA-Match“

Auch hier wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen angewendet, bei der der Haupteffekt „Match“ in Hinblick auf die empfundene Intensität des T-Shirt-Geruchs untersucht wurde. Im Ergebnis dieser Methodik lässt sich kein Einfluss der HLA-Übereinstimmungen auf die wahrgenommene Intensität des Geruchs beobachten ($p=0,44$) (s. Abb.10)

Bei der weiterführenden einfaktoriellen Varianzanalyse mit drei Messwiederholungen zeigte sich das Geschlecht nicht als signifikanter Haupteffekt ($p=0,3$). Auch eine Interaktion

zwischen dem Geschlecht und der Intensität der verschiedenen T-Shirts ließ sich nicht beobachten ($p=0,5$).

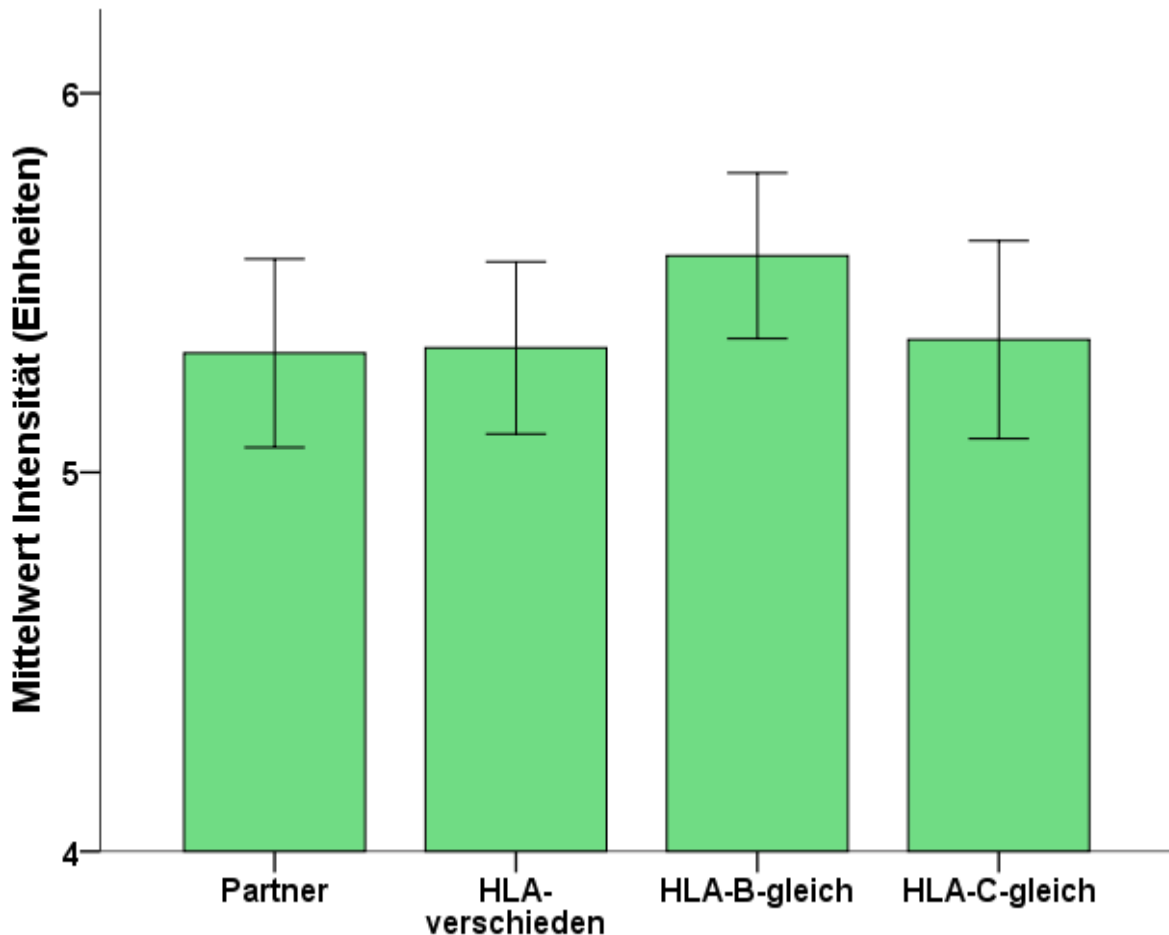


Abb. 10: Mittelwerte der bewerteten Geruchsintensität der vier verschiedenen T-Shirts. Es zeigt sich keine Signifikanz des Haupteffekts „Match“ in Hinblick auf die empfundene Intensität des T-Shirt-Geruchs. Ein höherer Skalenwert entspricht hierbei einer höheren Intensität des Geruchs, wobei ein neutraler Geruch dem Wert 5 entspricht. Die Fehlerbalken geben den einfachen Standardfehler an.

4.4 Attraktivität in Abhängigkeit von der Einnahme oraler Kontrazeptiva

Zur Überprüfung der Hypothese „unterschiedliche Bewertung der Geruchsattraktivitäten in Abhängigkeit von der Einnahme oraler Kontrazeptiva“ wurde ein t-Test für unabhängige Stichproben angewandt. Es zeigte sich (s. Abb. 11) ein Trend in der Bewertung der Attraktivität des HLA-verschiedenen Shirts ($t(44)=2,02$, $p=0,050$) sowie der HLA-gleichen Shirts ($t(43)=1,81$, $p=0,078$) bzw. den beiden jeweiligen zusammengefassten Mittelwerten

dahingehend, dass Frauen ohne orale Kontrazeption beide T-Shirts mit höheren Attraktivitätspunkten bewerteten.

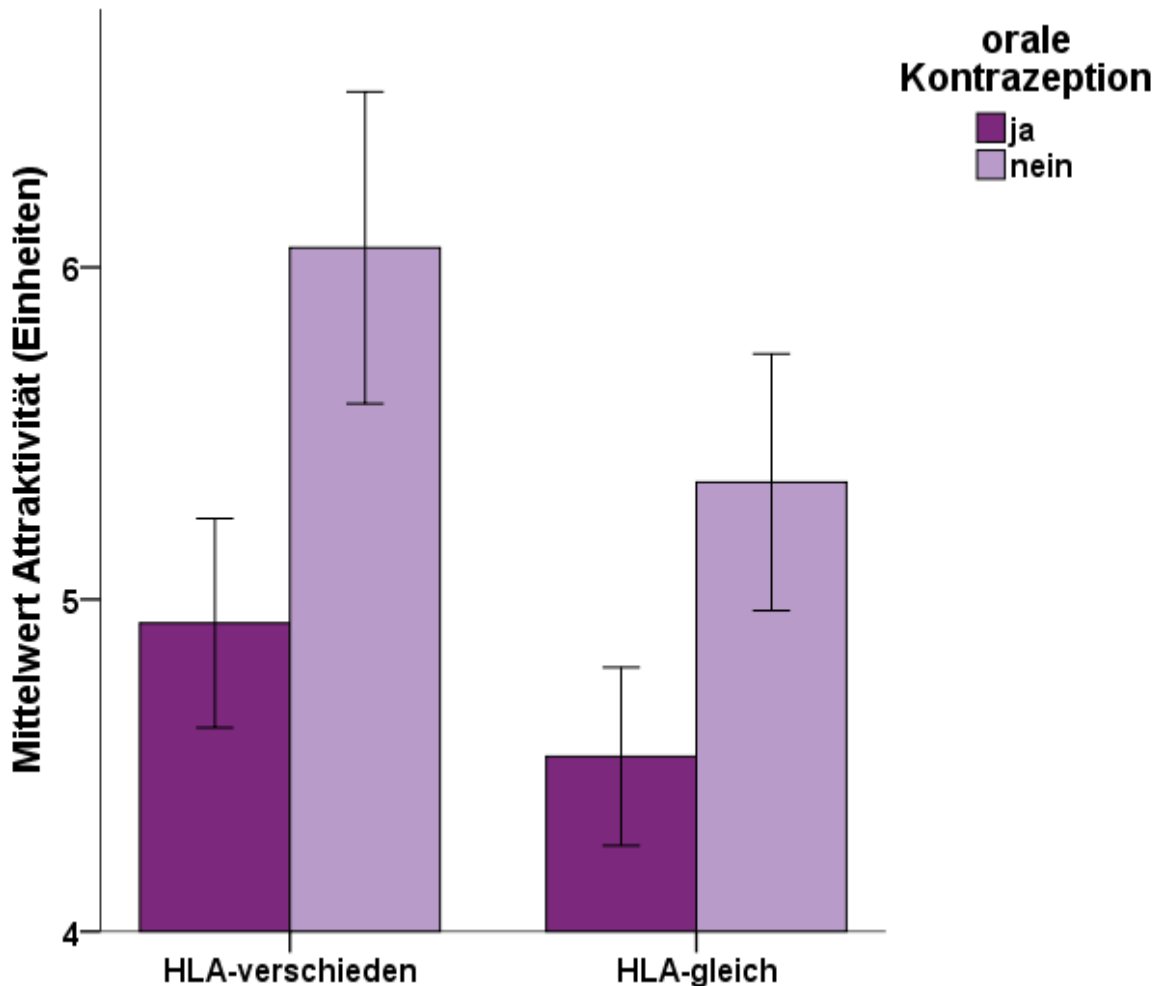


Abb. 11: Mittelwerte der Geruchsattraktivität der HLA-verschiedenen und HLA-gleichen T-Shirts in Abhängigkeit von oraler Kontrazeption. Es ist eine signifikant bessere Bewertung der HLA-verschiedenen T-Shirts sowie eine Tendenz zur besseren Bewertung der HLA-gleichen T-Shirts durch Probandinnen ohne orale Kontrazeption zu erkennen. Ein höherer Skalenwert entspricht hierbei einer höheren Attraktivität des Geruchs, wobei ein neutraler Geruch dem Wert 5 entspricht. Die Fehlerbalken geben den einfachen Standardfehler an.

Bei der gegenüberstellenden Betrachtung der drei Gruppen „Frau ohne Pille“, „Frau mit Pille“, „Mann“ kann man einerseits erkennen, dass Frauen unter Einfluss oraler Kontrazeption sowohl das Partnershirt ($t(63)=-0,62$, $p=0,54$) als auch das HLA-verschiedene ($t(73)=-0,10$, $p=0,92$) und die HLA-gleichen Shirts ($t(71)=-1,39$, $p=0,17$) ähnlich wie die Männer bewerteten, wobei sich die Bewertungsschemata dieser beiden Probandengruppen in der grafischen Darstellung (s. Abb.12) ebenfalls sehr ähneln. Beiden Gruppen empfinden das Bekannte am attraktivsten. Andererseits bewerten Frauen ohne orale Kontrazeption die T-Shirts eher vor dem Hintergrund von fehlenden HLA-Übereinstimmungen. So empfinden

sie das HLA-verschiedene T-Shirt entgegen der männlichen Bewertungen signifikant attraktiver ($t(63)=2,23$, $p=0,030$).

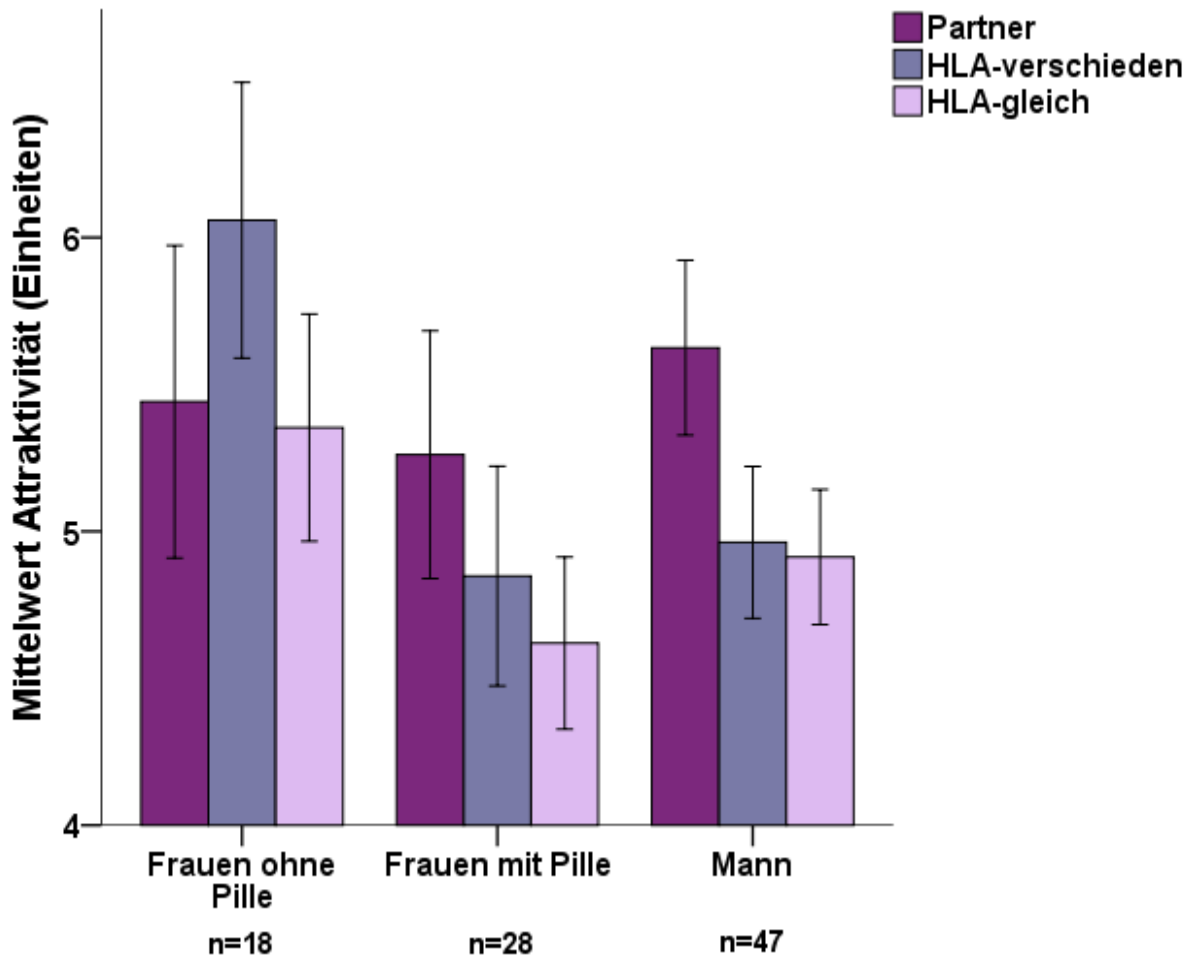


Abb. 12: Mittelwerte der bewerteten Geruchsattraktivität der verschiedenen T-Shirts nach oraler Kontrazeption aufgeteilt. Es zeigt sich, dass Frauen unter Einnahme oraler Kontrazeptiva (hier vereinfacht als Pille bezeichnet) Körpergerüche ähnlich wie Männer wahrnehmen. Ein höherer Skalenwert entspricht hierbei einer höheren Attraktivität des Geruchs, wobei ein neutraler Geruch dem Wert 5 entspricht. Die Fehlerbalken geben den einfachen Standardfehler an.

4.5 Attraktivität in Abhängigkeit vom Zykluszeitpunkt

Bei der Regressionsanalyse zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Zykluszeitpunkt der Frau zum Testtag und der von ihr empfundenen Attraktivität des Partner-T-Shirts ($p=0,39$), des HLA-verschieden T-Shirts ($p=1,0$), gemeinsamen Mittelwerts der HLA-gleich T-Shirts ($p=0,19$).

4.6 Attraktivität des Partner-T-Shirts in Abhängigkeit von der Partnerschaftsdauer

Bei einer Korrelation nach Pearson, ist ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen der Attraktivität des Partnershirts und der Partnerschaftsdauer zu erkennen ($r(81)=0,23$, $p=0,034$). Je länger eine Partnerschaft andauert, desto attraktiver wird der Körpergeruch des Partners empfunden (s. Abb. 13). Wenn man die Ergebnisse wiederum geschlechtsspezifisch betrachtet, lässt sich feststellen, dass dieser Effekt nur durch die Männer hervorgerufen wird (Männer: $r(42)=0,33$, $p=0,036$, Frauen: $p=0,35$).

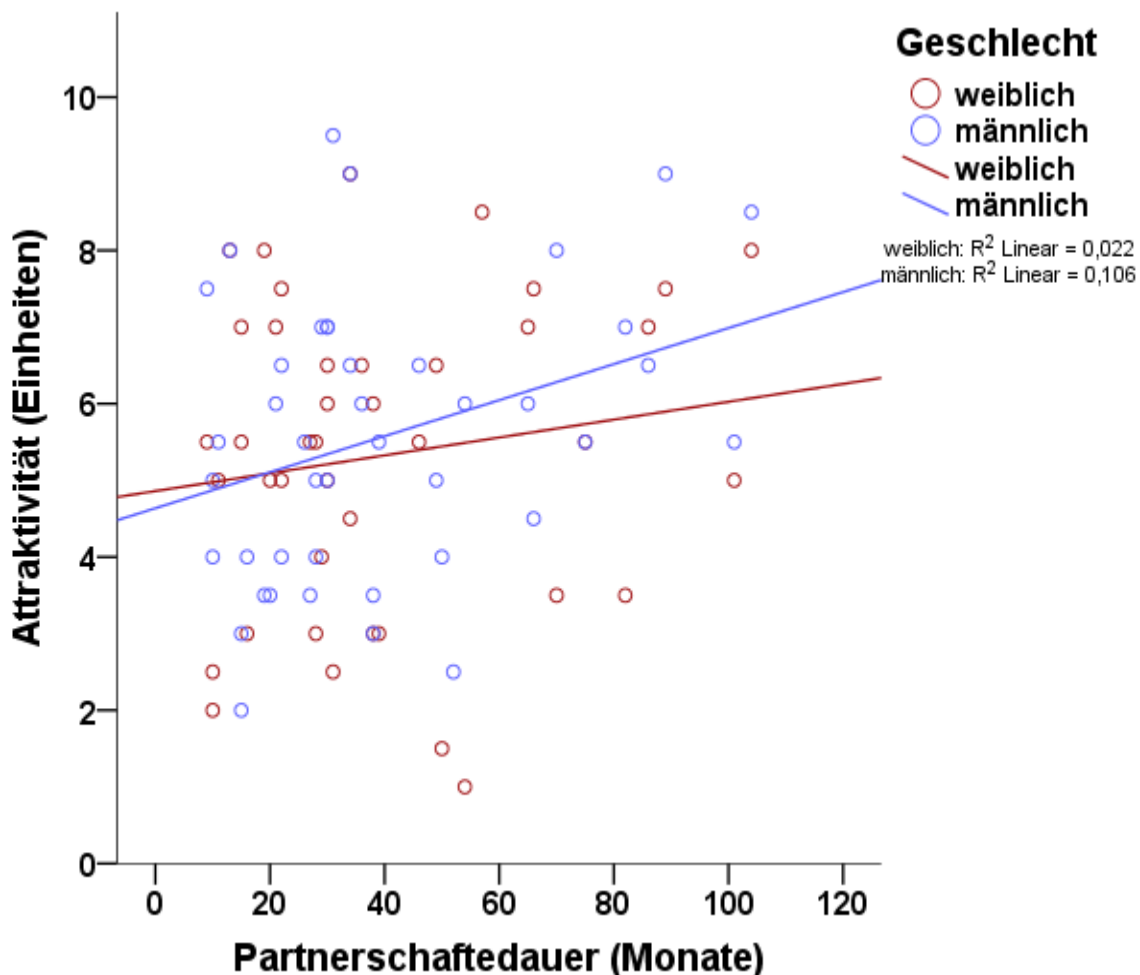


Abb. 13: Korrelation der bewerteten Geruchsattraktivität des Partnershirts und der Partnerschaftsdauer nach dem Geschlecht aufgetrennt. Ein höherer Skalenwert der entspricht hierbei einer höheren Attraktivität des Geruchs, wobei ein neutraler Geruch dem Wert 5 entspricht. Es zeigt sich dabei eine positive Korrelation der beiden Parameter, welche sich nur bei den Männern signifikant darstellt.

4.7 Übereinstimmung von „subjektiv“ und „objektiv“ wahrgenommenem Körpergeruch des Partners

Bei einer Korrelation nach Pearson zwischen der Attraktivitätsbewertung des Geruches des Partner-T-Shirts und der „subjektiven“ Bewertung des Partnergeruchs aus dem Fragebogen der vorhergehenden Studie (Kromer et al., 2016) konnte kein signifikantes Ergebnis beobachtet werden ($p=0,98$). Ein attraktiver vorgestellter Körpergeruch des Partners (Fragebogen) bedeutete also nicht gleichermaßen eine hohe Bewertung des realen Körpergeruchs des Partners, welcher über das Schnüffeln an T-Shirt vermittelt wurde.

4.8 Attraktivität in Abhängigkeit vom Kinderwunsch

Bei der Frage nach einem Kinderwunsch waren 28 % der Männer und 20% der Frauen unsicher. Bei dem t-Test für unabhängige Stichproben zeigte sich, dass der Kinderwunsch nicht signifikant mit der Attraktivität des Partner-T-Shirts ($p=0,10$), des HLA-verschiedenen ($p=0,68$) oder HLA-gleichen T-Shirts ($p=0,87$) zusammenhängt.

4.9 Attraktivität in Abhängigkeit von der Partneridentifikation

Bei der Auswertung der Identifikation des Partner-T-Shirts, konnte beobachtet werden, dass bei korrektem Erkennen der Partnergeruch signifikant attraktiver empfunden wurde ($t(81)=-4,12$, $p<0,001$). Gleichzeitig wurden bei korrekter Benennung des Partner-T-Shirts kein Zusammenhang mit der Geruchsattraktivität des HLA-verschiedenen ($p=0,65$) und des Mittelwertes der HLA-gleich-Shirts ($p=0,28$) gefunden. Bei den Frauen hat über die Hälfte (56,1%) das Partnershirt korrekt erkannt. Dagegen war dies bei den Männern nur bei knapp einem Drittel (35,7%) der Fall.

4.10 Kurzfassung Ergebnisse

- 1) Bewertung des Körpergeruchs in Bezug auf HLA-Übereinstimmungen
 - HLA-verschiedene T-Shirts signifikant attraktiver ($F(1,79)=4,73$, $p=0,033$)
 - HLA-gleiche Shirts schlechter bewertet, beide gleich schlecht ($p=0,44$)
 - Geschlecht: kein Einfluss auf Geruchsbewertung ($p=0,90$)
 - Intensität durch „HLA-Match“ unbeeinflusst ($p=0,44$)

- 2) Bewertung des Körpergeruchs in Bezug auf den weiblichen Hormonstatus
 - Trend zur besseren Bewertung aller T-Shirts durch Frauen ohne orale Kontrazeption (HLA-verschieden: $t(44)=2,02$, $p=0,050$; HLA-gleich: $t(43)=1,81$, $p=0,078$)
 - Signifikant bessere Bewertung des HLA-verschiedenen Shirts von diesen Frauen im Gegensatz zu Männern ($t(63)=2,23$, $p=0,030$)
 - Zykluszeitpunkt: kein Einfluss auf Attraktivitätsbewertungen (Partnerhirt: ($p=0,39$), HLA-verschiedenes T-Shirt: ($p=1,0$), HLA-gleich T-Shirts: ($p=0,19$))

- 3) Bewertung des HLA-abhängigen Körpergeruchs auf bestimmte Partnerschaftsaspekte
 - Signifikant positive Korrelation zwischen Attraktivität des Partnershirts und der Partnerschaftsdauer ($r(81)=0,23$, $p=0,034$); durch Männer hervorgerufen (Männer: $r(42)=0,33$, $p=0,036$, Frauen: $p=0,35$)
 - Kein Zusammenhang zwischen „subjektiven“ und „objektiven“ Bewertungen des Partnergeruchs ($p=0,98$)
 - Kein Zusammenhang zwischen Attraktivität des Partnergeruches und dem Kinderwunsch ($p=0,10$)
 - Bei korrektem Erkennen des Partnergeruchs, signifikant attraktivere Bewertung dessen ($t(81)=-4,12$, $p<0,001$)

5 Diskussion

5.1 Einfluss von HLA-Übereinstimmungen auf den allgemeinen und geschlechtsspezifisch wahrgenommenen Körpergeruch

Seit das Team um Yamazaki vor über 40 Jahren erstmals den Einfluss von MHC-Genen auf die Partnerwahl bei Mäusen beschrieben hat (Yamazaki et al., 1976), gab es in späteren Jahren immer wieder Studien, die versuchten dies auch beim Menschen nachzuweisen. Jedoch mit unterschiedlichsten, nicht kongruenten Ergebnissen.

5.1.1 Attraktivitätsbewertungen unserer Studie

In unserer Studie zeigte sich, wie eingangs hypothetisch erwartet, die Tendenz, dass der Geruch gegengeschlechtlicher HLA-ungleicher Shirts als attraktiver gegenüber Körpergerüchen von HLA-B- und-C-gleichen Individuen empfunden wird. Fasst man jeweils die beiden HLA-ungleichen (Partner und HLA-verschieden) und die beiden HLA-gleichen (HLA-B-gleich und HLA-C-gleich), welche ähnliche Attraktivitätswerte erhielten, zu einer Einheit zusammen und stellt diese vergleichend gegenüber, lässt sich erkennen, dass die HLA-ungleichen mit signifikant höheren Punktzahlen der Attraktivitätsskala bewertet wurden. Unsere Paare wiesen zu 70 % verschiedene HLA-Haplotypen auf und waren somit auch größtenteils ohne HLA-Übereinstimmungen auf dem „four digit level“.

Wenn man sich die Auftrennung der Ergebnisse nach dem Geschlecht anschaut, konnte bei unserer Stichprobe keinen signifikanten Einfluss des Geschlechts gezeigt werden. Weiterhin ließ sich auch keine signifikante Interaktion zwischen dem Geschlecht und der Bewertung der verschiedenen T-Shirtdüfte erkennen, jedoch betrug die Effektstärke dieser Interaktion $d=0,3$. Laut Lehrbuchautoren für Forschungsmethoden (Bortz und Döring, 2006) benötigt man für $\alpha=0,05$ und $d=0,3$ zur Abdeckung eines signifikanten Effektes einen optimalen Stichprobenumfang von $n=138$ Probanden, so dass man schlussfolgern kann, dass der Stichprobenumfang der vorliegenden Studie mit 93 Probanden lediglich zu gering gewählt war, um signifikante Ergebnisse zu erhalten. Jedoch konnte zumindest deskriptiv dargestellt werden, dass Männer in unserer Studie eher das Bekannte, also den Partner, bevorzugten und Frauen die Gerüche von HLA-verschiedenen Probanden durchschnittlich als zumindest gleichwertig mit dem Partnergeruch bewerteten. Frauen scheinen früheren Studien zufolge im Allgemeinen und insbesondere bei der Partnerwahl stärker zur Analyse und

Unterscheidung olfaktorischer Reize in Stande zu sein (Havlicek et al., 2008). Dies lässt sich am ehesten durch die evolutionär unterschiedlichen Fortpflanzungsstrategien erklären (Winternitz et al., 2017). Männer können sich permanent und fast grenzenlos fortpflanzen, sodass die Auswirkungen einer falschen Wahl nicht so sehr ins Gewicht fallen. Frauen dagegen sind zeitlich und zahlenmäßig begrenzt zur Fortpflanzung in der Lage. Sie suchen also vor allem einen Partner, der gesunden Nachwuchs zeugt und diesen auch gut beschützen kann. Deswegen sollten Frauen in der Lage sein alle Qualitäten eines möglichen Partners schnellstmöglich zu erfassen, was die besseren Fähigkeiten der olfaktorischen Wahrnehmung erklären könnte.

5.1.2 Vergleich mit weiblichen Attraktivitätsbewertungen anderer Studien

Wedekind und Kollegen erforschten 1995 bei einem der ersten Experimente dieser Art den Einfluss von HLA-Übereinstimmungen auf die weibliche olfaktorische Wahrnehmung (Wedekind et al., 1995). Dabei wurden ähnlich viele Probandinnen (n=49) wie in unserer Untersuchung getestet, jedoch keine Männer. Sie sollten den Geruch von in zwei aufeinanderfolgenden Nächten getragenen Shirts männlicher Spender bewerten, wobei die Verhaltensregeln wie bei unserer Studie waren. Den Probandinnen präsentierte man dann jeweils drei Shirts HLA-gleicher und HLA-verschiedener Spender. Typisiert wurden hierbei HLA-A, HLA-B und HLA-DR. Der Methodenbeschreibung ist nicht zu entnehmen, was genau als HLA-gleich definiert wurde, welche Regionen des Shirt zur olfaktorischen Testung dargeboten wurden und ob es zu wiederholten Präsentationen kam. Weiterhin unterzogen sich die Frauen einer speziellen, gezielten Vorbereitung, indem sie während der zwei Wochen vor der Testung Nasenspray verwenden und das Buch „Das Parfüm“ von Patrick Süskind lesen sollten. Diese Voreingenommenheit und mögliche Aufdeckung der Studienziele gegenüber den Probandinnen wurde von anderen Autoren im Nachgang kritisiert (Hedrick und Loeschcke, 1996). Allerdings konnte die Versuchsauswertung im Einklang mit unseren allgemeinen Ergebnissen zeigen, dass die Probandinnen die HLA-verschiedenen Shirts als signifikant attraktiver empfanden.

Auch brasilianische Forscher widmeten sich olfaktorischen Präferenzen mit Bezug auf HLA-Übereinstimmungen (Sandro Carvalho Santos et al., 2005). Bei deren Studie trugen jeweils 29 Männer und Frauen zur Gewinnung des Körpergeruchs für fünf Tage ein Stück Baumwollmull an einer Kette in der Nähe des Sternums. Auch hier wurde sich nur auf Klasse-I-Gene bezogen (HLA-A, HLA-B). Jeder Proband und jede Probandin sollte anschließend sowohl die Gerüche der jeweils 29 gegengeschlechtlichen Kettenanhänger als

auch deren Urinproben beurteilen. Für Männer zeigten sich sowohl keine signifikanten Unterschiede in den Beurteilungen der Urinproben und der Körpergerüche, als auch keine Abhängigkeit von HLA-Übereinstimmungen. Bei Frauen konnte für die olfaktorische Bewertung der Urinproben ebenfalls kein Zusammenhang mit HLA-Übereinstimmungen gezeigt werden. Jedoch ließ sich für weibliche Probanden eine signifikante Korrelation zwischen fehlendem „HLA-Match“ und Geruchsattraktivität erkennen. Bei näherer Analyse lässt sich allerdings erkennen, dass dies vorrangig auf der hohen Anzahl an Probandinnen basierte, die sich, anstelle den Geruch mit „angenehm“ oder „unangenehm“ zu bewerten, für ein „unentschlossen“ entschieden. Es wurde argumentiert, dass die Unsicherheit über die Attraktivität des Geruchs mit sinkenden HLA-Übereinstimmungen zunahm. Insgesamt wurde die Methodik der Studie im Nachgang für die Nichterfassung weiblicher, hormoneller Einflüsse kritisiert (Havlicek und Roberts, 2009).

Die Erforschung von 49 Frauen einer isoliert lebenden Glaubensgemeinschaft, der Hutterer, erbrachte Hinweise, dass bei solcher Lebensform mit möglicher Inzucht ein intermediäres Level an „HLA-Matches“ den attraktivsten Körpergeruch zur Folge hat (Jacob et al., 2002). Dabei geschah die Wahl der attraktivsten Shirts in Abhängigkeit des „Matches“ zum väterlicherseits vererbten HLA-Allel. Allerdings wurde auch hier der weibliche Zyklus nicht erfasst und auch die Stichprobe lässt sich nicht mit anderen Studien an modernen und nichtreligiösen Lebensformen vergleichen (Havlicek and Roberts, 2009).

Im Gegensatz dazu gibt es einige Studien, die keinen signifikanten Einfluss von HLA-Übereinstimmungen auf Geruchspräferenzen von Frauen fanden. So konnten Roberts und Mitarbeiter bei gleichem Studiendesign wie Wedekinds Originalstudie nicht dessen Ergebnisse bestätigen (Roberts et al., 2008). Auch bei Thornhill und seinem Team konnte für 100 Probandinnen kein Zusammenhang zwischen Geruchsattraktivität und HLA-Übereinstimmungen, wohl aber zur HLA-Heterozygotie gezeigt werden (Thornhill et al., 2003). Deren Studie und auch die von Kromer et al. (Kromer et al., 2016), die als Grundlage der hier vorliegenden Forschung diente, betonen die entscheidende Rolle des HLA-B bei der Partnerwahl. Auch bei unseren Paaren war keine alleinige Übereinstimmung in dieser Subklasse zu erkennen. Dies bestätigt einerseits die erwähnte These, andererseits ist an der dazugehörigen Stelle des MHC der größte Reichtum an Polymorphismen des gesamten menschlichen Genoms vorzufinden (Mungall et al., 2003; Robinson et al., 2017), was die Wahrscheinlichkeit für eine gentische Übereinstimmung sehr gering erscheinen lässt. Auch die durch die High-Resolution-Sequenzierung möglichgewordene Betrachtung der HLA-Übereinstimmungen auf dem „four digit level“, wodurch die Anzahl der Übereinstimmungen im Gegensatz zu Studien, die ältere serologische Methoden verwendeten, erheblich sinkt, trägt dazu bei. In einigen Studien ist gar keine Angabe über die genaue Auswertung zu

finden, was den Vergleich der Ergebnisse beruhend auf gleicher Methodik schwierig werden lässt.

5.1.3 Vergleich mit männlichen Attraktivitätsbewertungen anderer Studien

Das Experiment von Thornhill et al. wurde gleichzeitig auch mit 97 Männern durchgeführt und zeigte deren Bevorzugung von HLA-verschiedenen weiblichen Düften. Auch eine Nachfolgearbeit von Wedekind zu seiner Originalarbeit, wobei nun auch Männer mit einbezogen wurden, konnte diese Präferenz, mit erwiesenermaßen recht kleiner Stichprobe, hervorheben (Wedekind und Furi, 1997). In zwei weiteren Studien ergaben sich allerdings, im Einklang mit unseren Beobachtungen, keine Hinweise für männliche Präferenz von HLA-verschiedenen Körpergerüchen (Sandro Carvalho Santos et al., 2005; Probst et al., 2017).

5.1.4 Vergleich mit Übersichtsarbeiten sowie nähere Beleuchtung der Hintergründe

Insgesamt werden die meisten Studien bei einem Review (Havlicek und Roberts, 2009) kritisch betrachtet, da es viele Moderatorvariablen und die Unsicherheit gibt, ob die Bevorzugung ungleicher Gerüche nicht eher auf genomweiten als auf MHC-spezifischen Effekten beruhen. Weiterhin werden dort auch Studien näher beleuchtet (Little et al., 2002; Havlicek et al., 2005), die auf einem möglichen Unterschied basieren, ob es sich bei der Bewertung von Körpergerüchen um Kurz- oder Langzeitaspekte handelt. Es wird dargelegt, dass Körpergerüche durch Alleinstehende oder liierte Probanden möglicherweise vor unterschiedlichen Hintergründen beurteilt werden. Frauen, die bereits in einer Partnerschaft leben würden den jeweiligen Duft nicht mehr als Signal zur Partnerwahl werten, sondern eher das aktuelle Gefallen, also ein Kurzzeitaspekt, bewerten. Dagegen wären Alleinstehende eher auf der Suche nach einem Partner, an den sie sich langfristig binden können, also einem Langzeitaspekt. So wie sich die Präferenz über den weiblichen Zyklus ändert (s.u.), könnte sich auch hierbei die Bewertung von Körpergerüchen kontextuell ändern. Kurzfristig sind eventuell eher dominante und maskuline Männer gefragt, wogegen langfristig eher Männer zum Schutz und zum guten Umsorgen des potenziellen Nachwuchses gefragt sind. Auch Roberts und Kollegen (Roberts et al., 2008) konnten zeigen, dass Frauen in Partnerschaft eher MHC-ungleiche Körpergerüche präferieren, während Alleinstehende den Geruch von Männer mit „HLA-Match“ bevorzugen. Begründet wurde dieser Unterschied mit dem Argument, dass Frauen in Partnerschaften durch häufigeren nahen Körperkontakt besser auf die Geruchswahrnehmung trainiert sind und somit Gerüche besser und genauer unterscheiden können. Hier bleibt die Frage offen, ob

sich unsere Ergebnisse, welche ausschließlich auf liierten Probanden beruhen, tatsächlich einfach mit anderen Studien vergleichen lassen.

Mit der Frage, warum die Gesamtheit der Studienergebnisse so stark inhomogen ist, beschäftigt sich auch die Metaanalyse von Winternitz et al. (Winternitz et al., 2017). Sie untersuchten die Datenlage zur HLA-abhängigen Partnerwahl sowohl bei Primaten als auch beim Menschen. Analysiert wurden dabei sowohl, wie bei uns, Studien, die die Wahl eines Partners ohne HLA-Übereinstimmung untersuchten, als auch Studien, die die Wahl eines HLA-heterozygoten Partners untersuchten. Im Ergebnis dieser Metaanalyse ließ sich erkennen, dass Geruchspräferenzen beim Menschen zwar signifikant von der HLA-Heterozygotie abhängig sind, jedoch nicht von HLA-Ungleichheit.

Die olfaktorische Wahrnehmung von HLA-Übereinstimmungen im Rahmen der Partnerwahl wurde schon damals von Yamazaki et al. als zur Erkennung von Verwandten und somit zur Vermeidung von Inzucht sowie zur Vergrößerung der Immundiversität der Nachkommen deklariert (Yamazaki et al., 1976; Milinski, 2006). Allerdings zeigte sich später, dass es gar nicht entscheidend ist die maximale Immundiversität zu erzeugen, da zu viele unterschiedliche Allele autoreaktive T-Zellen und somit die Immunantwort vermindern können (Woelfing et al., 2009). Vielmehr kommt es auf die optimale und zwar genau an die jeweilige Umwelt und dadurch an die aktuelle Pathogenlage angepasste Immunkompetenz an. So logisch diese Erklärungen auch klingen mögen, konnte für die 31 Studien, die die menschliche Partnerwahl im Hinblick auf HLA-Übereinstimmungen untersuchten, bei dieser Metaanalyse kein signifikanter Zusammenhang gezeigt werden. Dies stellt somit keine Bestätigung unserer Ergebnisse dar.

Doch wie kommt es nur zu solch einer extremen Bandbreite von Studienergebnissen, unter denen auch welche mit der vorliegenden Studie übereinstimmen?

Eines der größten Probleme bei HLA-abhängigen Partnerwahlstudien ist vor allem die Heterogenität der jeweils untersuchten Population. Da die genetische Variation von der ethnischen Herkunft und die Allelfrequenz in einer Population von der geografischen Ausbreitung sowie deren Heterogenität abhängig ist. Von entscheidender Rolle für die Durchführung und Vergleichbarkeit von solchen Studien ist also die Erfassung bzw. Kontrolle der ethnischen und geografischen Heterogenität der jeweiligen Stichprobe (Winternitz et al., 2017). Winternitz erklärt weiter, dass, wenn neben einer (wenn auch nicht signifikanten) Tendenz zur Bevorzugung HLA-ungleicher Gerüche noch eine Bevorzugung von Gesichtern HLA-gleicher Individuen (Roberts et al., 2005a) kommt, der Ansatzpunkt, eine ausgewogene, optimale HLA-Diversität zu schaffen, immer logischer erscheint. Da es in der menschlichen Bevölkerung möglicherweise immer mehr Ausbreitung und Vermischung der Populationen

über den gesamten Globus gibt, ist die optimale HLA-Zusammensetzung, die bei der Partnerwahl ausgesucht werden soll, abhängig vom ökologischen und demografischen Kontext. Es soll also je nach vorherrschender Grundsituation ein Partner gewählt werden, der entweder mehr gleiche Gene (bei sehr großer HLA-Vielfalt in der Population) oder weniger gleiche MHC-Gene (bei sehr homogener Population) birgt (Jacob et al., 2002; Milinski, 2006; Roberts, 2009). Dafür, dass diese Theorie die Inhomogenität der Studienergebnisse erklären könnte, spricht auch, dass bei Primaten, welche eine genetisch weitaus isoliertere, also weniger heterogene Gruppe sind, noch immer eine solche Präferenz für MHC-ungleiche Partner zu beobachten ist. Dadurch ergibt sich für sie die Möglichkeit, dem Selektionsdruck auf dem Boden der Immunabwehr entgegen zu kommen. Ein weiterer Aspekt der dafür spricht ist, dass auch für die acht menschlichen Partnerwahlstudien, welche ethnisch sehr heterogene Stichproben beinhalteten, eine signifikante Präferenz für HLA-gleiche Körpergerüche in der Metaanalyse gezeigt werden konnte (Winternitz et al., 2017). Es ließe sich also argumentieren, dass unsere Ergebnisse insbesondere durch eine recht hohe ethnische Homogenität die Tendenz bzw. Signifikanz zur Präferenz von HLA-ungleichen Körpergerüchen aufweist.

Es wurde in der Metaanalyse mit der Hypothese der Wahl eines HLA-heterozygoten Partners noch ein weiterer großer Einflussfaktor, welcher bei unserer Studie leider nicht so viel Beachtung fand, analysiert. Dabei zeigte sich für die zehn menschlichen Studien auf diesem Gebiet, dass die Präferenz für HLA-heterozygote Partner signifikant war (Winternitz et al., 2017). Begründet wird diese Bevorzugung mit dem Einfluss, den Heterozygotie auf die Fitness und Gesundheit des jeweiligen Individuums und des potenziellen Nachwuchses haben soll. Ein gesünderer Partner solle besser auf die Familienmitglieder Acht geben können und infiziere diese auch weniger mit Krankheitserregern (Roberts et al., 2005b). Als indirekter Indikator für Heterozygotie und somit zur schnellen Registrierung dessen dient der Phenotyp eines Individuums. Es lässt sich über Körperform, Gesicht, Hautbeschaffenheit und -farbe die Gesundheit (Roberts et al., 2005b) sowie eine gemischte Ethnizität identifizieren, welche als Inbegriff der Heterozygotie gilt (Little et al., 2012). Aus diesem Grund ist es möglich, dass sich HLA-Heterozygote schneller identifizieren lassen als Menschen, deren HLA-Moleküle ungleich den eigenen sind. Dies ist als weiteres Argument des größeren Einflusses der HLA-Heterozygotie im Rahmen der Partnerwahl im Gegensatz zum „HLA-Match“ anzusehen. Allerdings wird auch in dieser Metanalyse zu bedenken gegeben, dass nicht sicher unterschieden werden kann, ob es sich hierbei um ein HLA-abhängiges Phänomen oder eher um die allgemeine Bemühung handelt, bei der Fortpflanzung eine genomweite Heterogenität zu erzeugen.

5.1.5 Intensitätsbewertungen

Die Intensitätsbewertungen der T-Shirt-Gerüche zeigten sowohl allgemein als auch geschlechtsspezifisch keinen signifikanten Zusammenhang mit dem „HLA-Match“. Dabei stimmen die Ergebnisse mit anderen Studien dieser Art überein (Wedekind et al., 1995; Sandro Carvalho Santos et al., 2005) und widerlegen die eingangs aufgestellte Hypothese. Erstaunlich ist der Gegensatz zu der Intensitätsempfindung von alltäglichen Düften, die als nicht sehr attraktiv gewertet werden (Distel et al., 1999). Möglicherweise erinnern uns die HLA-gleichen Gerüche in gewissem Maße an unseren eigenen Körpergeruch, an welchen wir uns gewöhnt haben und ihn deshalb als nicht so intensiv und nur noch abgeschwächt wahrnehmen.

5.2 Einfluss des weiblichen Hormonstatus auf die Bewertung von Körpergerüchen

5.2.1 Orale Kontrazeption

Bei separierter Analyse der Probandinnen mit oraler Kontrazeption (n=28) und Probandinnen ohne (n=18) ließ sich allgemein erkennen, dass Frauen unter Einfluss der Pille alle Shirts mit niedrigeren Attraktivitätswerten benotet hatten. Weiterhin zeigte sich, dass der o.g. Effekt, dass Frauen HLA-unterschiedliche Körpergerüche mindestens als gleichwertig mit dem Partnergeruch ansehen, vor allem auf der Bewertung durch nichthormonellverhütende Frauen beruht. Die HLA-verschiedenen Shirts werden von diesen als signifikant attraktiver bewertet. Betrachtet man die grafische Darstellung der Bewertungen von Frauen mit und ohne Pille sowie Männern, lässt sich eine, wenn auch nicht signifikante, Besonderheit erkennen. Frauen unter dem Einfluss oraler Kontrazeptiva bewerten Körpergerüche ähnlich wie Männer. Beiden Gruppen empfinden das Bekannte, das Vertraute, am attraktivsten. Dagegen bewerten Frauen ohne orale Kontrazeption die T-Shirts eher vor dem Hintergrund von fehlenden HLA-Übereinstimmungen. So empfinden sie das HLA-verschiedene T-Shirt signifikant und mit Abstand am attraktivsten.

Bereits Wedekind und Kollegen sind 1995 in ihrer Pionierarbeit auf die Effekte einer solchen Verhütungsform eingegangen. Obwohl die damalige chemische Zusammensetzung der „Pille“ sicherlich nicht mit der heutigen vergleichbar ist, zeigte sich dort eine nichtsignifikante Bevorzugung von HLA-gleichen Gerüchen durch Pillennutzerinnen (Wedekind et al., 1995). Und auch die Studie von Roberts und seinem Team, welche erstmals ein Studiendesign wählten, das Probandinnen vor und nach Beginn einer oralen Kontrazeption testete, zeigte

den gleichen Einfluss der Pille auf das Ergebnis (Roberts et al., 2008). Da es sich nicht um eine randomisierte Doppelblindstudie handelte, gaben die Autoren zu bedenken, dass möglicherweise nicht die Pille selbst sondern vielmehr die mit dieser Verhütungsmethode verbundene Lebenseinstellung die entscheidende Rolle spielt. So könnte dieses Ergebnis eher durch den Wunsch, Single und sexuell uneingeschränkt zu bleiben, beeinflusst worden sein. Da bei unserer Studie keine Singles involviert waren, könnte es sich hier um einen Ansatzpunkt für die Erklärung möglicher Unterschiede handeln.

Der Aspekt, dass Frauen und in diesem Fall Frauen ohne den Einfluss hormoneller Verhütung Gerüche im Allgemeinen stärker wahrnehmen, wurde bereits weiter oben erörtert.

Unsere Darstellung der Ähnlichkeit des Bewertungsschemas von Frauen unter Pilleneinfluss im Vergleich zum männlichen passt zu den Beobachtungen, dass Frauen durch die Inhaltsstoffe der Kontrazeptiva z.T. männlichere Verhaltensweisen aufzeigen. Durch die synthetischen Steroide werden endogen gebildetes Östradiol und Progesteron reduziert, was zu einem Anstieg an Testosteron und zur vermehrten Umwandlung in Dihydrotestosteron, der physiologisch aktiven Form, führt. Das hat wiederum zur Folge, dass im Gehirn eher männliche Strukturen, Funktionen und Verhaltensweisen angesprochen werden (Pletzer und Kerschbaum, 2014).

Es gibt allerdings auch einige Studien, die zeigen, dass eine orale Kontrazeption die Partnerwahl potenziell dahingehend beeinflussen kann, dass dann eher weniger maskuline Männer ausgewählt werden (Little et al., 2002; Alvergne und Lummaa, 2010). Dies könnte eine Folge des Verlustes eines normalen Hormonzyklus' sowie dessen physiologische zyklische Veränderungen (s.u.) durch die Durchführung dieser Verhütungsmethode sein (Alvergne und Lummaa, 2010).

Dass der weibliche Menstruationszyklus und orale Kontrazeption als starke Confounder anzusehen sind, betonen auch Havlicek und Roberts in ihrem Review (Havlicek und Roberts, 2009) und auch Winternitz und Kollegen schließen in ihrer Metaanalyse Studien aus, in denen die Nutzung dieser Verhütungsmethode nicht erfasst wurde (Winternitz et al., 2017).

5.2.2 Menstruationszyklus

Dass der Zykluszeitpunkt einen Einfluss auf die Bewertung der Körpergerüche hat, zeigte sich in unserer Untersuchung und widerlegt unsere Hypothese.

Dies ist erstaunlich, da Frauen ohne hormonelle Verhütung in der Ovulationsphase im Allgemeinen eher maskuline und dominante Männer bevorzugen, was als Indikator für eine

gute genetische Qualität gewertet wird. Dies scheint eher im Kurzzeitkontext, nämlich für den Fall von außerpartnerschaftlichem Sex, zu sehen zu sein. So soll dadurch die Steigerung des Reproduktionserfolges sowie ein genetischer Vorteil für potenziellen Nachwuchs erbracht werden (Thornhill 2008). Allerdings wird von Frauen in Langzeitbeziehungen dieser Nutzen mit den Kosten abgewogen, sodass es nur selten zu solchen Seitensprüngen während der Zyklusmitte kommt (Alvergne und Lummaa, 2010). Außerhalb dieser Phase sowie in Bezug auf Langzeitbeziehungen werden eher Männer bevorzugt, die Qualitäten eines „guten Vaters“ aufzeigen, u.a. vermittelt durch eher weibliche Gesichtszüge (Alvergne und Lummaa, 2010). Dabei sind vorrangig nichtgenetisch bedingte Qualitäten wie elterliche Fürsorge und gemeinsame Kooperation von Bedeutung. Auch Frauen selber verändern unbewusst ihre Wirkung auf Männer während des Zyklus'. In der fruchtbaren Phase kleiden sie sich attraktiver und weisen auch für Männer eine höhere olfaktorische Attraktivität auf (Thornhill et al., 2003).

Bei Frauen, die orale Kontrazeptiva einnehmen, sind all diese zyklischen Änderungen nicht mehr zu erkennen. Sowohl die eigenen Präferenzen als auch das Selbstbildes gegenüber der Umwelt zeigen sich nicht mehr veränderlich (Kuukasjarvi, 2004) und verharren im Allgemeinen im Status der nichtfruchtbaren Phase, sodass sich auch die Vorlieben für unterschiedlich maskuline Männer nicht mehr ändern und eventuell ein anderer Partner gewählt wird, als es sonst der Fall wäre (Alvergne und Lummaa, 2010). Dies belegt auch die Studie von Roberts und Kollegen. Sie konnten zeigen, dass Frauen, die eine Beziehung mit dem Vater ihres Kindes unter Einnahme einer hormonellen Verhütung eingingen, signifikant unzufriedener mit der Partnerschaft und der Sexualität waren. Andererseits fanden sie, passend zu dem Verlust der normalen zyklischen Veränderungen, dass eben solche Frauen signifikant zufriedener mit der elterlichen Fürsorge des Partners waren (Roberts et al., 2012).

Da bei unserer Untersuchung mehr als die Hälfte der Probandinnen das zyklusabhängige Verhalten durch die Einnahme der oralen Kontrazeptiva nicht mehr zeigten, ist der Einfluss von Frauen mit einem normalen Zyklus möglicherweise zu gering, was am ehesten als Erklärung für den ausbleibenden Effekt in unserer Studie anzusehen ist.

5.3 Einfluss des HLA-abhängigen Körpergeruchs auf verschiedene Partnerschaftsaspekte

Wie erwartet, stellte sich in unserer Studie heraus, dass die Partnerschaftsdauer und die Attraktivität des Partnershirts positiv miteinander korrelieren. Je länger eine Partnerschaft

andauert, desto attraktiver wird der Körpergeruch des Partners empfunden. Allerdings lässt sich bei der geschlechtsspezifischen Betrachtung erkennen, dass dieses Ergebnis nur durch Männer hervorgerufen wird. Es zeigt sich auch hier wieder, dass Männer das Bekannte mögen und Frauen tatsächlich olfaktorisch differenzieren.

Jedoch muss man an dieser Stelle auch noch einmal betonen, dass Attraktivität mehr bedeutet, als einen guten Körpergeruch zu besitzen. Sie ist multimodal und integriert zusätzlich zum Geruch auch noch visuelle und auditive Einflüsse (Groyecka et al., 2017). Für den Partner kommen zusätzlich zu einer gewissen Vertrautheit noch multiple andere Faktoren hinzu.

Erstaunlicherweise konnte sich allerdings ein subjektiv attraktiv wahrgenommener Geruch des Partners, angegeben in einem Fragebogen, nicht immer durch unsere objektive Testung bestätigen lassen. Es ergab sich keine signifikante Korrelation zwischen „subjektiven“ und „objektiven“ Bewertungen von Körpergerüchen. Dabei spielt wahrscheinlich eine Rolle, dass die Probanden die Fragebögen zu Hause ausgefüllt haben. Eine eventuell räumliche Nähe zum Partner, der ebenfalls gerade den Fragebogen ausfüllte, lässt nicht immer objektives und kritisches Bewerten zu. Weiterhin ist, wie bereits erwähnt, die Attraktivität durch viele Facetten geprägt.

Erstmals in einer Körpergeruchstudie untersuchten wir den Zusammenhang zwischen den Geruchsattraktivitäten und dem Kinderwunsch. Dabei zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der Attraktivität von HLA-gleich sowie –verschieden und dem Wunsch mit dem Partner ein Kind zu haben. Überraschenderweise ließ sich allerdings auch keine Abhängigkeit zur Attraktivitätsbewertung des Partnershirts feststellen. Über den genauen Grund dafür kann man lediglich spekulieren. In Betracht kommt dabei auf jeden Fall der sozioökonomische Status unserer Probanden. Der Großteil hatte oder hat aktuell noch Zugang zu akademischer Bildung. In dieser sozialen Schicht basiert die Entscheidung für oder gegen ein Kind nicht vorrangig auf der sexuellen, auch durch den Geruch vermittelten, Anziehungskraft des Partners. Multiple individuelle Faktoren und Wertvorstellungen beeinflussen dabei die Verhaltensintention Kinderwunsch. Besonders bedeutend sind hier Karriereziele und insgesamt familienpolitische Rahmenbedingungen. Weiterhin zeigt sich die Ausprägung eines Kinderwunsches über alle sozialen Schichten hinweg von vielen anderen Variablen beeinflusst. Dabei spielen sowohl Unterstützungssysteme, die über die Vereinbarkeit von Familie und Beruf entscheiden, und finanzielle Ressourcen als auch persönliche Aspekte, wie bspw. die eigene Gesundheit, das vorgestellte ideale Alter sowie der Festigungsgrad der Partnerschaft eine entscheidende Rolle (Klein, 2006).

Als Bestätigung für die Stabilität der Partnerschaften unserer Probanden stellte sich heraus, dass, wenn das Partnershirt korrekt erkannt wurde, dieses auch als signifikant attraktiver empfunden wurde. Auch konnte wieder beobachtet werden, dass es vor allem die weiblichen Probanden waren, die den Geruch korrekt interpretierten. Dadurch bestätigt sich zum einen die bereits diskutierte insgesamt größere Bedeutung von Gerüchen für dieses Geschlecht sowie zum anderen das unterschiedliche Reproduktionsverhalten von Frauen im Gegensatz zu Männern.

5.4 Schlussfolgerungen

Abschließend lässt sich sagen, dass ein Großteil der anfangs aufgestellten Hypothesen insgesamt bestätigt wurde. Allerdings scheinen Frauen ohne hormonelle Verhütung eine ganz besondere Stellung hinsichtlich der olfaktorischen Wahrnehmung einzunehmen. Auch die erkennbare Annäherung des Bewertungsmusters für Gerüche von Frauen mit oraler Kontrazeption an das von Männern zeigt sich erstmals in dieser Deutlichkeit.

Bei der kritischen Betrachtung der Methodik ist vor allem die doch recht kleine Stichprobe zu erwähnen. Deshalb sollten nachfolgende Studien zu diesem Thema, auch nach Empfehlung der Metaanalyse von Winternitz, mindestens 200 Paare umfassen (Winternitz et al., 2017). Weiterhin ist es bei Wiederholung eines solchen Designs von Vorteil die Rolle hormoneller Einflüsse noch besser zu dokumentieren, zu kontrollieren und mit einzubeziehen. Auch die ethnisch-homogene Zusammensetzung der Stichprobe sollte bei sich anschließenden näheren oder wiederholenden Forschungen auf diesem Gebiet stärker mit einbezogen werden, um populationsgenetische Effekte besser zu kontrollieren bzw. zu vermeiden.

Insgesamt lässt dieses Forschungsgebiet noch einige spannende Fragen für die Bevölkerung, die Wissenschaft und auch die (Parfüm)Industrie offen.

Im Anschluss an diese Studie, etwa zwei Jahre nach der Testung mittels T-Shirts, fand eine erneute Befragung unserer Probanden bezüglich der Entwicklung ihrer Partnerschaft statt. Diese Langzeitbetrachtung im Bezug auf HLA-Übereinstimmungen wird möglicherweise neue und explizite Hinweise geben, ob die gefundenen Ergebnisse in eben jenem Langzeitkontext zu sehen sind oder eher doch in einem kurzzeitigen Zusammenhang.

6 Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, dass das Human Leukocyte Antigen (HLA) durch Übereinstimmungen der Subklassen –B und –C Einfluss auf den Körpergeruch und die Partnerschaft nimmt (Kromer et al., 2016). Angelehnt an diese Forschungsarbeit zielte unsere Studie darauf ab, diesen Einfluss in gefestigten Partnerschaften experimentell nachzuweisen. Dazu schliefen 48 Paare nach der HLA-Typisierung für zwei aufeinanderfolgende Nächte in bereitgestellten T-Shirts. Anschließend sollten die Probanden an einem Testtag nach Feststellung einer Normosmie vier gegengeschlechtlich getragene Shirts nach deren Geruchsattraktivität beurteilen. Davon stammte eines vom Partner, eines von einem HLA-B-gleichen und eines von einem HLA-C-gleichen Probanden sowie eines von einem Probanden, der sich unterschiedlich in diesen Subklassen zeigte.

Bei der Betrachtung der Einzelbewertungen für die Shirts sowie bei der Gegenüberstellung der zwei Gruppen HLA-gleicher (HLA-B-gleich, HLA-C-gleich) und HLA-unterschiedlicher (HLA-verschieden, Partner) Shirts lässt sich erkennen, dass die HLA-unterschiedlichen Körpergerüche im Einklang mit Wedekinds erster Studie dieser Art (Wedekind et al., 1995) als attraktiver empfunden wurden. Rein statistisch ließ sich kein geschlechtsspezifischer Unterschied feststellen. Jedoch wiesen Männer rein deskriptiv eine Präferenz für den Partnerkörpergeruch, Frauen dagegen für HLA-unterschiedliche Körpergerüche auf. Nach der Aufteilung der weiblichen Probanden anhand der Verwendung oraler Kontrazeptiva zeigte sich, dass dieser Effekt vorrangig durch Frauen ohne hormonelle Verhütung getragen wird. Besonders bemerkenswert ist auch, dass Frauen mit Pille dabei ein ähnliches olfaktorisches Bewertungsmuster wie Männer aufweisen. Entgegen der aktuellen Forschungslage schien der Menstruationszyklus in unserer Studie keinen Einfluss zu haben. Die Intensität der Körpergerüche zeigte sich unbeeinflusst von HLA-Übereinstimmungen.

Bei der Analyse partnerschaftlicher Aspekte konnte, wie erwartet, ein Zusammenhang zwischen Attraktivität des Partnergeruchs und der Partnerschaftsdauer sowie zwischen der korrekten Identifikation des Partnergeruchs und dessen Attraktivität aufgezeigt werden. Je länger die Partnerschaft dauert, desto attraktiver ist der Körpergeruch des Partners. Dies scheint vor allem durch die Bewertungen der Männer beeinflusst. Wenn der Partner korrekt identifiziert wurde, war er olfaktorisch auch deutlich attraktiver, wobei eher die Frauen zur korrekten Wahl fähig waren. Der Kinderwunsch in einer jeweiligen Partnerschaft zeigte überraschenderweise keinen Zusammenhang mit der Attraktivität des Partnergeruchs.

Beim Vergleich von subjektiv wahrgenommenem Partnergeruch, bewertet mittels Fragebogen, und objektiv wahrgenommenem Partnergeruch ließ sich erstaunlicherweise keine Übereinstimmung der Ergebnisse erkennen.

Wenngleich sich im Einklang mit anderen Studien dieser Art eine Präferenz für den Körpergeruch HLA-unterschiedlicher Individuen zeigte, ließ sich aber auch erkennen, dass die Partnerwahl ein komplexeres Geschehen ist, bei welchem die olfaktorisch vermittelten Informationen nur einen Aspekt darstellen. Frauen wiesen allgemein ein besseres Riechvermögen bzw. eine höhere Interesse an Gerüchen auf, wobei jene ohne hormonelle Verhütung eine tragende Rolle einzunehmen scheinen. Diese Phänomene lassen sich evolutionär durch die Vermeidung von Inzucht und der Zeugung möglichst gesunder Nachkommen begründen. Allerdings ist die Entscheidung für oder gegen einen HLA-gleichen Partner auch abhängig von der genetischen und ethnischen Homogenität der jeweiligen Population. Dadurch lassen sich die Studienergebnisse an unterschiedlichen Populationen nicht ohne Weiteres miteinander vergleichen und somit kann man auch die Ergebnisse unserer Untersuchungen nicht verallgemeinern.

7 Summary

Human leukocyte antigen (HLA) status has been shown to influence the quality of human partnership and the role of HLA-dissimilar loci B and C (Kromer et al., 2016). According to this we investigated whether the judgment of body odours depends on HLA-similarity. For this purpose we were characterizing 48 couples for HLA and after this they wore T-Shirts for two consecutive nights. Subsequently they were asked to judge the odour attractiveness and intensity of four T-Shirts from the opposite sex, which included one partner's shirt, two HLA-similar shirts (one HLA-B-, one HLA-C-similar) and one HLA-dissimilar shirt. In line with previous findings (Wedekind et al., 1995) we showed that there is a tendency that HLA-dissimilar body odours are rated as more attractive. When comparing the two groups, HLA-similar (HLA-B-, HLA-C-similar) and HLA-dissimilar (partner, HLA-dissimilar), there is a significant preference for HLA-dissimilarity. Separate analyses for the sexes did not show statistically significant effects. However the pattern of results indicated that men prefer the partner's body odour, this is in contrast to women who prefer both HLA-dissimilar shirts. When investigating differences between women with or without oral contraceptives, it became apparent that this effect was mainly driven by women without hormonal contraception. Interestingly, women with oral contraceptives showed a pattern of odour ratings similar to men. In contrast to other research, the menstrual cycle did not appear to have an influence on ratings of odour attractiveness. The intensity of body odors was unaffected by HLA-matches.

With regard to specific aspects of a partnership we showed a link between the attractiveness of the partner's body odour and the duration of the partnership as well as between the correct identification of the partner's shirt and its attractiveness. The attractiveness of the body odor of the partner increased with the duration of the partnership; this was mostly due to the ratings of the participating men. If the partner was correctly identified, his or her body odor was rated as more attractive. Women were better in the correct identification of the partner's shirt.

The wish for children with the partner showed no relation with the attractiveness of partner's body odour. There was no significant agreement between ratings of the partner's body odour made by means of the partner's T-shirt or out of memory.

In conclusion, a preference for HLA-dissimilar individuals was shown. However, it was confirmed that mate choice is a complex process in which the olfactory cues are only one aspect. In general, women were more precise in their olfactory judgments. These phenomena may be evolutionarily justified by the avoidance of inbreeding and the production of healthy offspring.

8 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
APC	Antigen-präsentierende Zellen
bspw.	beispielsweise
CD4 / 8	Cluster of differentiation 4 / 8
CLIP	class II-associated invariante chain peptide
DKMS	Deutsche Knochenmarkspenderdatei
DNA	deoxyribonucleic acid
dNTPs	Desoxyribonukleosidtriphosphate
ER	Endoplasmatisches Retikulum
HFE	High Iron Fe
HLA	Human Leukocyte Antigen
Hsp	Hitzeschockproteine
IFN- γ	Interferon- γ
kb	kilo base pairs
kDa	Kilodalton
LT α	Lymphotoxin α
Mb	mega base pairs
MHC	Major Histocompatibility Complex
MIC	MHC class-I-like genes
MID	Molecular Identifier
Nk-Zellen	natürliche Killerzellen
OR	olfaktorischer Rezeptor
PCR	Polymerase Chain Reaction
s.	siehe
SD	Standardabweichung

Tab.	Tabelle
TAP	transporter associated with antigen processing
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
VNO	Vomeronasalorgan
xMHC	extended Major Histocompatibility Complex
z.T.	zum Teil

9 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: vereinfachte schematische Darstellung des Major Histocompatibility Complex mit seinen Abschnitten und den dort gelegenen Genen

Abb. 2: Schematische Darstellung des Aufbaus von HLA-Klasse-I- und -Klasse-II-Molekülen

Abb. 3: Nomenklatur

Abb. 4: beispielhafter Access Array Chip

Abb. 5: Automatisierte Beladung der Fluidigm Chips

Abb. 6: MiSeq

Abb. 7: Übereinstimmungen in Subklasse „-B“ und „-C“ bei den Partner-T-Shirts

Abb. 8: Mittelwerte der bewerteten Geruchsattraktivität der vier verschiedenen T-Shirts

Abb. 9: Mittelwerte der bewerteten Geruchsattraktivität der vier verschiedenen T-Shirts, nach dem Geschlecht der Probanden aufgetrennt

Abb. 10: Mittelwerte der bewerteten Geruchsintensität der vier verschiedenen T-Shirts

Abb. 11: Mittelwerte der Geruchsattraktivität der HLA-verschiedenen und HLA-gleichen T-Shirts in Abhängigkeit von oraler Kontrazeption

Abb. 12: Mittelwerte der bewerteten Geruchsattraktivität der verschiedenen T-Shirts nach oraler Kontrazeption aufgeteilt

Abb. 13: Korrelation der bewerteten Geruchsattraktivität des Partnershirts und der Partnerschaftsdauer nach dem Geschlecht aufgetrennt

10 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Beispielhafte Vorgehensweise bei der HLA-Auswertung

Tab. 2: Auflistung der Anzahl der jeweiligen Übereinstimmungen in Subklasse „-B“ und „-C“ bei den zugeteilten HLA-B-gleichen T-Shirts

Tab. 3: Auflistung der Anzahl der jeweiligen Übereinstimmungen in Subklasse „-B“ und „-C“ bei den zugeteilten HLA-C-gleichen T-Shirts

Tab. 4: zahlenmäßige Verteilung der Spenderinnen auf die vier Wochen des Menstruationszyklus aufgetrennt nach dem jeweiligen Einsatz als Test-T-Shirt

Tab. 5: Stichprobenbeschreibung

Tab. 6: Auflistung der Anzahl der jeweiligen Übereinstimmungen in Subklasse „-B“ und „-C“ bei den Partner-T-Shirts

Tab. 7: Überblick über die Mittelwerte und Standardabweichungen der Attraktivität der T-Shirts nach dem Geschlecht der Probanden aufgetrennt

11 Literaturverzeichnis

- Aitken RJ, Baker MA, Doncel GF, Matzuk MM, Mauck CK, Harper MJK. 2008. *As the world grows: contraception in the 21st century*. J Clin Invest 118:1330–1343.
- Alvergne A, Lummaa V. 2010. *Does the contraceptive pill alter mate choice in humans?* Trends Ecol Evol 25:171–179.
- Anthony Nolan Research Institute. *HLA Nomenclature @ hla.alleles.org*. [aktualisiert am: 19.01.2018, Aufruf am: 26.02.2018] URL: <http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>.
- Bortz J, Döring N. 2006. *Forschungsmethoden und Evaluation für Human- und Sozialwissenschaftler*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Braud VM, Allan DS, O’Callaghan CA, Söderström K, D’Andrea A, Ogg GS, Lazetic S, Young NT, Bell JI, Phillips JH, Lanier LL, McMichael AJ. 1998. *HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C*. Nature 391:795–799.
- Consortium TM sequencing. 1999. *Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex*. Nature 401:921.
- D’Aniello B, Semin GR, Scandurra A, Pinelli C. 2017. *The Vomeronasal Organ: A Neglected Organ*. Front Neuroanat 11:.
- Distel H, Ayabe-Kanamura S, Martínez-Gómez M, Schicker I, Kobayakawa T, Saito S, Hudson R. 1999. *Perception of everyday odors - Correlation between intensity, familiarity and strength of hedonic judgement*. Chem Senses 24:191–9.
- Dörries R, Hof H. 2017. *3 Das Erkennen von „fremd“ durch Zellen des Immunsystems. Medizinische Mikrobiologie*, 6. unveränderte Auflage. Thieme Verlag,.
- Dulberger CL, McMurtrey CP, Hölzemer A, Neu KE, Liu V, Steinbach AM, Garcia-Beltran WF, Sulak M, Jabri B, Lynch VJ, Altfeld M, Hildebrand WH, et al. 2017. *Human Leukocyte Antigen F Presents Peptides and Regulates Immunity through Interactions with NK Cell Receptors*. Immunity 46:1018–1029.e7.
- Fischer PDGF, Mayr PDWR. 2010. Das HLA-System. In: Kiefel PDV, Mueller-Eckhardt C, editors. *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie*, Springer Berlin Heidelberg, p 189–203.

- Groyecka A, Pisanski K, Sorokowska A, Havlíček J, Karwowski M, Puts D, Roberts SC, Sorokowski P. 2017. *Attractiveness Is Multimodal: Beauty Is Also in the Nose and Ear of the Beholder*. *Front Psychol* 8:.
- Havlicek J, Roberts SC. 2009. *MHC-correlated mate choice in humans: a review*. *Psychoneuroendocrinology* 34:497–512.
- Havlicek J, Roberts SC, Flegr J. 2005. *Women's preference for dominant male odour: effects of menstrual cycle and relationship status*. *Biol Lett* 1:256–259.
- Havlicek J, Saxton T, Roberts S, Jozifkova E, Lhota S, Varella Valentova J, Flegr J. 2008. *He sees, she smells? Male and female reports of sensory reliance in mate choice and non-mate choice contexts*. *Personal Individ Differ* 565–570.
- Hedrick P, Loeschcke V. 1996. *MHC and mate selection in humans?* *Trends Ecol Evol* 11:24.
- Horton R, Wilming L, Rand V, Lovering RC, Bruford EA, Khodiyar VK, Lush MJ, Povey S, Talbot CC, Wright MW, Wain HM, Trowsdale J, et al. 2004. *Gene map of the extended human MHC*. *Nat Rev Genet* 5:889–899.
- Jacob S, McClintock MK, Zelano B, Ober C. 2002. *Paternally inherited HLA alleles are associated with women's choice of male odor*. *Nat Genet* 30:175–179.
- Ka S, Lee S, Hong J, Cho Y, Sung J, Kim H-N, Kim H-L, Jung J. 2017. *HLAScan: genotyping of the HLA region using next-generation sequencing data*. *BMC Bioinformatics* 18:.
- Kayser FH, Böttger EC, Haller O, Deplazes P, Roers A. 2014. *Taschenlehrbuch Medizinische Mikrobiologie*. Georg Thieme Verlag. 1089 p.
- Klein D. 2006. *Zum Kinderwunsch von Kinderlosen in Ost- und Westdeutschland*. Materialien zur Bevölkerungswissenschaft.
- Klette K. 2013. *Pheromon-Party: Ich würd' sagen, die ist es schon mal nicht*. FAZNET.
- 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* 6:32550.
- Kuukasjarvi S. 2004. *Attractiveness of women's body odors over the menstrual cycle: the role of oral contraceptives and receiver sex*. *Behav Ecol* 15:579–584.

- Kwak J, Opiekun MC, Matsumura K, Preti G, Yamazaki K, Beauchamp GK. 2009. *Major histocompatibility complex-regulated odortypes: peptide-free urinary volatile signals*. *Physiol Behav* 96:184–188.
- Lange V, Böhme I, Hofmann J, Lang K, Sauter J, Schöne B, Paul P, Albrecht V, Andreas JM, Baier DM, Nething J, Ehninger U, et al. 2014. *Cost-efficient high-throughput HLA typing by MiSeq amplicon sequencing*. *BMC Genomics* 15:63.
- Lenochova P, Roberts SC, Havlicek J. 2009. *Methods of human body odor sampling: the effect of freezing*. *Chem Senses* 34:127–138.
- Little AC, Hockings KJ, Apicella CL, Sousa C. 2012. *Mixed-ethnicity face shape and attractiveness in humans*. *Perception* 41:1486–1496.
- Little AC, Jones BC, Penton-Voak IS, Burt DM, Perrett DI. 2002. *Partnership status and the temporal context of relationships influence human female preferences for sexual dimorphism in male face shape*. *Proc R Soc B Biol Sci* 269:1095–1100.
- Manzini I, Frasnelli J, Croy I. 2014. *Wie wir riechen und was es für uns bedeutet*. *HNO* 62:846–852.
- Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Fernández-Viña M, Geraghty DE, Holdsworth R, Hurley CK, Lau M, Lee KW, et al. 2010. *Nomenclature for factors of the HLA system, 2010*. *Tissue Antigens* 75:291–455.
- Mellins ED, Stern LJ. 2014. *HLA-DM and HLA-DO, key regulators of MHC-II processing and presentation*. *Curr Opin Immunol* 0:115–122.
- Milinski M. 2006. *The Major Histocompatibility Complex, Sexual Selection, and Mate Choice*. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 37:159–186.
- Milinski M, Croy I, Hummel T, Boehm T. 2013. *Major histocompatibility complex peptide ligands as olfactory cues in human body odour assessment*. *Proc R Soc B* 280:20122889.
- Mungall AJ, Palmer SA, Sims SK, Edwards CA, Ashurst JL, Wilming L, Jones MC, Horton R, Hunt SE, Scott CE, Gilbert JGR, Clamp ME, et al. 2003. *The DNA sequence and analysis of human chromosome 6*. *Nature* 425:805–811.
- Natsch A. 2014. *A human chemosensory modality to detect peptides in the nose?* *Proc R Soc B Biol Sci* 281:.

Pletzer BA, Kerschbaum HH. 2014. *50 years of hormonal contraception—time to find out, what it does to our brain*. Front Neurosci 8:.

Probst F, Fischbacher U, Lobmaier JS, Wirthmüller U, Knoch D. 2017. *Men's preferences for women's body odours are not associated with human leucocyte antigen*. Proc Biol Sci 284:.

Reuben A, Chung JW, Lapointe R, Santos MM. 2017. *The hemochromatosis protein HFE 20 years later: An emerging role in antigen presentation and in the immune system*. Immun Inflamm Dis 5:218–232.

Rieber EP, Roers A. 2010. *Grundlagen der Immunologie für Studierende Der Medizin*. Institut für Immunologie, Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus Technische Universität Dresden.

Roberts SC. 2009. *Complexity and context of MHC-correlated mating preferences in wild populations*. Mol Ecol 18:3121–3123.

Roberts SC, Gosling LM, Carter V, Petrie M. 2008. *MHC-correlated odour preferences in humans and the use of oral contraceptives*. Proc R Soc B Biol Sci 275:2715–2722.

Roberts SC, Klapilová K, Little AC, Burriss RP, Jones BC, DeBruine LM, Petrie M, Havlíček J. 2012. *Relationship satisfaction and outcome in women who meet their partner while using oral contraception*. Proc R Soc B Biol Sci 279:1430–1436.

Roberts SC, Little AC, Gosling LM, Jones BC, Perrett DI, Carter V, Petrie M. 2005a. *MHC-assortative facial preferences in humans*. Biol Lett 1:400–403.

Roberts SC, Little AC, Gosling LM, Perrett DI, Carter V, Jones BC, Penton-Voak I, Petrie M. 2005b. *MHC-heterozygosity and human facial attractiveness*. Evol Hum Behav 26:213–226.

Robinson J, Guethlein LA, Cereb N, Yang SY, Norman PJ, Marsh SGE, Parham P. 2017. *Distinguishing functional polymorphism from random variation in the sequences of >10,000 HLA-A, -B and -C alleles*. PLOS Genet 13:e1006862.

Rölle A, Pollmann J, Ewen E-M, Le VTK, Halenius A, Hengel H, Cerwenka A. 2014. *IL-12-producing monocytes and HLA-E control HCMV-driven NKG2C+ NK cell expansion*. J Clin Invest 124:5305–5316.

Rouas-Freiss N, Paul P, Dausset J, Carosella ED. 2000. *HLA-G promotes immune tolerance*. J Biol Regul Homeost Agents 14:93–98.

- Sandro Carvalho Santos P, Augusto Schinemann J, Gabardo J, Graça Bicalho M da. 2005. *New evidence that the MHC influences odor perception in humans: a study with 58 Southern Brazilian students*. *Horm Behav* 47:384–388.
- Santos PSC, Courtiol A, Heidel AJ, Höner OP, Heckmann I, Nagy M, Mayer F, Platzer M, Voigt CC, Sommer S. 2016. *MHC-dependent mate choice is linked to a trace-amine-associated receptor gene in a mammal*. *Sci Rep* 6:38490.
- Spehr M, Kelliher KR, Li X-H, Boehm T, Leinders-Zufall T, Zufall F. 2006. *Essential Role of the Main Olfactory System in Social Recognition of Major Histocompatibility Complex Peptide Ligands*. *J Neurosci* 26:1961–1970.
- Thornhill R, Gangestad S, Miller R, Scheyd G, K. McCollough J, Franklin M. 2003. *Major histocompatibility complex genes, symmetry, and body scent attractiveness in men and women*. *Behav Ecol* 14:668–678.
- Wedekind C, Furi S. 1997. *Body odour preferences in men and women: do they aim for specific MHC combinations or simply heterozygosity?* *Proc R Soc B Biol Sci* 264:1471–1479.
- Wedekind C, Seebeck T, Bettens F, Paepke AJ. 1995. *MHC-dependent mate preferences in humans*. *Proc Biol Sci* 260:245–249.
- Winternitz J, Abbate JL, Huchard E, Havlíček J, Garamszegi LZ. 2017. *Patterns of MHC-dependent mate selection in humans and nonhuman primates: a meta-analysis*. *Mol Ecol* 26:668–688.
- Witt M, Hummel T. 2006. *Vomer nasal Versus Olfactory Epithelium: Is There a Cellular Basis for Human Vomer nasal Perception?* *International Review of Cytology*, Elsevier, p 209–259.
- Woelfing B, Traulsen A, Milinski M, Boehm T. 2009. *Does intra-individual major histocompatibility complex diversity keep a golden mean?* *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 364:117–128.
- Yamazaki K, Boyse EA, Miké V, Thaler HT, Mathieson BJ, Abbott J, Boyse J, Zayas ZA, Thomas L. 1976. *Control of mating preferences in mice by genes in the major histocompatibility complex*. *J Exp Med* 144:1324–1335.
- Younger RM, Amadou C, Bethel G, Ehlers A, Lindahl KF, Forbes S, Horton R, Milne S, Mungall AJ, Trowsdale J, Volz A, Ziegler A, et al. 2001. *Characterization of clustered MHC-linked olfactory receptor genes in human and mouse*. *Genome Res* 11:519–530.

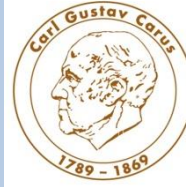
Ziegler A, Santos PSC, Kellermann T, Uchanska-Ziegler B. 2010. *Self/nonself perception, reproduction and the extended MHC*. *Self Nonsell* 1:176–191.

Zozulya S, Echeverri F, Nguyen T. 2001. *The human olfactory receptor repertoire*. *Genome Biol* 2:research0018.1-research0018.12.

Universitäts-HNO-Klinik Dresden

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Thomas Zahnert

Fetscherstraße 74, 01307 Dresden; Tel. 0351-458-4189



Verhaltensvoraussetzungen

Datum der Spendennächte _____ Probandencode _____

Zyklustage zur Spendenzeit
(Probandinnen) _____

Liebe Probanden,

der Körpergeruch kann durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. Aus diesem Grund bitten wir Sie für eine später verwertbare Körpergeruchsspende am Tag vor der ersten Spendennacht und in den beiden Nächten selbst einige Verhaltensvoraussetzungen einzuhalten. Lesen Sie diese bitte vor dem Tragen des Shirts sorgfältig durch.

Es kann vorkommen, dass Sie sich aus irgendeinem Grund nicht an einzelne Voraussetzungen halten konnten. In diesem Fall ist es wichtig, dass Sie uns darüber informieren, damit wir dies später bei der Auswertung berücksichtigen können.

1. Hygiene

Am Morgen vor der Spendennacht waschen Sie die Achseln bitte ausschließlich mit der beigefügten Waschlotion. Im restlichen Tagesverlauf verwenden Sie bitte ausschließlich Wasser zum Waschen der Achseln. Wir bitten Sie, kein Deo zu benutzen und darauf zu achten, dass keine anderen Produkte (z.B. Parfüm, Lotion, Rasierschaum etc.) aufgetragen werden. Auch die Anwendung von Parfüm & Deo auf der Kleidung soll unterbleiben. Bitte waschen Sie Ihre Bettwäsche mit dem beigefügten Waschmittel, bevor Sie die 2 Spendennächte darin schlafen.

Konnte dies nicht eingehalten werden, notieren Sie hier bitte

Uhrzeit _____ Hygienemittel _____

Uhrzeit _____ Hygienemittel _____

2. Nahrungs- und Genussmittel

Achten Sie bitte darauf ab dem Morgen vor der ersten Spendennacht keine Zwiebeln, keinen Spargel, keinen Knoblauch und generell keine stark gewürzten Speisen (z.B. asiatische Küche) zu sich zu nehmen. Auch sollten Sie an diesem Tag möglichst nicht rauchen, keinen Alkohol trinken und keine Drogen wie Marihuana etc. anwenden. Sollte es Ihnen nicht möglich sein, das Rauchen zu unterlassen, nehmen Sie die letzte Zigarette in einem größtmöglichen Abständen, aber mindestens 1 Stunde vor der Nachtruhe (zum Tragen der Shirts) zu sich.

Konnte dies nicht eingehalten werden, notieren Sie bitte

Uhrzeit _____ Art der Nahrung _____
Uhrzeit _____ Art der Nahrung _____
Uhrzeit _____ Art der Nahrung _____
Uhrzeit _____ Art der Nahrung _____

Uhrzeit _____ Art & Menge des Alkohols _____
Uhrzeit _____ Art & Menge des Alkohols _____
Uhrzeit _____ Art & Menge des
Alkohols _____

zeitlicher Abstand zur Nachtruhe
zeitlicher Abstand zur Nachtruhe

Anzahl der Zigaretten
Anzahl der Zigaretten

3. Körperliche Aktivität

Am Tag vor der ersten Spendennacht bitten wir Sie, keine ausgeprägten sportlichen Aktivitäten auszuüben. Natürlich können Sie in moderatem Tempo Fahrrad fahren oder Ähnliches, aber bitte vermeiden Sie Joggen, den Gang ins Fitnessstudio oder sonstiges Training.

Konnte dies nicht eingehalten werden, notieren Sie bitte

Uhrzeit/Dauer _____ Art der Aktivität _____
Uhrzeit/Dauer _____ Art der Aktivität _____

4. Medikamente

Sie dürfen am Tag vor der ersten Spendennacht und in der Nacht selbst keine Medikamente einnehmen - mit Ausnahme homöopathischer Präparate, der „Pille“ oder von Schilddrüsenmedikamenten.

Konnte dies nicht eingehalten werden, notieren Sie bitte

Uhrzeit _____ Medikament & Grund _____
Uhrzeit _____ Medikament & Grund _____

5. Schlaf

Achten Sie bitte auf einen ausreichenden Nachtschlaf während der Spendennächte um eine möglichst lange Tragedauer der Shirts zu ermöglichen.

Schlafdauer Spendennacht 1 _____
Schlafdauer Spendennacht 2 _____

6. Shirts

Ziehen Sie bitte in beiden Spendennächten hintereinander das Ihnen zugewiesene Shirt (A=weiblich, B=männlich) an. Lagern Sie es zwischen den Nächten im beigegeführten Plastebeutel und verschließen Sie diesen bitte sorgfältig (!!!). Bitte achten Sie dabei zusätzlich auf eine möglichst rauchfreie Umgebung. Nach der zweiten Spendennacht lagern Sie das Shirt in dem verschlossenen Beutel bis zum Studientermin im Kühlschrank. Wählen

Sie für die Spendennächte bitte einen Zeitpunkt aus, der maximal eine Woche Abstand zum Studientermin hat.

7. Sonstiges

Möglicherweise gab es am Tag der Geruchsspende bei Ihnen Ereignisse oder Verhaltensbereiche, die wir bis jetzt nicht berücksichtigt haben aber wichtige Einflussfaktoren bei der Körpergeruchsspende sein können. War dies der Fall, notieren Sie es bitte hier

T-SHIRTS

Shirt 1

Probandennummer:

Attraktivität

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sehr unattraktiv									Sehr attraktiv	

Intensität

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sehr schwach									Sehr intensiv	

Shirt 2

Probandennummer:

Attraktivität

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sehr unattraktiv									Sehr attraktiv	

Intensität

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sehr schwach									Sehr intensiv	

Shirt 3

Probandennummer:

Attraktivität

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sehr unattraktiv									Sehr attraktiv	

Intensität

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sehr schwach									Sehr intensiv	

Shirt 4

Probandennummer:

Attraktivität

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sehr unattraktiv									Sehr attraktiv	

Intensität

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sehr schwach									Sehr intensiv	

Partnershirt

Als Partner identifiziert:

