

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

**Abhängigkeit der Riechschwellenmessung von der quantitativen und qualitativen
Zusammensetzung der Duftgemische**

D i s s e r t a t i o n s s c h r i f t

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Zahnmedizin

Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus

der Technischen Universität Dresden

von

Helene Bichtemann

aus Berlin

Dresden 2018

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der mündlichen Prüfung:

gez.: -----
Vorsitzender der Promotionskommission

Anmerkung:

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

Für
meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1. Einleitung.....	1
1.1. Motivation.....	1
1.2. Zielsetzung.....	3
2. Theoretische Grundlagen	5
2.1. Entstehung eines Riecheindrucks	5
2.1.1. Anatomische Aspekte	6
2.1.2. Histologische Aspekte.....	8
2.1.3. Physiologische Aspekte	10
2.2. Geruchsstörung.....	14
2.2.1. Quantitative Geruchsstörung	14
2.2.2. Qualitative Geruchsstörung	16
2.2.3. Ursachen für Riechstörungen	16
2.3. Diagnostik	17
3. Arbeitshypothese	20
4. Material und Methoden	21
4.1. Studiendesign	21
4.2. Probanden	22

4.3. Duftstoffe.....	22
4.3.1. Anethol	25
4.3.2. Citral	26
4.4. Verdünnungsreihe.....	27
4.5. Ablauf / Durchführung	27
5. Ergebnisse	31
5.1. Anamnesedaten	31
5.2. Identifikationstest	32
5.3. Geruchsqualität.....	33
5.4. Geruchsschwellenmessung.....	35
6. Diskussion	40
6.1. Theoretische Auswertung.....	40
6.1.1. Einfluss der Komplexität	40
6.1.2. Einfluss der Quantität.....	43
6.1.3. Einfluss der Qualität.....	45
6.2. Praktische Auswertung.....	47
7. Zusammenfassung	49
8. Summary	50
9. Anhang.....	51
9.1. Wertetabelle	51
10. Literaturverzeichnis.....	54

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: knöchernes und knorpeliges Nasenskelett / mediale Nasenwand	7
Abbildung 2: knöchernes und knorpeliges Nasenskelett / laterale Nasenwand	7
Abbildung 3: olfaktorisches Epithel	9
Abbildung 4: Identifikationstest-Tabelle	28
Abbildung 5: Schwellenwerttabelle; Darstellung der Ausschlussverfahren für WP zur Vermeidung von Ausreißern	30
Abbildung 6: Identifikationstest, prozentualer Anteil der Probanden mit den jeweiligen Identifikationstestergebnissen (IDT) an dem gesamten Probandenkollektiv.....	32
Abbildung 7: Variabilität der Testsitzungen; Vergleich der ersten und zweiten Sitzung in Bezug auf die Mittelwerte und Standardfehler der Geruchsschwellenmessung aller Probanden (N=100); Y-Achse: Verwendung der Glasnummern als Äquivalenz für die Konzentrationen; X-Achse: Duftproben siehe Legende.....	35
Abbildung 8: Geruchsschwellen; Vergleich der Mittelwerte und Standardfehler und Darstellung der Signifikanz (***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$) aller fünf Duftgemische; Y-Achse: Verwendung der Glasnummern als Äquivalenz für die Konzentrationen; X-Achse: Duftgemische siehe Legende.....	36
Abbildung 9: Korrelationsplots für alle Duftgemische; X-Achse: Mittelwerte aus beiden Testdurchgängen eines Probanden mit dem gleichen Duftstoff; Y-Achse: Differenz der Werte beider Sitzungen (Sitzung 2 – Sitzung 1).....	38

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung der Mixtur A durch Henkel AG & Co. KGaA, Standort Krefeld, -Henkel Fragrance Center- übermittelt; molare Masse und Komplexität stammen von https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/ (Kim et al., 2016)	23
Tabelle 2: Zusammensetzung der Mixtur B durch Henkel AG & Co. KGaA, Standort Krefeld, -Henkel Fragrance Center- übermittelt; molare Masse und Komplexität stammen von https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/ (Kim et al., 2016)	23
Tabelle 3: Zusammensetzung der Mixtur C durch Henkel AG & Co. KGaA, Standort Krefeld, -Henkel Fragrance Center- übermittelt;.....	25
Tabelle 4: Vergleich Anethol und Citral (Merck KGaA, 2011; Riechstofflexikon © OMIKRON GmbH Naturwaren, 2013; Kim et al., 2016)	26
Tabelle 5: Anamnesedaten, als Zusammenfassung des gesamten Probandenkollektivs	31
Tabelle 6: Geruchsqualität; Darstellung der Intensität (aufsteigend von 0:minimale Intensität – 10:maximale Intensität), Hedonik (aufsteigend von -5:maximal unangenehm bis 5:maximal angenehm) und Hedonik nach Dravnieks (aufsteigend von -4:maximal unangenehm bis 4:maximal angenehm) Es handelt sich um die Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Testergebnisse von 13 Probanden für alle 5 Düfte (Konzentration: 1%).....	33
Tabelle 7: Vergleich der ersten und zweiten Sitzung in Bezug auf die Mittelwerte und Standardfehler der Geruchsschwellenmessung aller Probanden (N=100)	35
Tabelle 8: Pearson Korrelation; Darstellung des Korrelationskoeffizienten für alle fünf Duftgemische.....	37
Tabelle 9: Wertetabelle der Schwellenmessungen aller, in die Auswertung eingeschlossenen, Probanden. Darstellung von Probandenidentifikationsnummer (ID); Unterscheidung der verwendeten Duftproben bei Einzelmolekül [Anethol (A) oder Citral (B)] und Mixtur 10 [Mixtur A (A) oder Mixtur B (B)]; Schwellentestergebnis für die Testung mit Einzelmolekül (EM), Mixtur10 (10) und Mixtur 100 (100) in der ersten (1) und zweiten (2) Sitzung	53

Abkürzungsverzeichnis

ORN	olfaktorisches Rezeptorneuron / olfaktorische Rezeptorneurone
ORP	olfaktorisches Markerprotein / olfaktorische Markerproteine
OBP	odor binding protein/s
MW	Mittelwert / Mittelwerte
SD	Standartabweichung
N	Anzahl getesteter Probanden
WP	Wendepunkt / Wendepunkte
IDT	Identifikationstestergebnis
r	Korrelationskoeffizient
VP	Dampfdruck
clogP	Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizient

Einheiten:

%	Prozent
mm	Millimeter
ml	Milliliter
cm ³	Kubikzentimeter
mV	Millivolt

1. Einleitung

1. Einleitung

1.1. Motivation

Auf dem Weg zur Arbeit, *sehen* wir uns nach dem Bus um. Wir *hören* das Hupen des vorbeifahrenden Autos, dem wir gerade noch ausweichen können und *spüren* die ersten Regentropfen, die uns dazu animieren den Schirm aufzuspannen. Wir verlassen uns im täglichen Leben überwiegend auf unsere Augen und Ohren sowie unseren Tastsinn. Der Geruchssinn aber rückt bei all diesen bewussten Wahrnehmungen eher in den Hintergrund (Ache und Young, 2005). Jedoch ist er deswegen keineswegs unbedeutend; ganz im Gegenteil. Unsere Nase arbeitet hauptsächlich unbewusst, weshalb uns die Bedeutung des Geruchssinnes häufig erst klar wird, wenn wir ihn verlieren.

Aussprüche wie ‚sich nicht riechen können‘, ‚das stinkt mir‘ oder auch ‚das riecht nach Ärger‘ verbildlichen einen Sinn, der weit mehr als die reine Identifikation von Duftstoffen vermag. Besonders durch die Verbindung zum limbischen System ist er ein eher „emotionaler Sinn“. Er verknüpft Erinnerungen und Emotionen mit Düften und schafft es, dass uns der Geruch eines Shampoos an einen bestimmten Urlaub vor vielen Jahren zurückdenken lässt oder dass uns der Duft von Räucherkerzen ein Gefühl von Ruhe und Geborgenheit beschert (Engen, 1982; Engen, 1988).

In den letzten Jahren wurden umfassende Untersuchungen durchgeführt, um das Ausmaß und die Folgen eines gestörten Geruchssinnes zu analysieren. Dabei wurde der Einfluss dieses Sinnes auf unsere Lebensqualität sowie auf die physische und mentale Gesundheit überaus deutlich. Soziale Isolation, Anhedonie und Depression können Folgen einer olfaktorischen Dysfunktion sein, ebenso wie es häufig ein gestörtes Essverhalten nach sich zieht. Dabei kann es sowohl zu einer Mangelernährung als auch zu einer übermäßigen Nahrungsaufnahme kommen (Keller und Malaspina, 2013). Doch vor allem die fehlende Wahrnehmung von Rauch und Gas oder verdorbenem Essen kann lebensbedrohliche Situationen herbeiführen. All dies begründet die Notwendigkeit für intensive Forschung, Aufklärung und Therapie im Bereich der Olfaktion (Hummel und Nordin, 2005; Keller und Malaspina, 2013).

Untersuchungen aus Deutschland, Schweden und den Vereinigten Staaten deuten darauf hin, dass jeder Fünfte eine Riechermüdung aufzeigt und etwa 5% der Bevölkerung dabei von einer Anosmie betroffen sind (Brämerson et al., 2004; Landis et al., 2004; Vennemann et al., 2008; Liu et al., 2016). Die häufigsten Auslöser sind Infektionen der

1. Einleitung

oberen Atemwege, sinunasale Krankheiten, idiopathische Ursachen und Schädel-Hirn-Traumata. Die angeborene Anosmie tritt eher selten auf (Tommel et al., 2002).

Doch nicht immer ist eine olfaktorische Dysfunktion als alleinstehende Diagnose anzusehen. In einigen Fällen kann es sich auch um ein Begleitsymptom einer neurologischen Erkrankung handeln, wie beispielsweise für das idiopathische Parkinson-Syndrom, bei dem eine Riechstörung mit 70-100% Wahrscheinlichkeit auftritt (Herting et al., 2008). Oder aber als frühes Zeichen einer Alzheimer Erkrankung (Wilson et al., 2009), die laut einer US-amerikanischen Studie, im Jahre 2050 bereits eine von 45 Personen betreffen wird (Brookmeyer et al., 1998).

Diese Zahlen verdeutlichen, wie wichtig es ist, eine Riechstörung zu erkennen und zu therapieren, beziehungsweise ihre Ursache zu untersuchen. Ersteres erweist sich häufig als schwierig, da die individuelle Einschätzung des eigenen Geruchssinnes stark variiert. Im Gegensatz beispielsweise zu dem Verlust des Hörsinnes, hier gibt es meist eine hohe Übereinstimmung zwischen dem subjektiv empfundenen und dem objektiven Hörverlust (Sindhusake et al., 2001). Bei der Wahrnehmung einer olfaktorischen Dysfunktion hingegen zeigte sich, dass die Bewertung des eigenen Geruchssinnes zumeist nur einen geringen Zusammenhang mit dem tatsächlichen Riechvermögen aufweist und vielmehr den nasalen Luftstrom beschreibt. Erst durch eine Fokussierung, wie sie bei einem Riechtest stattfindet, wird die Bewertung akkurater (Landis et al., 2003). Um eine Riechermüdung bei Patienten zu diagnostizieren und zu therapieren ist es also erforderlich, dass sich diese selbst als ‚erkrankt‘ identifizieren und testen lassen. Häufig äußern Menschen mit einer Hyposmie weit mehr Beschwerden als solche bei denen eine Anosmie vorliegt (Tommel et al., 2002). Der Leidensdruck der Patienten schwankt also erheblich und nicht jeder nimmt einen gestörten Geruchssinn als Einschränkung wahr. So fühlen sich betroffene Frauen allgemein stärker eingeschränkt als erkrankte Männer (Tommel et al., 2002).

Um Störungen des olfaktorischen Systems dennoch erfassen und therapieren zu können, ist die Weiterentwicklung und Validierung von Testverfahren enorm wichtig. Besonders die Einführung dieser, als allgemein gültig und eindeutig, in den Alltag der Vorsorgeuntersuchungen ist dringend erforderlich.

1. Einleitung

1.2. Zielsetzung

Die Fähigkeit Gerüche wahrzunehmen variiert individuell sehr stark (Gilbert und Kemp, 1996; Keller et al., 2007; Hasin-Brumshtein et al., 2009). Sie ist abhängig von Alter und Geschlecht und kann durch unsere Genetik beeinflusst werden (Malnic et al., 2004). Weiterhin wird sie von persönlichen Erfahrungen sowie unserer Herkunft und Kultur gelenkt. Je nachdem, ob ein Duftstoff bekannt ist, man ihn mit positiven oder negativen Emotionen verknüpft oder ihn zum ersten Mal riecht, variieren die Ergebnisse (Keller et al., 2012).

Um die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit von Riechtests zu verbessern wurden verschiedene Ansätze überprüft. Zum Beispiel der Einfluss einer länderspezifischen und kulturellen, qualitativen Anpassung der Testverfahren (Konstantinidis et al., 2008; Catana et al., 2014; Sorokowska und Hummel, 2014; Oleszkiewicz et al., 2016). Auch eine quantitative Veränderung der Untersuchungsreagenzien, wie eine Erweiterung auf 32 Duftstoffe (Sorokowska et al., 2015) beziehungsweise Reduzierung auf drei Duftstoffe (Hummel et al., 2010), wurden ausgetestet. Des Weiteren wurde untersucht, welchen Einfluss die Anzahl der Testwiederholungen hat. Dabei konnte nachgewiesen werden, dass es besonders während der ersten Sitzungen zu einer Zunahme der Sensitivität für die Duftstoffe kommt (Laska und Hudson, 1991).

In letzter Zeit rückte die chemische Komplexität und molekulare Zusammensetzung der Duftstoffe in den Mittelpunkt der Aufmerksamkeit. In einigen Studien wurde gezeigt, dass Geruchsschwellen von Duftgemischen mindestens so zuverlässig sind wie die Geruchsschwellen von Einzeldüften (Laska und Hudson, 1991) beziehungsweise, dass sie sogar stabilere Ergebnisse erzielen (Hsieh et al., 2017; Oleszkiewicz et al., 2017).

Das Ziel der vorliegenden Studie bestand darin, diese Ergebnisse zu überprüfen und die Suche nach einer optimalen Anzahl an Duftstoffen, für ein möglichst stabiles Ergebnis bei der Riechschwellentestung, fortzuführen. Dafür verwendeten wir zwei Einzelmoleküle, zwei Mischungen aus jeweils zehn Molekülen und eine Mischung aus 89 Molekülen.

Mit den beiden Einzelmolekülen (Anethol und Citral) wurde überprüft, ob die chemische Komplexität der Moleküle einen Einfluss auf die Geruchsschwelle oder ihre Reproduzierbarkeit aufweist (Böttcher, 2016).

1. Einleitung

Mit den beiden Mischungen aus jeweils zehn verschiedenen Molekülen überprüften wir den Einfluss der qualitativen Zusammensetzung der Duftgemische auf die Geruchsschwelle und deren Zuverlässigkeit.

Abschließend wurde auch der Einfluss der quantitativen Zusammensetzung der drei Gruppen (ein Molekül, zehn Moleküle, 89 Moleküle) im Hinblick auf Schwellenwerte und Reproduzierbarkeit untersucht.

2. Theoretische Grundlagen

2.1. Entstehung eines Riecheindrucks

Sehen und Hören wurden schon zu Aristoteles Zeiten zu den wichtigsten kognitiven Sinnen des Menschen erklärt. Dem Schmecken, Fühlen und Riechen maß man damals eine eher geringe Bedeutung bei und der Gleichgewichtssinn fand keinerlei Beachtung. Er wurde erst im 19. Jahrhundert entdeckt und bekam seine verdiente Anerkennung als sechster Sinn. Mittlerweile zählen einige Wissenschaftler auch Temperatur- und Schmerzwahrnehmung sowie den viszeralen Sinn und die Propriozeption dazu und benennen damit zehn statt der ursprünglichen fünf Sinne (Albrecht und Wiesmann 2006).

Natürlich hat sich seit der ersten Beschreibung das Verständnis für Funktion und Bedeutung unserer Sinne stetig entwickelt. So spricht man heute von einem komplexen Riecheindruck und meint dabei ein Zusammenspiel aus Schmeck-, Temperatur- und Schmerzwahrnehmung, Berührungsempfindlichkeit und den olfaktorischen Komponenten. In der vorliegenden Studie soll die Olfaktion im Zentrum des Interesses stehen, während die Begleitempfindungen des Überbegriffes ‚Riechen‘ vernachlässigt werden.

Das Riechen beginnt mit jedem Atemzug, mit dem Luft über die Nasenlöcher (Nares) und die angrenzenden Nasenvorhöfe (Vestibuli nasi) in die paarige Nasenhaupthöhle (Cavitas nasi propria) strömt. Nicht nur der dringend benötigte Sauerstoff gelangt dadurch in unseren Körper, sondern auch tausende kleiner Duftmoleküle. Diese lösen im oberen Drittel der Nasenhöhle, speziell auf der oberen Nasenmuschel und dem Nasendach sowie an einer kleinen Region am vorderen Nasenseptum den Riecheindruck aus.

2. Theoretische Grundlagen

2.1.1. Anatomische Aspekte

Knöchernes Nasenskelett. Die Radix nasi, welche aus den Os nasalis und dem Processus frontalis maxillae besteht, bildet nach ventral/kranial die prominente, knöcherne Begrenzung der äußeren Nase. Des Weiteren sind auch das Os frontale (kranial), das Os sphenoidale (dorsal), der Vomer (medial) sowie das Os palatinum, das Os lacrimale und die Maxilla (lateral und rostral) Bestandteile der knöchernen Wand. Das Os ethmoidale bildet einen großen Teil der kranialen (Lamina cribrosa), lateralen (Concha nasalis superior, Concha nasalis medialis) und medialen (Lamina perpendicularis) Umgrenzung. Die Concha nasalis inferior wird durch einen eigenständigen Knochen gebildet, der sich kaudal der Concha nasalis medialis einfügt. Die drei Conchae sind unterschiedlich in Ausdehnung und Lage. So stellt die Concha nasalis superior die kleinste der drei Nasenmuscheln dar, variiert am stärksten in ihrer Größe und Form und liegt am weitesten dorsal. Darunter befinden sich die Concha nasalis media und wiederum darunter, etwa einen Millimeter nach ventral versetzt, die Concha nasalis inferior. Alle drei begrenzen von kranial ihren zugehörigen Nasengang (Meatus nasi). Den Conchae aufgelagert ist ein schwellkörperartiges Gewebe. Dieses reguliert zyklisch das Lumen der Nasengänge (Meatus nasi) und sorgt so für Regenerationsphasen in der Schleimhaut (Schulze und Wree, 2016).

Nasennebenhöhlen. Auch die funktionelle Einheit von Nase und Nasennebenhöhlen wird durch die Schwellkörper beeinflusst, da sich ihre Verbindungen unter den Nasenmuscheln befinden. Zu diesen luftgefüllten Hohlräumen gehören die paarigen Sinus maxillares, frontales, sphenoidales und die Cellulae ethmoidales. Sie dienen als Pneumatisationsräume, wodurch eine Gewichtsminimierung des Schädels erreicht wird und auch als wichtige Resonanzräume für die Sprachbildung (Lenarz und Boenninghaus, 2012). Durch die Auskleidung mit respiratorischem Flimmerepithel wird die funktionelle Zugehörigkeit zur Nase deutlich. Nach dorsal steht die Nasenhaupthöhle mit dem Nasopharynx in Verbindung (Aumüller, 2010).

Knorpeliges Nasenskelett. Der durch die beschriebenen knöchernen Strukturen nach ventral gebildeten Apertura piriformis ist ein knorpeliges Nasenskelett prominent angefügt. Die hyalinen Nasenknorpel bilden Nasenrücken (Dorsum nasi), Nasenflügel (Alae nasi) und knorpeliges Nasenseptum und umschreiben die Nasenlöcher (Nares) welche den Eingang zur Nasenhöhle markieren (Grevers, 2008; Aumüller, 2010; Benninghoff und Asan, 2011).

2. Theoretische Grundlagen

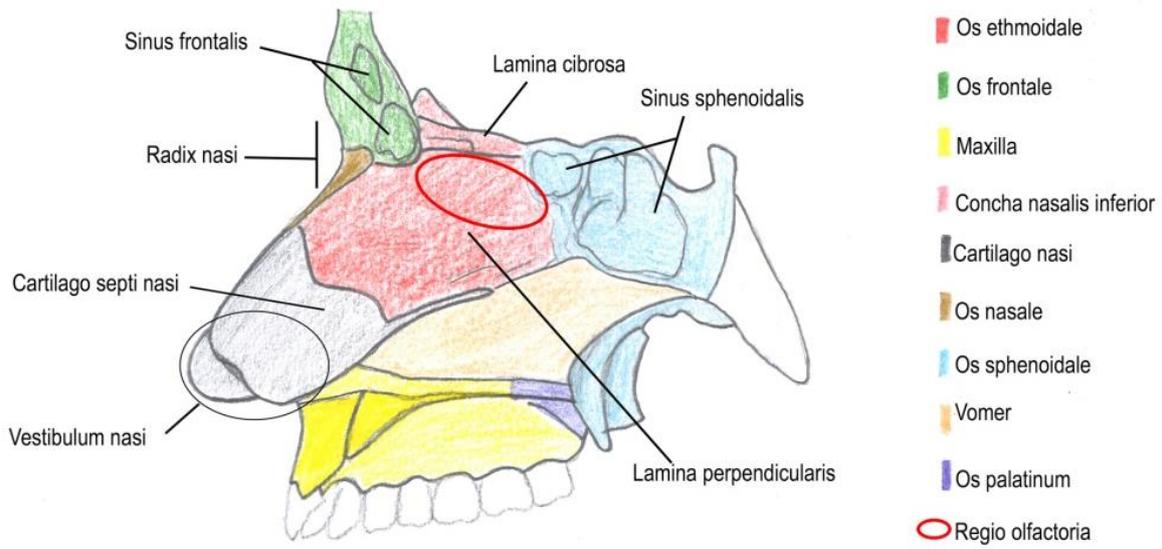


Abbildung 1: knöchernes und knorpeliges Nasenskelett / mediale Nasenwand

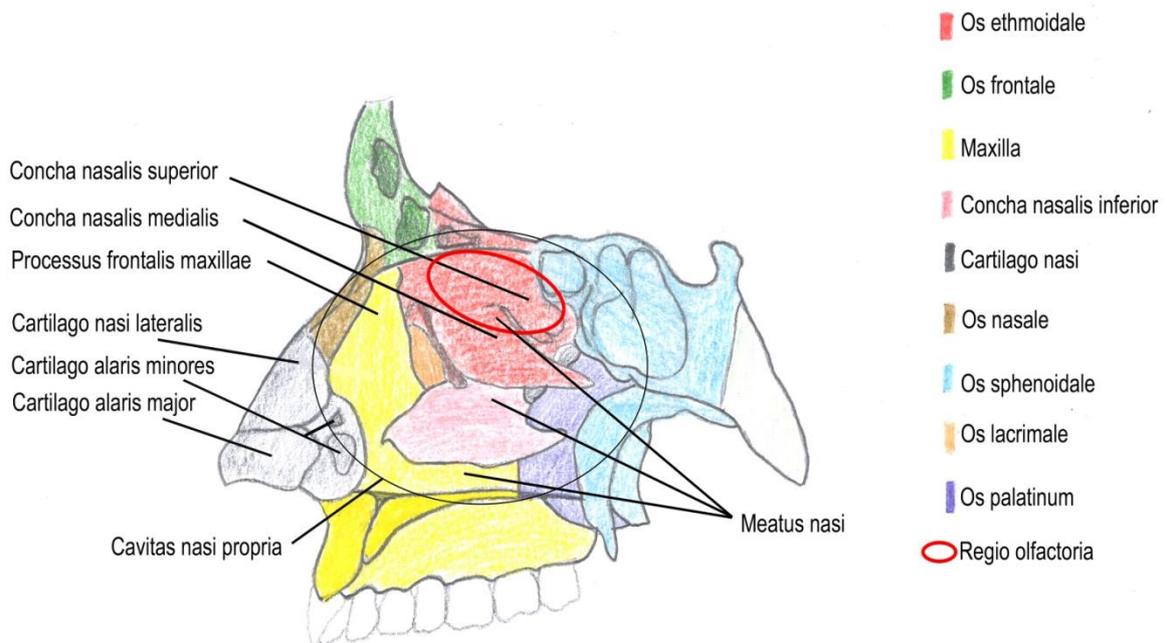


Abbildung 2: knöchernes und knorpeliges Nasenskelett / laterale Nasenwand

2. Theoretische Grundlagen

2.1.2. Histologische Aspekte

Regio respiratoria und cutanea. Drei Bereiche lassen sich innerhalb der Nase aufgrund unterschiedlicher Topographie und Histologie unterscheiden. Der erste befindet sich im Vestibulum nasi und ist durch mehrschichtiges verhorntes Plattenepithel und borstige Terminalhaare (Vibrissae) gekennzeichnet. Aufgrund der Ähnlichkeit zur äußeren Nase wird dieser Teil auch als Regio cutanea bezeichnet. Am Limen nasi endet diese Region und es beginnt die Regio respiratoria. Diese beschreibt den größten Teil der Nase sowie die Nasennebenhöhlen und zeichnet sich durch Flimmerepithel und ein typisches submuköses Gewebe aus (Aumüller et al., 2010; Probst et al. 2008; Benninghoff und Drenckhahn, 2007).

Die Funktionen dieser Regionen lassen sich anhand der Struktur logisch nachvollziehen. Mit Hilfe der Vibrissae werden erste grobe Partikel bereits am Naseneingang zurückgehalten. In der Nasenhöhle selbst ist das submuköse Gewebe mit schleimproduzierenden Drüsen, Gefäßplexus und subepithelialen Immunzellen dafür zuständig, kleinere Schadstoffe und Bakterien zu binden und unschädlich zu machen (Aumüller et al., 2010). Neben dieser immunologischen Funktion kommen noch temperierende und feuchtigkeitsregulierende Aufgaben hinzu. Diese werden besonders durch die Schleimhaut auf den unteren beiden Nasenmuscheln realisiert (Probst et al., 2008).

Regio olfactoria. Die Regio olfactoria, als dritte Region der Nasenhöhle, befindet sich im Nasendach beziehungsweise in dem oberen Nasengang und beschreibt eine Fläche von etwa 5 cm². Man bezeichnet diesen Bereich auch als Riechspalte, welche vom Ansatz der mittleren Nasenmuscheln bis hin zur gegenüberliegenden Septumregion reicht (Leopold et al., 2000; Lane et al., 2002).

Das hier befindliche Riechepithel besteht aus Riechsinneszellen, Stützzellen und Basalzellen. Subepithelial verzweigen sich die sogenannten Bowman-Spüldrüsen welche ein auffallend weites Lumen haben und Sekret produzieren, das als Spülmittel aber auch als Lösungsmedium für etwaige Duftstoffe fungiert.

2. Theoretische Grundlagen

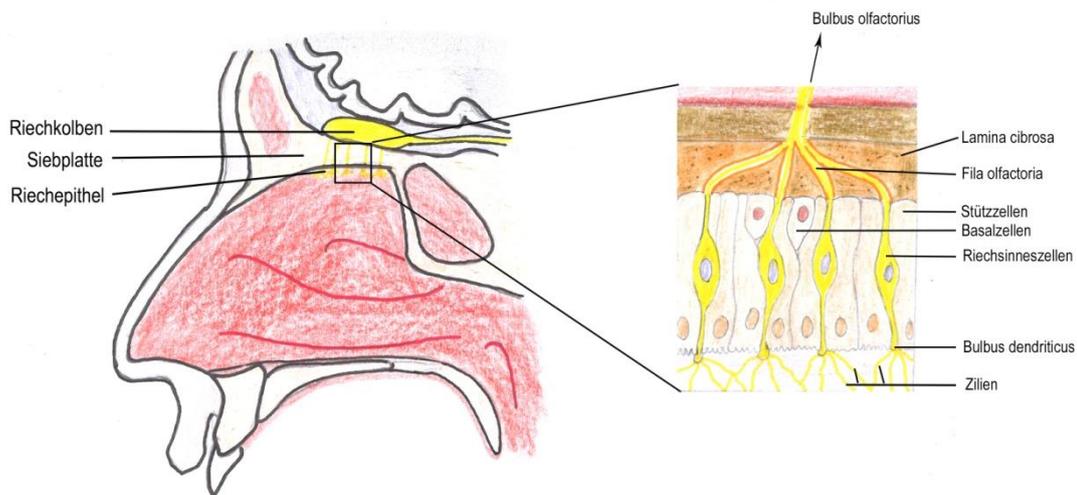


Abbildung 3: olfaktorisches Epithel

Olfaktorische Rezeptorneurone. Die etwa 12 - 30 Millionen bipolaren Riechsinneszellen (Hummel und Welge-Lüssen, 2009) haben jeweils ein basales Axon und einen zur Epitheloberfläche gerichteten Dendriten mit einer terminalen Verdickung die auch Bulbus dendriticus genannt wird. Hier entspringen 6-20 nur passiv bewegliche und wenige Mikrometer lange Zilien die ein oberflächliches Geflecht chemosensibler Membranen bilden. Mehrere basal entspringenden Axone bilden nichtmyelinisierte Faserbündel.

Diese ziehen als Fila olfactoria durch die Lamina cibrosa hindurch und weiter in Richtung Bulbus olfactorius. Ihnen schließen sich wenige schlanke, basale Fortsätze von Mikrovilluszellen an. Als ebenfalls bipolare Sinneszellen bilden diese an der Epitheloberfläche dicke Mikrovilli aus, die relativ hoch und filamentreich sind.

Zwischen den Sinneszellen des Riechepithels treten auch freie Nervenendigungen des fünften Hirnnervens auf, welche auf irritative Reize, wie beispielsweise Ammoniak, reagieren. Der Lebenszyklus einer Riechsinneszelle beträgt etwa 30-50 Tage. Danach werden sie aus Basalzellen regeneriert. Auch die Stützzellen werden auf diesem Wege erneuert (Knecht et al., 2001; Welsch et al., 2014).

Neurogenese. Die Fähigkeit von Nervenzellen, sich aus Stammzellen beziehungsweise Vorläuferzellen neu zu bilden und damit zeitlebens zu regenerieren ist im adulten menschlichen Organismus ein äußerst seltenes Phänomen. Im Wesentlichen findet sie an zwei Orten statt, in der subgranulären Zone (des Hippocampus) (Bischofberger und Schmidt-Hieber, 2006) und in der subventrikulären Zone. Aus dieser wandern die

2. Theoretische Grundlagen

Neuroblasten in den Bulbus olfactorius ein und differenzieren sich zu Interneuronen. Dieser Migrationsweg (rostral migratory stream) ist im menschlichen Organismus jedoch nicht sehr stark ausgeprägt (Curtis et al., 2007; Hummel und Welge-Lüssen, 2009).

Doch auch Zellen des Riechepithels sind erstaunlicherweise zur Neurogenese befähigt. Eine wichtige Rolle spielt dabei der Retinsäurespiegel (Vitamin-A-Säure) welcher auch eine mögliche Ursache für die, im Laufe des Lebens, sinkende Regenerationsfähigkeit darstellt (Rawson und LaMantia, 2006; Rawson und LaMantia, 2007).

2.1.3. Physiologische Aspekte

orthonasal und retronasal. Wenn man etwas riechen möchte, fängt man an zu schnüffeln. Dadurch wird der sonst laminäre Luftstrom in eine turbulente Strömung umgewandelt. Nun erreicht die Atemluft und mit ihr die Duftmoleküle nicht nur den unteren und mittleren Nasengang, sondern auch die Regio olfactoria im oberen Bereich der Nase.

Neben dieser orthonasalen Geruchswahrnehmung, können Gerüche auch beim Ausatmen oder Schlucken auf dem retronasalen Weg über den Nasenrachenraum an die Riechschleimhaut gelangen. Man bezeichnet dies auch als gustatorisches Riechen, da es von großer Bedeutung für die Geschmackswahrnehmung bei der Nahrungsaufnahme ist.

Genetik. Der Mensch kann tausende von Geruchsstoffen wahrnehmen aber nur einen Bruchteil davon unterscheiden. Die Erkennungsschwelle liegt also deutlich über der Wahrnehmungsschwelle (Buck und Axel, 1991). Eine Erklärung dafür lieferten unter anderem Dr. Axel und Dr. Buck mit ihrer Entdeckung, der großen, für die spezifische Kodierung der olfaktorischen Rezeptorproteine (ORP) zuständigen Genfamilie, für die sie 2004 mit dem Nobelpreis für Medizin geehrt wurden (Buck und Axel, 1991). 800 Gene stehen für die Kodierung der ORP zur Verfügung. Das ergibt in etwa 1% des gesamten menschlichen Genoms. Dabei handelt es sich bei mehr als 50% davon, um Pseudogene die kein funktionelles Protein kodieren. Mit der Maus und ihren rund 1400 Genen von denen lediglich 25% Pseudogene sind, können wir dabei nicht konkurrieren (Niimura und Nei, 2005). Die funktionellen Gene verteilen sich ungleichmäßig auf etwa 51 Genloci, auf 21 Chromosomen (Malnic et al., 2004) (nicht auf Y-Chromosom und Chromosom 20) und kodieren etwa 320 Aminosäuresequenzen, welche die transmembranöse Struktur der ORP bilden (Hummel und Welge-Lüssen, 2009).

2. Theoretische Grundlagen

Duftmoleküle. Im Vergleich zu den für das trichromatische Farbsehen benötigten drei Genen ist die Zahl der kodierenden Gene für unseren Geruchssinn erstaunlich hoch. Diese Diskrepanz zwischen dem zur Verfügung stehenden Genmaterial und der evolutionär bedingten Bewertung dieser zwei kognitiven Sinne erscheint zunächst unlogisch. Die Erklärung dafür ergibt sich aus den benötigten Rezeptoren. All die verschiedenen Farbnuancen, welche unser Auge erkennen und wahrnehmen kann, liegen auf einer einheitlichen Skala. Lediglich ihre Wellenlängen unterscheiden sie voneinander. Wir benötigen also lediglich drei Messstellen um uneingeschränkt sehen zu können. Bei Duftmolekülen verhält es sich anders. Jedes einzelne Molekül unterscheidet sich in seiner Struktur und macht somit das Vorhandensein vieler unterschiedlicher Chemorezeptoren notwendig (Albrecht und Wiesmann, 2006; Draguhn, 2014).

Moleküle die eine Geruchsempfindung auslösen sind eher lipophile, flüchtige Stoffe, mit einer hohen Oberflächenaktivität und einem geringen Molekulargewicht. Somit sind viele verschiedene Molekülarten in der Lage eine Geruchsempfindung auszulösen.

Olfaktorisches Rezeptorprotein. Lange Zeit war es die allgemein vorherrschende Meinung, dass jedes Gen ein einziges bestimmtes Rezeptorprotein kodiert. Neueste Daten zeigen jedoch, dass durch alternatives splicen zusätzliche mRNA-Moleküle und damit weitere Rezeptorproteine entstehen können. Unklar ist, wie es zur Auswahl der Isoform und gleichzeitig zur Unterdrückung aller anderen Rezeptortypen in einer Zelle kommt. Bekannt ist lediglich, dass sowohl das Alter des Individuums als auch das umgebende Gewebe einen Einfluss darauf hat, welche Variante des Geruchsrezeptors ausgebildet wird (Volz et al., 2003). Die Anzahl der ORP, die auf etwa 200-400 geschätzt wird, steht im Kontrast zu den tausenden wahrnehmbaren Duftstoffmolekülen. Diese Diskrepanz ergibt sich aus der Funktionsweise der Rezeptoren und dem Aktivierungsmuster der Duftmoleküle. Durch seine unterschiedlichen Domänen kann sich ein Molekül an mehrere Rezeptoren mit unterschiedlicher Affinität binden (Schlüssel-Schloss-Prinzip). Gleichzeitig können sich auch verschiedene Moleküle an den gleichen Rezeptor binden. Auf diese Art werden komplexe Erregungsmuster ausgelöst. Trotzdem ist es bis heute unmöglich den Geruch eines Moleküls aufgrund seiner chemischen Struktur sicher vorauszusagen (Buck und Axel, 1991; Albrecht und Wiesmann, 2006; Hummel und Welge-Lüssen, 2009).

Duftstoffbindungsproteine. Die ankommenden Duftstoffe werden im Riechschleim (Mucus) gelöst und anschließend von „odor binding proteins“ (OBP) gebunden und zu

2. Theoretische Grundlagen

den Geruchsrezeptoren transportiert. Sie haben einen stabilisierenden Einfluss auf die Menge der zur Verfügung stehenden Geruchsstoffe. Diese werden sonst durch Abatmung und metabolische Spaltung sowie über den Riechschleim abtransportiert oder in die Stützzellen aufgenommen. Die OBP gehören zur Gruppe der Lipocaline. Sie können Bindungen mit bestimmten, überwiegend hydrophoben Molekülen eingehen, um diese an einen anderen Ort (zum Beispiel in die Zelle) zu transportieren. Sie kommen in allen Lebewesen vor und sind vielerorts Voraussetzung für wichtige physiologische Prozesse.

Da die meisten Lipocaline hydrophobe Moleküle transportieren, ist diese Eigenschaft nicht ausreichend um die OBP von anderen Proteinen ihrer Gruppe zu unterscheiden. Auch die Bezeichnung ‚Duftstoff‘ beschreibt eine ungemein große Gruppe unterschiedlichster Moleküle und ist für die Definition der OBP eher ungeeignet. Man kann sich jedoch auf eine Definition einigen die besagt, dass OBP in der Nasenhöhle exprimiert werden und in der Lage sind flüchtige Stoffe zu binden (Tegoni et al., 2000).

Signaltransduktion. Die gelösten Duftmoleküle werden mit Hilfe der OBP an die Zellmembran der Sinneszellen transportiert und binden dort spezifisch an die G-Protein gekoppelten Rezeptorproteine. Dadurch wird die alpha Untereinheit des G-Proteins ($G_{\alpha olf}$) aktiviert und stimuliert die Adenylatcyclase III zur Bildung des second messengers Cyclisches Adenosinmonophosphat (cAMP), welcher wiederum unspezifische Kationenkanäle öffnet. Es kommt zu einem Einstrom von Natrium und Kalzium und einer daraus resultierenden Öffnung der kalziumabhängigen Chloridkanäle, wodurch Chloridionen aus der Zelle ausströmen können und eine weitere Depolarisation erreichen. Das Membranpotential steigt von -70mV an. Sobald das Schwellenpotential von -50mV erreicht beziehungsweise überschritten ist, wird ein Aktionspotential ausgelöst und über die ORN zum Bulbus olfactorius fortgeleitet. Mit Hilfe aktiver Ionentransporte werden die Chloridionen wieder in das Zellinnere und die Kalziumionen hinaus transportiert. Dadurch wird der elektrochemische Ionengradient aufrechterhalten, welcher für die Signaltransduktion erforderlich ist (Hummel und Welge-Lüssen, 2009; Manzini et al., 2014).

zentrale Weiterleitung. Der Bulbus olfactorius wird auch als primär olfaktorischer Kortex bezeichnet. Er ist als Ausstülpung des Telencephalons ein Teil des Paläokortex und stellt den Ausgangspunkt für Projektionen in die sekundären olfaktorischen Strukturen dar. Über die vordere Kommissur stehen die Bulbi beider Hirnhälften miteinander in

2. Theoretische Grundlagen

Verbindung. Im Bulbus findet man mehrere Glomeruli, welche durch die Axone der Rezeptorneurone (mit den gleichen Rezeptorproteinen) und die Dendriten der Mitralzellen gebildet werden. Dabei werden die Glia erst kurz vor Eintritt der Axone in die Glomeruli abgestreift. Der Bulbus ist intern symmetrisch und hat daher jeweils mindestens zwei gleiche Glomeruli.

Bei komplexen Geruchsempfindungen werden mehrere, häufig über die Hälfte, der Glomeruli aktiviert und vermitteln durch unterschiedliche Intensitätsmuster einen spezifischen Geruchseindruck. In ihnen findet eine Informationsreduktion und gleichzeitig eine Integration schwacher Signale statt. Die Signale werden von zwölf bis dreißig Millionen Neuronen auf 5000-8000 Glomeruli komprimiert. Diese Konvergenz kann zum einen für die Identifikation einzelner Gerüche aber auch für die Steigerung der Sensitivität genutzt werden (Albrecht und Wiesmann, 2006; Hummel und Welge-Lüssen, 2009).

Neben der Umschaltung von ORN auf Mitral- und Büschelzellen spielen auch Körnerzellen und periglomeruläre Zellen eine Rolle. Sie gehören zur Gruppe der inhibierenden Zellen und bewirken eine rekurrente und laterale Hemmung und eine daraus resultierende Kontrastverschärfung (Hatt, 2006).

Der Weg der Geruchsempfindung wird über den Tractus olfactorius fortgesetzt und erreicht als nächste Station den olfaktorischen Cortex zu dem man das Tuberculum olfactorium, Areale der Amygdala, den Nucleus olfactorius anterior (AON) und auch den entorhinalen und piriformen Kortex zählt (Hummel und Welge-Lüssen, 2009). Einige Projektionsbahnen verlaufen ohne Verschaltung im Thalamus, relativ direkt zur Großhirnrinde und zum Limbischen System. Dies ist teilweise dafür verantwortlich, dass wir Gerüche wahrnehmen ohne dass sie bewusst verarbeitet wurden. Von dem primären Riechhirn führen Bahnen zum Hypothalamus, dem orbitofrontalen Kortex, zur Amygdala, zu Inselarealen, der Habenula und der Formatio reticularis (Draguhn, 2014).

Es lassen sich eine Vielzahl unterschiedlicher Funktionen und Aufgaben ableiten. Unser Geruchssinn kann unsere Aufmerksamkeit steigern bis zu einem Punkt, an dem lebenswichtige Weckreaktionen ausgelöst werden. Er steuert die Nahrungsaufnahme, löst emotionale unbewusste Reaktionen aus und kann Gedächtnisspuren hinterlassen. Unsere Nase dient also zu mehr als der reinen Wahrnehmung von Düften. Tatsächlich wurde ihre umfassende Bedeutung für den Menschen lange Zeit vernachlässigt und unterschätzt (Draguhn, 2014).

2. Theoretische Grundlagen

2.2. Geruchsstörung

Als Geruchsstörung oder auch Dysosmie wird im Allgemeinen eine pathologisch veränderte Geruchsempfindung bezeichnet. Im klinischen Alltag werden sie weiter unterteilt in quantitative und qualitative Riechstörungen.

2.2.1. Quantitative Geruchsstörung

Allgemein handelt es sich bei den quantitativen Geruchsstörungen um eine pathologische Veränderung der Riechschwelle. Ein normales Riechvermögen wird mit dem Terminus „Normosmie“ benannt. Unter dem Begriff „Hyperosmie“ versteht man eine überhöhte Empfindsamkeit für Gerüche. Eine verminderte Wahrnehmung wird als „Hyposmie“ oder als „Anosmie“ bezeichnet, welche wiederum als komplette, funktionelle oder partielle Störung auftreten kann. Die partielle Anosmie bezeichnet eine, im Vergleich zur restlichen Bevölkerung, deutlich verminderte Sensibilität gegenüber bestimmter Duftstoffe. Die funktionelle Anosmie erstreckt sich von einer geringen Restwahrnehmung bis hin zum kompletten Verlust der Riechfunktion (Delank, 1998; Förster et al., 2004).

Spezifische Anosmie. Die spezifische Anosmie stellt eine besondere Form der Riechstörung dar. Hierbei kann die betroffene Person einen bestimmten Duft nicht wahrnehmen, während ihr Geruchssinn ansonsten einwandfrei funktioniert. Man bezeichnet diese Erscheinung auch als partielle Geruchsblindheit (Amoore, 1967; Brämerson et al., 2004). Dabei handelt es sich keineswegs um eine Ausnahmeerscheinung, dies wurde in der Studie von Dr. Croy aus dem Jahr 2016 gezeigt. Bei der Testung von gesunden Probanden mit mindesten 200 Düften lag die Prävalenz für eine spezifische Anosmie, auf einen der getesteten Gerüche, bei eins. Damit tritt sie mit einer Wahrscheinlichkeit von 100 % auf (Croy et al., 2016). Da uns mindestens 2467 geruchsaktive Chemikalien bekannt sind (Arctander, 1969), kann man also davon ausgehen, dass jeder Mensch eine spezifische Anosmie für mindestens einen Duft aufweist. Damit stellt sie eher ein Prinzip der olfaktorischen Funktion dar als eine seltene Dysfunktion (Croy et al., 2016). Weiterhin fand man heraus, dass eine spezifische Anosmie von der Konzentration des Duftstoffes abhängt und sie durch intensives Training überwunden werden kann.

Daher ist eine exakte Definition der Grenzen erforderlich. 1975 beschrieb Herberhold diese als Unvermögen einen Duft in 100-mal stärkerer Konzentration wahrzunehmen, als sie für die normale Riechwahrnehmung benötigt würde (Croy et al., 2016).

2. Theoretische Grundlagen

Eine Erklärung für das Phänomen der spezifischen Anosmie findet sich in der physiologischen Verarbeitung der Geruchsstoffe (Croy et al., 2016). Zum einen hat die Riechschleimhaut einen Einfluss auf die olfaktorische Wahrnehmung. Die Durchgängigkeit der Schleimschicht für ankommende Moleküle kann variieren, wodurch einzelne Duftstoffe möglicherweise keinen oder nur einen bedingten Zugang zu den Riechsinneszellen erhalten. Schwere Moleküle sind davon intensiver betroffen als leichte (Croy et al., 2016).

Zum anderen ist die Ausbildung von Geruchsrezeptoren individuell verschieden und beeinflusst entscheidend den Riecheindruck (Gilbert und Kemp, 1996; Keller et al., 2007). Die etwa 339 funktionellen Rezeptorgene im menschlichen Genom (Malnic et al., 2004) sind für die Expression unterschiedlicher Rezeptoren zuständig. Jeder Geruchsrezeptor kann dabei verschiedene Duftstoffe binden, abhängig von ihrer chemischen Struktur. Jedoch wird ein Duft in der Regel nur erkannt, indem der Geruchsstoff eine bestimmte Kombination von Rezeptoren aktiviert. Dieses System wird auch als kombinatorisches Rezeptor-Kodierungsschema bezeichnet (Holley et al., 1974; Malnic et al., 1999; Duchamp-Viret et al., 2000; Duchamp-Viret et al., 2003). Durch genetische Variation kann dieses Kodierungsschema für einzelne Düfte fehlerhaft sein und zu einer gestörten Wahrnehmung führen, ohne dass im klassischen Sinne eine olfaktorische Dysfunktion vorliegt (Croy et al., 2015). So ist die Wahrnehmbarkeit des zugehörigen Duftmoleküls zwar stark reduziert, führt jedoch nicht zu einer absoluten Geruchsblindheit (Buck und Axel, 1991). Zusätzlich aktivieren viele Duftstoffe ab einer bestimmten Konzentration auch das trigeminale System. Dadurch nimmt ein Proband ‚etwas‘ wahr, auch wenn er keine exakte Zuordnung des Duftes vornehmen kann (Croy et al., 2014).

Abgesehen von einer Anosmie kann die unterschiedliche Ausbildung von Rezeptoren auch zu einer sehr individuellen Hyposmie führen. Beides macht die Verwendung üblicher Testverfahren zur Bestimmung der olfaktorischen Funktion problematisch. Da klassisch monomolekulare Duftproben wie n-Butanol oder Phenylethylalkohol eingesetzt werden, (Hummel et al., 1997; Doty, 2006) könnte eine, die Testsubstanzen betreffende spezifische Anosmie, das Ergebnis verfälschen (Zernecke et al., 2011).

2. Theoretische Grundlagen

2.2.2. Qualitative Geruchsstörung

Die Qualitativen Störungen bezeichnen eine fehlerhafte Verarbeitung der wahrgenommenen Düfte. Auch hier kann eine weitere Unterteilung vorgenommen werden in Agnosie, olfaktorische Intoleranz, Parosmie, Phantosmie und Pseudoosmie.

Patienten die an einer Agnosie leiden haben die Fähigkeit verloren, wahrgenommene Gerüche zu erkennen. Dies kann unter anderem bei Morbus Alzheimer Patienten auftreten. Als olfaktorische Intoleranz wiederum bezeichnet man eine Störung, bei der normosmische Patienten einen Duftstoff übersteigert wahrnehmen.

Beim Vorliegen einer Parosmie werden Gerüche einer Reizquelle verändert wahrgenommen. Häufig handelt es sich dabei um bekannte Gerüche die plötzlich als unangenehm empfunden werden. Phantosmie beschreibt eine Störung bei der Gerüche wahrgenommen werden, obgleich keine Reizquelle vorhanden ist.

Bei der Pseudoosmie beziehungsweise Geruchszusammenhang werden Düfte auf Grund starker Gefühle fantasievoll umgedeutet. Jedoch gilt dies nur dann als eine pathologische Erscheinung, wenn gleichzeitig eine psychiatrische Erkrankung vorliegt (Förster et al., 2004).

2.2.3. Ursachen für Riechstörungen

Man unterscheidet allgemein sinunasale von nicht-sinunasalen Störungen in der Geruchswahrnehmung.

Sinunasale Dysosmien. Ursachen für die sinunasalen Geruchsstörungen sind beispielsweise eine regenerierbare Funktionsstörung (neurogener/immunologischer Zusammenhang), eine Schädigung des Epithels (epitheliale Dysosmie) oder ein pathologischer Duftstofftransport (konduktive Dysosmie), wobei auch nach der Beseitigung einer obstruktiven Ursache die Störung weiter bestehen kann. Der überwiegende Anteil der sinunasalen Riechstörungen ist entzündungsbedingt. Dazu gehören die allergische und idiopathische Rhinitis sowie die chronische Rhinosinusitis. Lediglich 25% der Dysosmien haben eine ausschließlich anatomisch-respiratorische Ursache (Förster et al., 2004; Hummel und Welge-Lüssen, 2009).

Nichtsinunasale Dysosmien. Die nervalen Riechstörungen können vielerlei Ursachen aufweisen. Postinfektiös kann es zu einer Dysosmie kommen, welche durch die Viren

2. Theoretische Grundlagen

direkt oder aber auf Grund der Immunantwort des Körpers entsteht. Sie stehen zeitlich im engen Zusammenhang zu einer Infektion der oberen Luftwege und treten abrupt auf (Förster et al., 2004; Hummel und Welge-Lüssen, 2009). Posttraumatische Riechstörungen werden häufig durch ein Schädel-Hirn-Trauma ausgelöst. Etwa durch den Abriss der Fila olfactoria oder eine Prellung des Bulbus olfactorius (Delank und Fechner, 1996). Deutlich seltener sind toxische, kongenitale und iatrogene Riechstörungen. Da letzteres überwiegend durch neurochirurgische und endonasale Eingriffe ausgelöst wird, ist eine präoperative Riechtestung für die Diagnostik dringend erforderlich (Hummel und Welge-Lüssen, 2009).

2.3. Diagnostik

Für eine korrekte Diagnosestellung ist als erstes eine ausführliche Anamnese notwendig, um die Riechstörung im zeitlichen Zusammenhang mit anderen Vorkommnissen, wie beispielsweise Infekten oder Traumata zu sehen. Im Anschluss daran muss der Geruchssinn untersucht und bewertet werden. Dabei wird die subjektive Einschätzung der Patienten, auf Grund der geringen Korrelation zu dem tatsächlichen Riechvermögen, nicht als Maßstab verwendet. Stattdessen bedarf es validierter und einheitlicher Testverfahren. Überwiegend kommen psychophysische Untersuchungen zur Anwendung aber auch elektrophysiologische und bildgebende Verfahren werden im klinischen Alltag genutzt.

Psychophysische Methoden. Es gibt in etwa 200 verschiedene Methoden die sich überwiegend mit dem orthonasalen Riechvermögen beschäftigen. Da diese Art der Testverfahren auf einer Befragung der Patienten beruht, ist hierbei deren Mitarbeit von ausschlaggebender Bedeutung. Sollte diese vermindert sein, zum Beispiel auf Grund kognitiver Einschränkung oder fehlender Motivation, muss auf die Ableitung olfaktorisch evozierter Potenziale oder aber auf bildgebende Verfahren und Biopsien zurückgegriffen werden (Hummel und Welge-Lüssen, 2009).

Um das orthonasale Riechvermögen zu testen, kommen Kurztests sowie ausführliche psychophysische Tests zum Einsatz. Ersteres dient der schnellen Einschätzung des Riechvermögens, besonders um eine Anosmie auszuschließen. Eine detaillierte Beurteilung ist mit diesen Screening-Verfahren jedoch nicht möglich und die Ergebnisse hängen wesentlich von den kognitiven und sprachlichen Fähigkeiten der Testpersonen ab. Zu ihnen gehören unter anderem der CC-SIT ("Cross-Cultural Smell Identification Test") (Doty et al., 1996) und der „Sniffin` Sticks“ Identifikationstest (Hummel et al.,

2. Theoretische Grundlagen

1997). Beide sind schnell und simpel anwendbar und können von den Probanden selbst durchgeführt werden (Hummel und Welge-Lüssen, 2009).

Zu den ausführlichen psychophysischen Verfahren gehört beispielsweise der komplette „Sniffin‘ Sticks“-Test. Dieser besteht aus drei Teilen, einem Schwellen-, Diskriminations- und Identifikationstest und wird auch als SDI-Test zusammengefasst (Hummel et al., 1997). Er wurde im Bestreben entwickelt, ein einheitliches Verfahren zu erhalten. Im Gegensatz zu den überwiegend in den Vereinigten Staaten verbreiteten Tests CCCRC („Connecticut Chemosensory Clinical Research Center Test“) (Cain et al., 1988) und UPSIT („University of Pennsylvania Smell Identification Test“) (Doty et al., 1984) ist der SDI-Test international anwendbar, da auf länderspezifische Geruchsstoffe verzichtet wurde (Hüttenbrink, 1997). Die Duftstoffe wurden von 63 Probanden aus 92 vorsortierten Düften ausgewählt (Hummel et al., 1997). Zusätzlich gilt die Verwendung von Riechstiften als Verbesserung gegenüber den zuvor verwendeten Glasflaschen, da ein Auslaufen oder Tropfen der Flüssigkeit verhindert wird. Allerdings ist die Herstellung der Sniffin-Sticks mit einem höheren Aufwand verbunden (Hüttenbrink, 1997).

Bei dem Identifikations- und Diskriminationstest handelt es sich um überschwellige Testverfahren. Mit ihnen wird die komplexe Verarbeitung von Düften untersucht. Der Schwellentest hingegen dient vornehmlich der Bewertung der peripheren Funktion der Olfaktion. Jedoch ist eine klare Abtrennung beider Systeme nicht möglich (Hummel und Welge-Lüssen, 2009).

Geruchsschwelle. Die Geruchsschwelle eines Menschen zu bestimmen stellt eine Herausforderung dar. Entgegen der Annahme der „klassische Schwellentheorie“ nach Fechner aus dem Jahr 1860, kann die Geruchsschwelle eines Menschen nicht als fester Punkt definiert werden.

Damals ging man davon aus, dass ein einheitlicher Reiz (Reizkontinuum) eine immer gleiche Reaktion des Probanden verursacht. Dies begründete man mit der Annahme, dass jeder Mensch ein internes Reaktionskontinuum besitzt. Auf diesem existiere für jeden einheitlichen Reiz ein fixer Punkt, an dem der abrupte Übergang von absoluter Nichtwahrnehmbarkeit zu definitiver Wahrnehmung eines Duftstoffes stattfindet. Unregelmäßigkeiten in der Antwort der Probanden wurden durch Variationen im persönlichen Beurteilungskontinuum, als Folge von Motivations- und Aufmerksamkeitsschwankungen erklärt (Hummel und Welge-Lüssen, 2009).

2. Theoretische Grundlagen

Heutzutage wird die moderne „Signalentdeckungstheorie“ bevorzugt. Hier geht man von einem Grenzbereich aus, in dem Düfte bestimmter Intensitäten zeitweise wahrgenommen oder auch nicht wahrgenommen werden können. Dabei steigt die Wahrscheinlichkeit für das Erkennen eines Reizes ab einer bestimmten Intensität an und nähert sich der 100%-Grenze. Die Reizstärke, bei der die Erkennungsrate bei 50% liegt, definiert die Reizschwelle.

Neben dieser Wahrnehmungsebene ist für die Schwellenbestimmung auch die psychologische Reaktionsebene oder auch „Antwortebene“ von Bedeutung. Diese bestimmt mit welcher Gewissheit ein Duft wahrgenommen werden muss, um als ‚existierend‘ bewertet zu werden und ist abhängig von der Persönlichkeit der Probanden.

Um den Einfluss dieses Faktors auf das Ergebnis zu minimieren, entschied man sich bei Schwellentests, wie dem SDI-Test, für ein „Forced-Choice-Verfahren“. Dabei muss die Duftprobe neben mehreren Leerproben erkannt werden. Somit entfällt die Antwortmöglichkeit ‚nichts gerochen‘, welche von einem gewissen Teil der Befragten immer verwendet werden würde, auch wenn sie etwas riechen könnten (Ehrenstein und Ehrenstein, 1999; Hummel und Welge-Lüssen, 2009).

3. Arbeitshypothese

In der vorliegenden Studie, wurde die Reproduzierbarkeit der Geruchsschwelle untersucht.

Folgende Hypothesen wurden zu Beginn der Studie aufgestellt:

1. Die Komplexität der Moleküle (Böttcher, 2016) hat einen Einfluss auf die Riechschwelle und deren Zuverlässigkeit. Bei höherer Komplexität erwarten wir einen positiven Einfluss auf die Schwellenwerte und deren Reproduzierbarkeit.
2. Die qualitative Zusammensetzung der Testlösungen hat keinen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit des Testergebnisses und die Sensitivität der Duftgemische.
3. Mixturen werden im Gegensatz zu Einzelmolekülen einfacher wahrgenommen und weisen eine bessere Reproduzierbarkeit der Riechschwelle auf.

4. Material und Methoden

4.1. Studiendesign

Das Thema der vorliegenden Arbeit betrifft die Beeinflussbarkeit der Riechschwellenmessung. Die Datenerhebung und -verarbeitung erfolgte anonymisiert. Die gewonnenen Daten wurden anhand des Statistikprogramms SPSS V.24 (IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland) und Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) ausgewertet. Der Signifikanzwert (p) wurde auf 0,05 festgelegt.

Es handelte sich um eine offene, prospektive Studie, bei welcher verschiedene Untersuchungsvariablen und Testwiederholungen verglichen wurden. Die Daten wurden in der Zeit von Februar 2017 bis August 2017 erhoben und dienten einem rein wissenschaftlichen Zweck, ohne dass es einen direkten therapeutischen oder diagnostischen Wert für die Probanden gab. Die Studienteilnehmer wurden zu zwei Zeitpunkten untersucht, zwischen denen mindestens 24 Stunden und maximal 14 Tage (Mittelwert (MW) = 4,2 Tage; Standardabweichung (SD) = 3,3 Tage) lagen. Von den 110 untersuchten Probanden musste eine Probandin ausgeschlossen werden, da auf Grund von Krankheit das Testintervall nicht eingehalten werden konnte.

Vor Beginn der Studie wurden eindeutige Einschlusskriterien festgelegt, anhand derer die Auswahl der Probanden stattgefunden hat. Folgende Kriterien mussten erfüllt sein:

- freiwillige Teilnahme
- mindestens 18 Jahre alt, maximal 55 Jahre alt
- guter Allgemeinzustand
- in der Familie dürfen keine Riechstörung oder Erkrankungen, die mit Riechstörungen einhergehen können bekannt sein

Die Studientauglichkeit wurde vor Beginn der Untersuchung in einem Anamnese- und Aufklärungsgespräch ermittelt und mit Hilfe eines Sniffin-Stick Identifikationstest konnte eine Normosmie sichergestellt werden. Nach Beendigung der Untersuchung erhielten die Probanden eine angemessene Aufwandsentschädigung.

Die Durchführung der Studie erfolgte im Sinne der Deklaration von Helsinki. Der Studienplan wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden positiv begutachtet (Ek409102016).

4. Material und Methoden

4.2. Probanden

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte über Aushänge im Gelände des Universitätsklinikums Dresden. Außerdem wurden Anzeigen im Internet aufgegeben, so geschehen auf den Plattformen ‚eBay-Kleinanzeigen‘ und ‚Facebook‘

Es wurden 110 Probanden getestet, von denen neun Personen durch zu niedrige Identifikationstestergebnisse (IDT) und eine Person auf Grund unvollständiger Teilnahme ausgeschlossen werden mussten. 100 Personen, davon 61 Frauen, im Alter zwischen 19 und 54 Jahren (MW=28; SD=8,2 Jahre) und 39 Männer im Alter von 21 bis 44 Jahren (MW=28,5; SD=5,3 Jahre) konnten in die Studie eingeschlossen werden.

Jeder Teilnehmer erhielt einen Nummerncode mit dem die verschlüsselte Auswertung der Daten ermöglicht wurde. Die Probandenidentität konnte anhand der Probandennummer nicht rückverfolgt werden.

4.3. Duftstoffe

Die Firma Henkel AG & Co. KGaA (Düsseldorf, Deutschland) stellte für die vorliegende Studie drei Mixturen zur Verfügung. Henkel 100 (Bestellnummer: 13-11845, Anzahl getesteter Probanden (N)=100), Mixtur A (Bestellnummer: 16-12530, N=51) und Mixtur B (Bestellnummer: 13-11845, N=49).

Die Mixtur Henkel 100, im weiteren auch als Mixtur C bezeichnet, besteht aus 89 Molekülarten unterschiedlicher Stoffklassen und beinhaltet unter anderem Aromaten, Aliphaten, Alkohole, Aldehyde, Ester, Ether, Ketone, Amine, Alkane und Heterocyclen. Durch diese komplexe Zusammensetzung, lassen sich Stoffklassenübergreifende Eigenschaften auf die Riechwahrnehmung testen. In früheren Studien wurde die Mixtur sowie verschiedene Untergruppen, bestehend aus Molekülen der Henkel 100 Mischung, in Untersuchungen zur Spezifität und Sensitivität der menschlichen ORN (Wetzel et al., 1999) sowie für Testungen der Signalweiterleitung am olfaktorischen Epithel (Wetzel et al., 2005; Haering et al., 2015) verwendet. In der vorliegenden Studie wurde nun der Fokus auf die olfaktorischen Schwellenwerte der Mixturen gelegt.

Bei den Mixturen A und B handelt es sich ebenfalls um Untergruppen von Henkel 100. Sie bestehen aus jeweils 10 Molekülarten und werden im weiteren Text auch als Mixtur 10 zusammengefasst beziehungsweise als Mixtur A und Mixtur B unterschieden. Auch

4. Material und Methoden

hier soll der Einfluss spezifischer Eigenschaften durch die Kombination verschiedener Stoffklassen minimiert werden.

Von dem Hersteller Henkel wurden uns die Mittelwerte der Dampfdrücke (VP) sowie der Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten (clogP) beider 10er Mischungen zur Verfügung gestellt. Mixtur B zeigte etwas höhere Werte (VP [hPa 25°C] = 0,89 / clogP = 2,66) im Vergleich zu Mixtur A (VP [hPa 25°C] = 0,25 / clogP = 4,14).

Die qualitative Zusammensetzung aller Henkel Testlösungen kann den folgenden drei Tabellen entnommen werden.

#	Stoffname	Menge	Molare Masse	Komplexität
1	jonon beta synth.	10,000	192,3	292
2	citral ar	10,000	152,2	171
3	amylzimaldehyd (alpha)	10,000	202,3	199
4	allylheptanoat - allyloenanthat	10,000	170,3	130
5	bourgeonal	10,000	190,3	170
6	benzylbenzoat	10,000	212,2	213
7	orangenöl dest. weiss	10,000	136,2	163
8	menthol natuerl.	10,000	156,3	120
9	cyclopentadecanolide	10,000	240,4	189
10	ambroxan	10,000	236,4	322

Tabelle 1: Zusammensetzung der Mixtur A durch Henkel AG & Co. KGaA, Standort Krefeld, -Henkel Fragrance Center- übermittelt; molare Masse und Komplexität stammen von <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (Kim et al., 2016)

#	Stoffname	Menge	Molare Masse	Komplexität
1	zimaldehyd	10,000	132,2	121
2	oxyphenylon	10,000	164,2	146
3	benzylalkohol	10,000	108,1	55,4
4	cymol (para) = cymene	10,000	134,2	86,2
5	sandalore	10,000	210,4	240
6	aldehyd c 08	10,000	128,2	50,3
7	aldehyd c 07	10,000	114,2	59,6
8	styrolylacetat	10,000	164,2	148
9	jasmacyclat	10,000	186,3	148
10	acetophenon	10,000	120,2	101

Tabelle 2: Zusammensetzung der Mixtur B durch Henkel AG & Co. KGaA, Standort Krefeld, -Henkel Fragrance Center- übermittelt; molare Masse und Komplexität stammen von <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (Kim et al., 2016)

4. Material und Methoden

#	Stoffname	Menge	#	Stoffname	Menge
1	heliotropin	11,3	46	phenylethylacetat	11,2
2	zimtalkohol	11,3	47	propidyl	11,2
3	geraniol rein	11,3	48	fixolide np	11,2
4	benzophenon krist.	11,3	49	hedione	11,2
5	ethylfruitat	11,3	50	thymol	11,2
6	evernyl	11,3	51	prenylacetate	11,2
7	vanillin	11,3	52	lyral	11,2
8	anisaldehyd	11,3	53	agrunitril	11,2
9	eugenol rein	11,3	54	romilat	11,2
10	methylhexylketon	11,3	55	cumarin	11,2
11	jonon beta synth.	11,3	56	benzylacetat	11,2
12	citral ar	11,3	57	linalool	11,2
13	amylzimtaldehyd (alpha)	11,3	58	anethol usp	11,2
14	allylheptanoat - allyloenanthat	11,3	59	troenan	11,2
15	bourgeonal	11,3	60	phenylethylalkohol	11,2
16	benzylbenzoat	11,3	61	citrathal	11,2
17	orangenoeel dest. weiss	11,3	62	eucalyptol	11,2
18	menthol natuerl.	11,3	63	hexylacetet	11,2
19	cyclopentadecanolide	11,3	64	herbavert	11,2
20	ambroxan	11,3	65	helional	11,2
21	zimtaldehyd	11,3	66	cyclamenaldehyd extra l.g.	11,2
22	oxyphenylon	11,3	67	campher synth.	11,2
23	benzylalkohol	11,3	68	cedrenylacetat	11,2
24	cymol (para) = cymene	11,3	69	aldehyd c 12	11,2
25	sandalore	11,3	70	cyclohexylsalicylat	11,2
26	aldehyd c 08	11,3	71	benzylsalicylat	11,2
27	aldehyd c 07	11,3	72	carvon l	11,2
28	styrolylacetat	11,3	73	isobornylacetat	11,2
29	jasmacyclat	11,3	74	carvon d	11,2
30	acetophenon	11,3	75	irotyl	11,2
31	ptbca 25 cis	11,2	76	citrobellol rein	11,2
32	cyclovertal - vertoliff	11,2	77	ethylamylketon	11,2
33	aldehyd 11-11	11,2	78	aldehyd c 12.mna	11,2
34	acedyl	11,2	79	peranat	11,2
35	phenirat	11,2	80	isononylalkohol	11,2
36	amylbutyrat	11,2	81	otbca	11,2
37	dimetol	11,2	82	menthon	11,2
38	citrusal	11,2	83	methylsalicylat	11,2
39	isononylacetat (neononylacetat)	11,2	84	melusat	11,2
40	dihydromyrcenol	11,2	85	galaxolide 50 dep	11,2
41	floramat	11,2	86	alkohol c 08	11,2

4. Material und Methoden

42	sandelice	11,2	87	terpineol	11,2
43	hexylzimtaldehyd (alpha)	11,2	88	muscone	11,2
44	boisambrene forte	11,2	89	ethylvanillin	11,2
45	dmbca	11,2			

Tabelle 3: Zusammensetzung der Mixtur C durch Henkel AG & Co. KGaA, Standort Krefeld, -Henkel Fragrance Center- übermittelt;

Zusätzlich wurden Citral (mixture of cis- and trans-isomers; complexity=171; Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland #8.02489.0250; N=50) und Anethol (21/22 Extranat; Takasago #001085, Takasago Inc., Paris, Frankreich; N=50) für die Herstellung zweier weiterer Verdünnungsreihen verwendet. Die Wahl fiel auf diese beiden Moleküle, auf Grund ihrer unterschiedlichen Komplexität, bei ähnlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften und geringer trigeminalen Aktivierung in den benötigten geringen Konzentrationen. Die Komplexitätswerte wurden aus PubChem übernommen. Sie skalieren die Aromatizität und bezeichnen die Variabilität der enthaltenen Elemente in Bezug auf ihre Struktur (Böttcher, 2016; Kim et al., 2016). Im Folgenden werden die Verdünnungsreihen als Mixtur 1 (Ein-Molekül-Mischung) beziehungsweise Mixtur 1A (Anethol) und Mixtur 1B (Citral) bezeichnet. Die Eigenschaften beider Stoffe sind in der nachfolgenden Tabelle vergleichend dargestellt.

4.3.1. Anethol

Als Phenylether löst sich Anethol oder auch 1-(4-Methoxyphenyl)-1-propen, in organischen Lösungsmitteln und ist Hauptbestandteil von Anisöl. Häufig findet man diesen Duftstoff beziehungsweise Aromastoff in Mundpflegemitteln und Seifen. Auch in der Lebensmitteltechnologie wird Anethol gern als Fruchtaroma für die Geschmacksrichtungen Erdbeere und Himbeere verwendet. In der Spirituosenfabrikation spielt es eine Rolle bei der Herstellung von Likören, wie zum Beispiel Ouzo oder Anisette. Auf Grund seiner sekretolytischen und leicht antibakteriellen Wirkung setzt man es ebenfalls in Medizinprodukten ein (Rohden, 1911; Kim et al., 2016; National Center for Biotechnology Information, 2018a; National Center for Biotechnology Information, 2018d).

4. Material und Methoden

4.3.2. Citral

Als acyclisches Monoterpen-Aldehyd löst sich Citral oder auch 3,7-Dimethylocta-2,6-dienal nur in organischen Lösungsmitteln und ist der Hauptbestandteil von Zitronengrasöl. Man unterscheidet die Stereoisomere Neral (trans-Isomer) und Geranial (cis-Isomer) die auch als Citral A und B bezeichnet werden. Bei Zimmertemperatur liegt Citral als dezent gelbliche Flüssigkeit vor, die einen intensiven Duft nach frischer Zitrone abgibt (Kim et al., 2016; National Center for Biotechnology Information, 2018b; National Center for Biotechnology Information, 2018c).

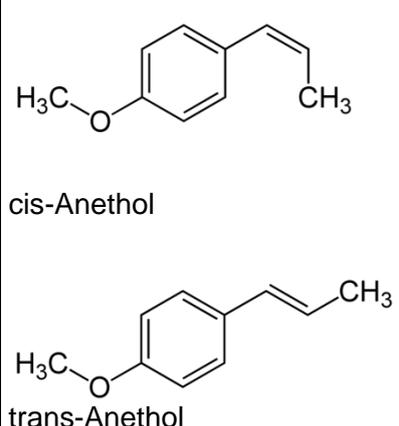
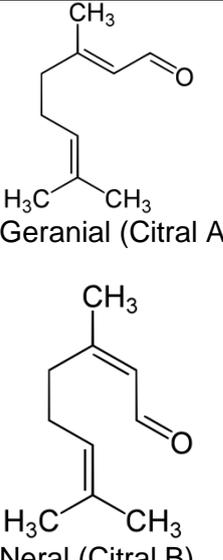
Kategorie	Anethol	Citral
Summenformel	C ₁₀ H ₁₂ O	C ₁₀ H ₁₆ O
alternative Bezeichnung	1-(4-Methoxyphenyl)-1-propen	3,7-Dimethylocta-2,6-dienal
chemische Komplexität	121	171
Strukturformel	 <p>cis-Anethol</p> <p>trans-Anethol</p>	 <p>Geranial (Citral A)</p> <p>Neral (Citral B)</p>
Kurzbeschreibung	cis: flüssig trans: festflüssig, farblos, ölig (ab 21,4 °C)	hellgelbe Flüssigkeit
molare Masse	148,22 g·mol ⁻¹	152,24 g·mol ⁻¹
Dichte	0,99 g·cm ⁻³	0,89 g·cm ⁻³ bei 20 °C
Schmelzpunkt	cis: -22°C / trans: 21-22°C	< -20°C
VP	1,33 hPa (63 °C)	<1 hPa (50 °C)
Löslichkeit	gut in org. Lösungsmitteln (besonders in Ethanol) nahezu unlöslich in Wasser	unlöslich in Wasser löslich in Ethanol

Tabelle 4: Vergleich Anethol und Citral (Merck KGaA, 2011; Riechstofflexikon © OMIKRON GmbH Naturwaren, 2013; Kim et al., 2016)

4. Material und Methoden

4.4. Verdünnungsreihe

Zur Anfertigung der Verdünnungsreihen wurden kleine, braune 10ml-Glasflaschen verwendet (Höhe: 60mm, Durchmesser der Öffnung: 11mm) von denen alle gleichmäßig mit 4ml gefüllt wurden (Leerproben & Verdünnungen). Als Lösungsmittel zur Herstellung der Verdünnungen und für die geruchsneutralen Vergleichsproben, kam Propylenglykol zur Anwendung. Es wurden fünf verschiedene Verdünnungsreihen hergestellt, die jeweils mit einer einprozentigen Lösung begannen und im Verhältnis 1:2 auf 15 weitere Stufen verdünnt wurden. Die Verdünnungen wurden mittels Äquivalenzziffern (1-16) gekennzeichnet wobei die einprozentige Lösung mit ‚1‘ benannt wurde. Auf jede so präparierte Flasche kamen zwei Leerproben (Propylenglykol). Die 5x48 Flaschen wurden aufrecht stehend, in einem geruchsneutralen Raum gelagert. Nach drei Monaten beziehungsweise 53 getesteten Probanden wurden die Verdünnungsreihen erneuert.

Die Verdünnungsschritte wurden gewählt nachdem stichprobenartige Untersuchungen mit den Verdünnungen *I*) 1:1 Start: 4%, *II*) 1:2 Start: 4% und *III*) 1:4 Start 1% durchgeführt wurden. Alle drei waren ungeeignet, da entweder die stärkste Verdünnung bereits von den Probanden wahrgenommen wurde (*I* & *II*) beziehungsweise die Ergebnisse zu nahe beieinander lagen, als dass man eine adäquate Auswertung hätte durchführen können (*III*).

4.5. Ablauf / Durchführung

Die Probanden wurden gebeten, 30 Minuten vor der Testung nicht zu essen oder zu rauchen und bei Bedarf ausschließlich Wasser zu trinken. Außerdem sollte am Tag der Untersuchung auf die Verwendung eines Parfum oder anderer stark riechender Kosmetika verzichtet werden. Bei Nichteinhaltung dieser Vorgaben wurde der Untersuchungstermin verschoben. Bei dem ersten Untersuchungstermin wurden die Probanden sowohl schriftlich als auch mündlich über die Studie aufgeklärt, was mit Hilfe eines Aufklärungsbogens dokumentiert wurde. Im Anschluss daran erfolgte die Voruntersuchung in Form des Sniffin-Stick Identifikationstests, um eine Riechstörung auszuschließen. Probanden mit einer Normosmie wurden eingeschlossen (N=100). Im weiteren Verlauf wurden drei Schwellentestungen durchgeführt (ein Molekül, 10 Moleküle, 89 Moleküle) die Reihenfolge der Testungen sowie die Auswahl der Testlösungen (Anethol/Citral und Mixtur A/Mixtur B) erfolgte randomisiert. Zum zweiten Termin, welcher frühestens 24 Stunden nach dem ersten Termin stattfinden durfte (MW=4,2; SD=3,3 Tage), bekam jeder Proband die gleichen Substanzen, in der gleichen

4. Material und Methoden

Reihenfolge, wie bei der ersten Untersuchung präsentiert. Insgesamt wurde zwischen drei verschiedenen Testsequenzen gewechselt. Dadurch konnte sichergestellt werden, dass die letztlichen Ergebnisse unabhängig von der Reihenfolge der Untersuchungen und der individuellen Ermüdung waren. Nach jeder Schwellentestung wurde eine 15 minütige Pause eingelegt. Damit betrug der zeitliche Aufwand zum ersten Termin meist 60-90 Minuten (inklusive Anamnese, Aufklärung und Identifikationstest) und zum zweiten Termin durchschnittlich 60 Minuten.

Bei den, für den Identifikationstest verwendeten Sniffin-Sticks, handelt es sich um etwa 14 cm lange und im Durchmesser 1,3 cm breite Filzstifte, welche im Gegensatz zu klassischen Stiften mit 4 ml flüssigem Duftstoff gefüllt sind. Für die Testung kamen 16 verschiedene Duftstifte zur Anwendung, die jeweils einzeln präsentiert wurden. Dafür wurde die Verschlusskappe entfernt und der Stift für drei Sekunden etwa 2cm unterhalb der Nase des Probanden oder der Probandin geschwenkt. Im Anschluss musste der Duft benannt werden. Dies geschah unter Zuhilfenahme von Karteikarten, auf denen jeweils vier Antwortmöglichkeiten (Begriffe und Bilder) abgebildet waren (Kobal et al., 1996; Hummel et al., 1997). In Abbildung 4 sind die jeweiligen vier Antwortmöglichkeiten pro Stift dargestellt.

1	<input type="checkbox"/> Orange	<input type="checkbox"/> Brombeere	<input type="checkbox"/> Erdbeere	<input type="checkbox"/> Ananas
2	<input type="checkbox"/> Rauch	<input type="checkbox"/> Schuhleder	<input type="checkbox"/> Klebstoff	<input type="checkbox"/> Gras
3	<input type="checkbox"/> Honig	<input type="checkbox"/> Vanille	<input type="checkbox"/> Zimt	<input type="checkbox"/> Schokolade
4	<input type="checkbox"/> Schnittlauch	<input type="checkbox"/> Zwiebel	<input type="checkbox"/> Fichte	<input type="checkbox"/> Pfefferminz
5	<input type="checkbox"/> Kokos	<input type="checkbox"/> Kirsche	<input type="checkbox"/> Walnuss	<input type="checkbox"/> Banane
6	<input type="checkbox"/> Pfirsich	<input type="checkbox"/> Apfel	<input type="checkbox"/> Zitrone	<input type="checkbox"/> Grapefruit
7	<input type="checkbox"/> Gummibär	<input type="checkbox"/> Lakritz	<input type="checkbox"/> Kaugummi	<input type="checkbox"/> Kekse
8	<input type="checkbox"/> Terpentin	<input type="checkbox"/> Gummi	<input type="checkbox"/> Menthol	<input type="checkbox"/> Senf
9	<input type="checkbox"/> Knoblauch	<input type="checkbox"/> Zwiebel	<input type="checkbox"/> Sauerkraut	<input type="checkbox"/> Möhren
10	<input type="checkbox"/> Zigaretten	<input type="checkbox"/> Kaffee	<input type="checkbox"/> Wein	<input type="checkbox"/> Kerzenrauch
11	<input type="checkbox"/> Melone	<input type="checkbox"/> Pfirsich	<input type="checkbox"/> Apfel	<input type="checkbox"/> Orange
12	<input type="checkbox"/> Senf	<input type="checkbox"/> Pfeffer	<input type="checkbox"/> Zimt	<input type="checkbox"/> Gewürznelke
13	<input type="checkbox"/> Birne	<input type="checkbox"/> Pflaume	<input type="checkbox"/> Pfirsich	<input type="checkbox"/> Ananas
14	<input type="checkbox"/> Kamille	<input type="checkbox"/> Himbeere	<input type="checkbox"/> Rose	<input type="checkbox"/> Kirsche
15	<input type="checkbox"/> Rum	<input type="checkbox"/> Anis	<input type="checkbox"/> Honig	<input type="checkbox"/> Fichte
16	<input type="checkbox"/> Fisch	<input type="checkbox"/> Brot	<input type="checkbox"/> Käse	<input type="checkbox"/> Schinken

Abbildung 4: Identifikationstest-Tabelle

Für die Schwellentestung wurden den Testpersonen die Augen verbunden und nacheinander drei Flaschen in zufälliger Reihenfolge präsentiert. Die Flaschen wurden etwa drei Sekunden in einem Abstand von zwei Zentimetern zur Nase mit leicht

4. Material und Methoden

schwenkenden Bewegungen dargeboten. Die Probanden mussten nach jedem Triplet die Flasche nennen, welche ihrer Meinung nach den Duftstoff enthielt. Es wurde mit der kleinsten Konzentration begonnen und anschließend mit stufenweise ansteigender Konzentration fortgefahren. Bei einer korrekten Antwort wurde die gleiche Konzentrationsstufe erneut präsentiert. Sobald ein Proband zweimal hintereinander die richtige Flasche identifizieren konnte (bei gleicher Konzentration), wurde dies als positiver Wendepunkt (WP) in der Tabelle markiert. Im Anschluss daran wurde in umgekehrter Vorgehensweise die Konzentration verringert, bis der Proband keine richtige Zuordnung mehr treffen konnte. Dies wurde als negativer WP in die Tabelle eingetragen. Auf diese Art wurden jeweils sieben WP ermittelt (viermal doppelt richtige Zuordnung, dreimal falsche Zuordnung). Aus den letzten 4 WP wurde der Mittelwert errechnet. Dieser stellte den Geruchsschwellenwert dar.

Da für die Berechnung des Schwellenwertes lediglich die letzten vier WP von Bedeutung waren, konnten Ausreißer das Ergebnis stark verzerren. Daher wurde arbiträr eine Regelung zum Ausschluss bestimmter Werten festgelegt.

Bei der Betrachtung der letzten vier WP wurde zunächst ein Hilfswert errechnet. Dieser ergab sich als Mittelwert aus denjenigen entgegengesetzten WP (1x positiver WP, 1x negativer WP) mit der kleinsten Differenz zueinander und diente als Referenzpunkt für die Entscheidung zum Einschluss der beiden übrigen Grenzwerte. WP die um vier oder mehr Stufen von dem Hilfsmittelwert abwichen, wurden ausgeschlossen. Sobald jedoch beide übrigen WP einen Abstand von zwei oder mehr Stufen zu dem Hilfsmittelwert aufwiesen, wurde kein Wert ausgeschlossen. Nachdem auf diese Art die WP geprüft wurden, konnte der definitive Schwellenwert aus den einzuschließenden WP ermittelt werden. In den nachfolgenden Abbildungen werden zwei Beispiele für das Ausschlussverfahren dargestellt.

Für die statistische Auswertung wurde eine F-Statistik (F-Verteilung) verwendet und zur Überprüfung der Sphärizität der Mauchly Test durchgeführt. Dieser ergab einen Wert von 80,4%. Für die weiteren Auswertungen konnte also die Sphärizität angenommen werden (Hemmerich, 2015).

4. Material und Methoden

	▲	▼	▲	▼	▲	▼	▲
				WP 1	WP 2	WP 3	WP 4
	++	-	++	-	++	-	++
1							
2							
3							
4							
5	++						++
6	+-	+	++		++		-
7	+-	-		-		+	-
8	-					+	-
9	-					+	-
10	-					+	-
11	-					-	-
12	-						
13	-						
14	-						
15	-						
16	-						

Hilfswert: $(6+7)/2 = 6,5$

Ausreißer: $11 - 6,5 = 4,4 / 4,4 \geq 4$

WP 3 muss ausgeschlossen werden.

definitiver Mittelwert: $(6+7+5)/3 = 6$

	▲	▼	▲	▼	▲	▼	▲
				WP 1	WP 2	WP 3	WP 4
	++	-	++	-	++	-	++
1							
2							
3							++
4							+-
5							-
6							-
7	++		++		++		-
8	+-	-		-		+	-
9	-					+	-
10	-					-	
11	-						
12	-						
13	-						
14	-						
15	-						
16	-						

Hilfswert: $(7+8)/2 = 7,5$

WP 3: $10-7,5 = 2,5 / 2,5 \geq 2$

WP 4: $7,5-3 = 4,5 / 4,5 \geq 4$

Alle WP können eingeschlossen werden.

definitiver Mittelwert: $(3+7+8+10)/4 = 7$

Abbildung 5: Schwellenwerttabelle; Darstellung der Ausschlussverfahren für WP zur Vermeidung von Ausreißern

5. Ergebnisse

5.1. Anamnesedaten

In der nachfolgenden Tabelle sind detaillierte Informationen über das Probandenkollektiv dargestellt.

	Anzahl der Probanden	Prozent	Informationen
Gesamt	100	100%	
weiblich	61	61%	
männlich	39	39%	
<u>Patientenanamnese:</u>			
Raucher	8	8%	
Drogenkonsum	0		
regelmäßige Medikamenteneinnahme	30	30%	19x orale Kontrazeptiva 3x L-Thyroxin 1x Thyronajod 1x Eliquis 1x Euthyrox 1x Iberogast 1x Metoclopramid, Pantoprazol und Paracetamol 1xMitrazapin
Nasenoperationen	4	4%	3xPolypen 1x Nasenkorrektur
Polypen	0		
<u>Vorerkrankungen:</u>			
Asthma	0		
Schädel-Hirn-Trauma	1	1%	
chronische Erkrankungen	3	3%	Rheumatoide Arthritis, Migräne, Hyperhidrose
<u>Familienanamnese:</u>			
Morbus Parkinson	4	4%	
Morbus Alzheimer	5	5%	
andere neurologische Erkrankungen	3	3%	2x MS 1x Levy-Körperchen-Demenz
andere chronische Erkrankungen	6	6%	3x Diabetes 2xSchlaganfall 1xHypertonie 1x Herzinsuffizienz 1x Psoriasis

Tabelle 5: Anamnesedaten, als Zusammenfassung des gesamten Probandenkollektivs

5. Ergebnisse

5.2. Identifikationstest

Mit Hilfe des Identifikationstestergebnisses konnten Probanden mit schlechtem Riechvermögen schnell und einfach erkannt und von der weiteren statistischen Auswertung ausgeschlossen werden. Dadurch wird eine verzerrte Darstellung der Ergebnisse vermieden. Aus der nachfolgenden Abbildung wird der prozentuale Anteil der jeweiligen Testergebnisse an der Gesamtsumme aller 100 getesteten Probanden ersichtlich.

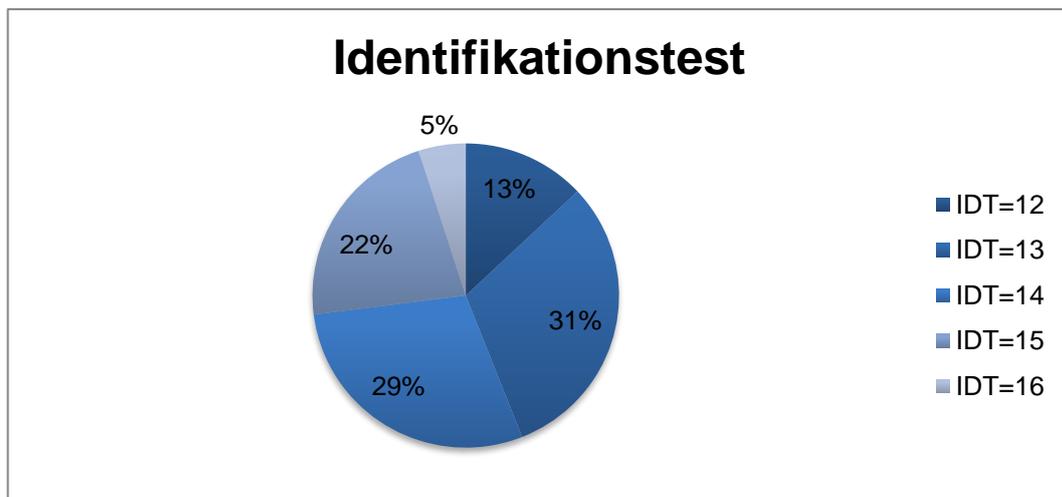


Abbildung 6: Identifikationstest, prozentualer Anteil der Probanden mit den jeweiligen Identifikationstestergebnissen (IDT) an dem gesamten Probandenkollektiv

5. Ergebnisse

5.3. Geruchsqualität

Um die Qualität der fünf Düfte zu ermitteln, wurden in einer kurzen Untersuchungsreihe (N=13) zusätzlich Daten zur Intensität und Hedonik erhoben. Die Probanden mussten dafür an der einprozentigen Verdünnung des jeweiligen Stoffes riechen und sollten zunächst die Intensität (1-10 / 1: sehr schwach; 10: sehr intensiv) und danach die Hedonik (-5 – 5 / -5: maximal unangenehm; 5: maximal angenehm) als Zahlenwert angeben. Danach erhielten sie eine Liste mit Begriffen (jedem Begriff war ein Punktwert zwischen -4 und 4 zugeordnet). Mit Hilfe dieser Liste sollten die Düfte verbal beschrieben werden. Die Anzahl der beschreibenden Begriffe war dabei von den Probanden frei wählbar. Anhand der Punktwerte konnte im Nachhinein die Hedonik nach Dravnieks berechnet werden (Mittelwert aus den Punktwerten der genannten Begriffe, ansteigende Werte bei zunehmend angenehmer Empfindung) (Dravnieks et al., 1984). Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

		Anethol	Citral	Mixtur A	Mixtur B	Mixtur C
Intensität	MW	6,61	7,08	5,69	6,08	7,69
	SD	1,33	1,44	2,14	1,80	0,95
Hedonik	MW	1,38	3	1,62	0,62	2,08
	SD	2,10	1,63	2,33	2,02	2,43
Hedonik nach Dravnieks	MW	1,09	1,88	1,26	0,34	0,44
	SD	0,59	0,92	1,39	1,57	1,22

Tabelle 6: Geruchsqualität; Darstellung der Intensität (aufsteigend von 0:minimale Intensität – 10:maximale Intensität), Hedonik (aufsteigend von -5:maximal unangenehm bis 5:maximal angenehm) und Hedonik nach Dravnieks (aufsteigend von -4:maximal unangenehm bis 4:maximal angenehm) Es handelt sich um die Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Testergebnisse von 13 Probanden für alle 5 Düfte (Konzentration: 1%)

Bei der Untersuchung der Hedonik nach Dravnieks wurde zusätzlich die Anzahl der benannten Duftnoten für die Duftproben Anethol und Citral ermittelt. Dabei ergaben sich Durchschnittswerte von 1,8 benannten Duftnoten für Anethol und 2,5 benannten

5. Ergebnisse

Duftnoten für Citral. Eine ausführliche Auflistung der genannten Duftnoten findet sich in der nachfolgenden Tabelle.

Proband	Anethol	Citral
Pb1	<ul style="list-style-type: none"> • Anis 	<ul style="list-style-type: none"> • Zitrone
Pb2	<ul style="list-style-type: none"> • Anis 	<ul style="list-style-type: none"> • Zitrone
Pb3	<ul style="list-style-type: none"> • alkoholisch 	<ul style="list-style-type: none"> • Zitrone
Pb4	<ul style="list-style-type: none"> • Anis 	<ul style="list-style-type: none"> • Orange • Zitrone
Pb5	<ul style="list-style-type: none"> • Anis 	<ul style="list-style-type: none"> • fruchtig • fruchtig, Zitrusfrucht • Grapefruit
Pb6	<ul style="list-style-type: none"> • Anis • aromatisch • ätherisch • Lakritz • ölig, fettig 	<ul style="list-style-type: none"> • ätherisch • fruchtig, Zitrusfrucht • ölig, fettig • Zitrone • Reiniger
Pb7	<ul style="list-style-type: none"> • Anis • Lakritz • würzig 	<ul style="list-style-type: none"> • Fisch • Grapefruit • Zitrone
Pb8	<ul style="list-style-type: none"> • Anis • Lakritz 	<ul style="list-style-type: none"> • fruchtig, Zitrusfrucht • Zitrone
Pb9	<ul style="list-style-type: none"> • Anis 	<ul style="list-style-type: none"> • Apfel • Beeren • aromatisch • Erdbeere • Orange
Pb10	<ul style="list-style-type: none"> • Lakritz 	<ul style="list-style-type: none"> • ätherisch • fruchtig • orange • Zitrone
Pb11	<ul style="list-style-type: none"> • Lakritz 	<ul style="list-style-type: none"> • ätherisch • Orange
Pb12	<ul style="list-style-type: none"> • Eukalyptus • Pfefferminz 	<ul style="list-style-type: none"> • Pfefferminz • Zitrone
Pb13	<ul style="list-style-type: none"> • aromatisch • Lakritz • würzig 	<ul style="list-style-type: none"> • fruchtig, Zitrusfrucht • Lösungsmittel

Tabelle 7: Duftnoten; Darstellung der ausgewählten Begriffe zur verbalen Beschreibung der Düfte (Anethol und Citral) aus der Liste nach Dravnieks.

5. Ergebnisse

5.4. Geruchsschwellenmessung

Für die erste Sitzung ergaben sich im Vergleich zur zweiten in allen Kategorien niedrigere Mittelwerte (siehe Abbildung 10 und Tabelle 7).

	erster Sitzung		zweite Sitzung	
	Mittelwert	Standartfehler	Mittelwert	Standartfehler
Einzelmolekül	6,50	0,13	6,69	0,12
Mixtur 10	7,16	0,14	7,58	0,14
Mixtur 89	6,70	0,09	6,97	0,11
Gesamt	6,78	0,09	7,10	0,09

Tabelle 7: Vergleich der ersten und zweiten Sitzung in Bezug auf die Mittelwerte und Standartfehler der Geruchsschwellenmessung aller Probanden (N=100)

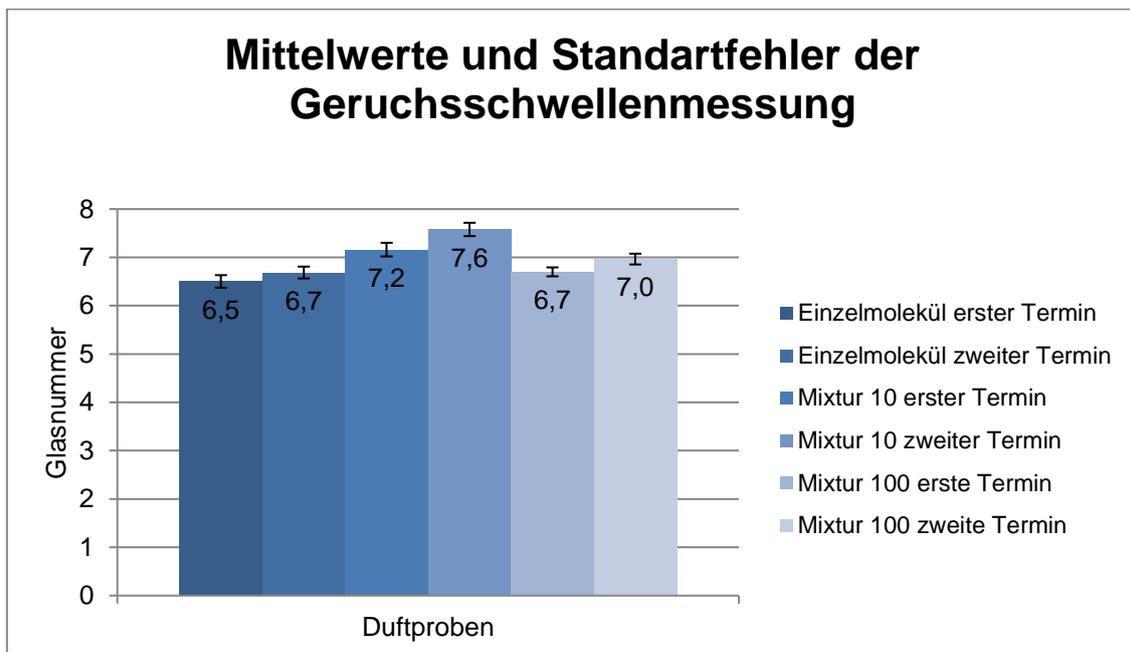


Abbildung 7: Variabilität der Testsitzungen; Vergleich der ersten und zweiten Sitzung in Bezug auf die Mittelwerte und Standartfehler der Geruchsschwellenmessung aller Probanden (N=100); Y-Achse: Verwendung der Glasnummern als Äquivalenz für die Konzentrationen; X-Achse: Duftproben siehe Legende

Es wurden die Geruchsschwellen der Duftstofflösungen verglichen, wobei drei Gruppen in Abhängigkeit von der Molekülanzahl unterschieden wurden. Einzelmoleküle (MW=6,7; SD=0,11), Mixturen aus 10 Molekülen (MW=7,4; SD=0,13) und eine Mixtur bestehend

5. Ergebnisse

aus 89 Molekülen (MW=6,8; SD=0,09). Die Schwellenwerte unterschieden sich statistisch signifikant voneinander $F(2,188)=8,2$; $p=0,001$; $\eta^2=0,08$. Dabei ergaben sich die besten Werte für Mixtur 10 ($p<0,001$). Die Ergebnisse der Mixtur 1 und Mixtur 10 unterschieden sich nicht signifikant voneinander ($p=0,59$).

Zwischen der Anzahl und der Art der Komponenten wurde ebenfalls eine signifikante Interaktion festgestellt, dies galt sowohl für die Einzelmoleküle $F(2,188)=4,7$; $p=0,01$; $\eta^2=0,05$ als auch die Zehnkostenmixturen $F(2,188)=6,5$; $p=0,002$; $\eta^2=0,06$.

Dabei stellten sich heraus, dass Anethol (MW=7,0; SD=0,15; $p=0,001$) allgemein besser wahrgenommen wurde als Citral (MW=6,3; SD=0,15)

Mixtur B (MW=7,7; SD=0,18) wurde im Vergleich zu Mixtur A (MW=7,1; SD=0,18) signifikant besser wahrgenommen ($p=0,024$).

Als vierter Haupteffekt wurde eine Drei-Wege-Beziehung zwischen der Anzahl der Moleküle, dem Molekültyp von Mixtur 1 und dem Mixturtyp von Mixtur 10 festgestellt $F(2; 206)=4,0$; $p=0,02$; $\eta^2=0,04$, dieser wurde nicht weiter untersucht.

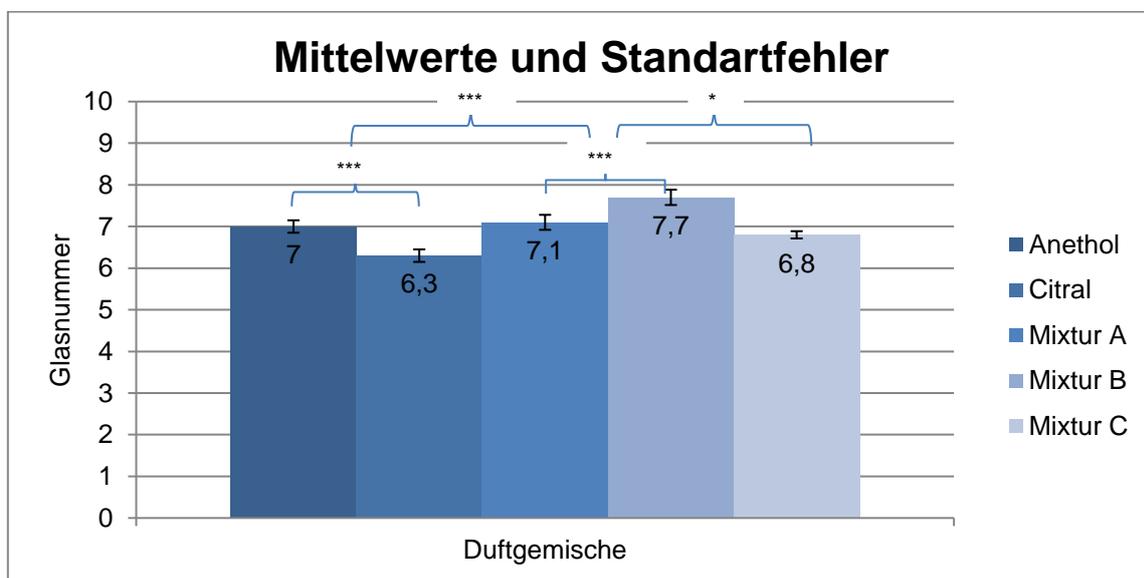


Abbildung 8: Geruchsschwellen; Vergleich der Mittelwerte und Standardfehler und Darstellung der Signifikanz (***: $p<0,001$, **: $p<0,01$, *: $p<0,05$) aller fünf Duftgemische; Y-Achse: Verwendung der Glasnummern als Äquivalenz für die Konzentrationen; X-Achse: Duftgemische siehe Legende

5. Ergebnisse

Anhand der Pearson Korrelation wurde die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beider Testdurchgänge unter allen experimentellen Bedingungen untersucht. Der Korrelationskoeffizient (r) wird in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Anzahl der Moleküle	Duftprobe	r
Einzelmolekül	Anethol (n=50)	0,43
	Citral (n=50)	0,32
10 Komponentenmischung	Mixture A (n=51)	0,38
	Mixture B (n=49)	0,67
89 Komponentenmischung	Mixture C (n=100)	0,36

Tabelle 8: Pearson Korrelation; Darstellung des Korrelationskoeffizienten für alle fünf Duftgemische.

Mit Hilfe des Fischer Tests, wurde die signifikant höhere Reliabilität der Mixtur B ($p=0,045$) im Vergleich zu den übrigen Testlösungen deutlich. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen Anethol und Citral ($p=0,27$) sowie zwischen Anethol und Mixtur A ($p=0,39$) beziehungsweise Citral und Mixtur A ($p=0,37$). Auch Mixtur 100 unterschied sich in seiner Reliabilität nicht signifikant von Anethol ($p=0,32$), Citral ($p=0,24$) oder Mixtur A ($p=0,35$)

Um die Verteilung der individuellen Ergebnisse besser zu verstehen, wurde die Differenz der Schwellenwerte aus der ersten und zweiten Sitzung berechnet und gegen den durchschnittlichen Wert, welcher sich aus beiden Sitzungen ergibt, aufgezeichnet (Abbildung 9).

5. Ergebnisse

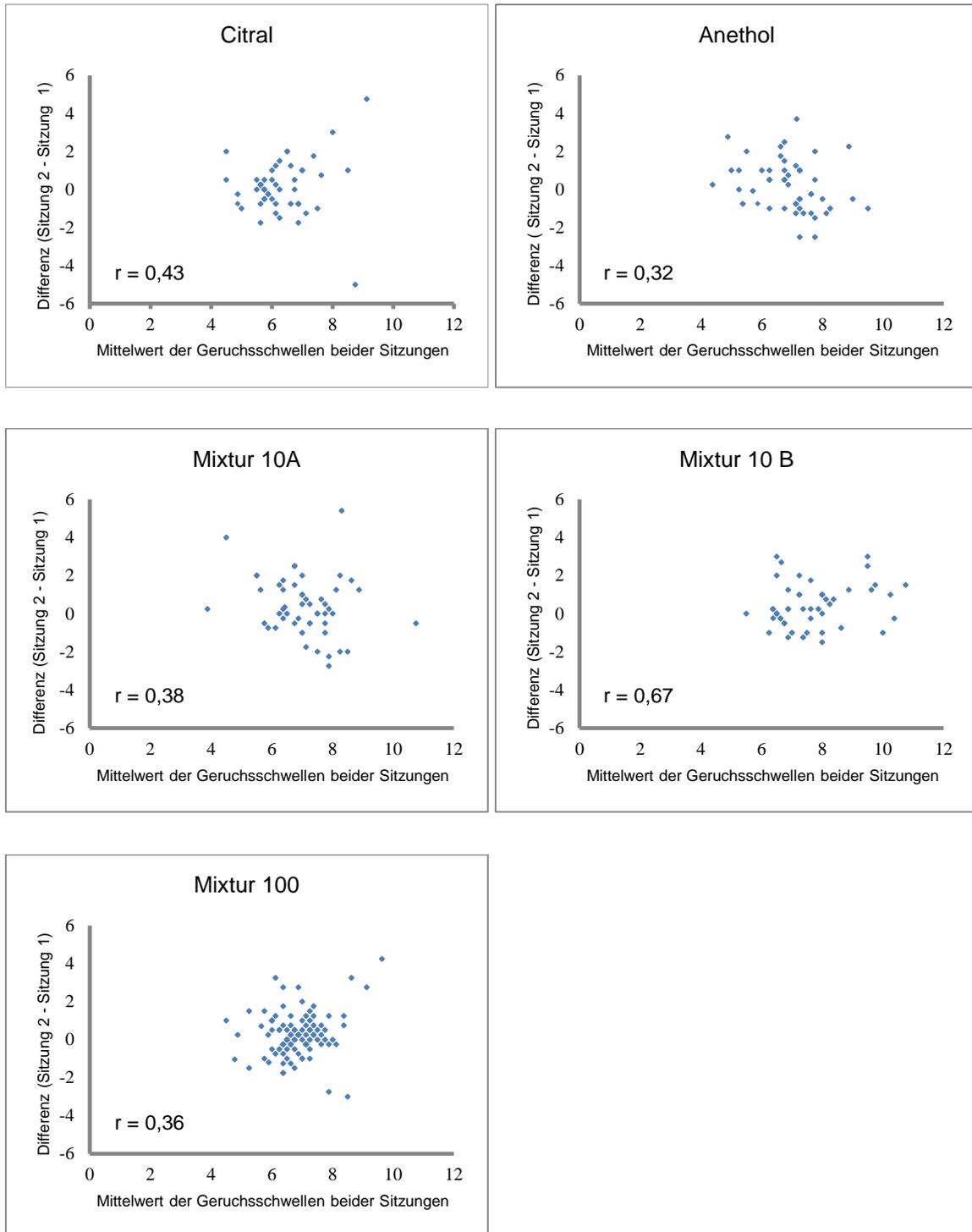


Abbildung 9: Korrelationsplots für alle Duftgemische; X-Achse: Mittelwerte aus beiden Testdurchgängen eines Probanden mit dem gleichen Duftstoff; Y-Achse: Differenz der Werte beider Sitzungen (Sitzung 2 – Sitzung 1)

5. Ergebnisse

Für die Schwellenmessungen lassen sich folgende zentrale Ergebnisse zusammenfassen:

- Für jeden Duftstoff stieg die Wahrnehmbarkeit über beide Sitzungen an, wodurch die Duftstoffe zum zweiten Untersuchungstermin durchschnittlich bereits in geringerer Konzentration erkannt wurden. Dabei verzeichneten wir für Mixtur B die stärkste Verbesserung.
- Bei dem Vergleich von Düften unterschiedlicher Molekülanzahl, zeigte sich die stärkste Wahrnehmbarkeit für Zehnmolekülmischungen, im Vergleich zu Einzelmolekülen und der Mixtur 100. Auch hier zeigte sich für Mixtur B die beste Wahrnehmbarkeit.
- Die Betrachtung der Reproduzierbarkeit der Schwellenwerte ergab die stärkste Korrelation für Mixtur B, sie unterschied sich signifikant von allen anderen Duftgemischen.

6. Diskussion

6.1. Theoretische Auswertung

6.1.1. Einfluss der Komplexität

Die Komplexität der Moleküle (Böttcher, 2016) hat einen Einfluss auf die Riechschwelle und deren Zuverlässigkeit. Bei höherer Komplexität erwarten wir einen positiven Einfluss auf die Schwellenwerte und deren Reproduzierbarkeit.

In den vorliegenden Untersuchungen ergab sich für Anethol, im Vergleich zu Citral, eine höhere Sensitivität und bessere Reproduzierbarkeit der Geruchsschwelle. Anethol weist eine kleinere chemische Komplexität (Böttcher, 2016) sowie eine geringere molare Masse auf. Daraus lässt sich ableiten, dass eine höhere Komplexität und größere molare Masse die Wahrnehmbarkeit von Duftstoffen nicht erhöht. In einer Untersuchung zum altersbedingten Verlust der olfaktorischen Sensitivität wurde ebenfalls deutlich, dass kleine Moleküle besser wahrgenommen werden als schwere. Dies widerspricht der Annahme, dass große komplexe Moleküle auf Grund ihres Umfangs an mehrere OBP binden können und daher auch nach dem Verlust einzelner Rezeptoren, auf Grund von Altersdegeneration, noch leicht wahrgenommen werden (Kermen et al., 2011). Stattdessen scheinen diese größeren Moleküle sehr spezifische Rezeptoren und Kombinationen von Bindungsstellen zu benötigen, sind daher selektiver als kleine Moleküle und werden folglich schlechter wahrgenommen (Sinding et al., 2014). Unsere Ergebnisse unterstützen diese Theorie. Kleine Moleküle sind bei der Auswahl der Bindungsstellen wesentlich flexibler und werden einfacher gebunden. Weiterhin spielt auch die Beschaffenheit der Riechschleimhaut eine Rolle, da die Schleimschicht unterschiedlich gut durchlässig sein und daher für schwere Moleküle ein größeres Hindernis darstellen kann (Croy et al., 2016), vorausgesetzt es handelt sich um Moleküle mit annähernd gleicher Löslichkeit, was bei unseren Stoffen der Fall war. Sowohl Citral als auch Anethol sind hydrophobe, organische Verbindungen.

Unsere Ergebnisse stehen den meisten Aussagen von Kermen et al. 2011 kontrovers gegenüber. Eine Übereinstimmung gibt es allerdings. Über die Bindung der Duftstoffe an unsere Geruchsrezeptoren resultieren Muster, welche in unserem Gehirn als Duftnoten erkannt werden. Es scheint einen direkten proportionalen Zusammenhang zwischen der Komplexität und der Anzahl der von Testpersonen benannten Duftnoten zu geben (Kermen et al., 2011; Keller und Vosshall, 2016). Dies ließ sich durch unsere Pilotstudie

6. Diskussion

zur Qualität der Duftstoffe bestätigen, welche weiterhin darauf hin deutete, dass Citral als angenehmer empfunden wird als Anethol. Diese Ergebnisse stehen der Sensitivität und Reproduzierbarkeit konträr gegenüber, was sich dadurch erklären lässt, dass die Geruchswahrnehmung und Hedonik individuell verschieden sind und durch persönliche Erfahrungen und Erlerntes beeinflusst werden können (Keller und Vosshall, 2016). Einen wesentlichen Punkt stellt dabei die Gewöhnung dar. Obgleich einige Geruchsempfindungen angeboren sind (Khan et al., 2007), besonders solche von biologisch relevanten Molekülen, spielt sie eine entscheidende Rolle und hat Einfluss darauf, ob man einen Duft als angenehm oder unangenehm empfindet. Dabei üben die unterschiedlichen funktionellen und strukturellen Eigenschaften einen zum Teil gegenläufigen Einfluss auf die Gewöhnung aus. So sinkt sie mit der Zunahme von Doppelbindungen sowie der Zunahme des VP und steigt parallel zur molaren Masse und der Hydrophobie der Stoffe an. Weiterhin verringern kleinere Kohlenstoffketten und weniger vorhandene Konformere die Gewöhnung an einen Stoff (Sinding et al., 2017). Betrachtet man jede strukturelle und funktionelle Eigenschaft der Moleküle einzeln, ist es nahezu unmöglich vorherzusagen, welche davon überwiegt. Der aromatische Ring von Anethol stellt eine solche Eigenschaft dar und steht der größeren molaren Masse von Citral gegenüber. Aus diesem Grund versucht man die vielfältigen Einflussfaktoren der Moleküle zusammenzufassen und einen Zusammenhang zwischen der Komplexität eines Duftstoffes und der Gewöhnung an diesen zu ermitteln. Unserer Studie bestätigte frühere Ergebnisse, wonach die Gewöhnung an einen Stoff und damit die Hedonik, mit zunehmender Komplexität ansteigt (Kermen et al., 2011).

Zusammenfassend lässt sich sagen, Moleküle mit einer kleineren molaren Masse und geringeren Komplexität werden einfacher und zuverlässiger wahrgenommen, da sie die Riechschleimhaut leichter passieren und ihnen mehr potentielle Bindungsstellen an den Rezeptoren zur Verfügung stehen. Gleichzeitig lösen Moleküle mit einer größeren molaren Masse und höheren Komplexität mehr Duftnoten im Gehirn aus und scheinen intensiver und angenehmer wahrgenommen zu werden. Folglich lässt sich die Wahrnehmung eines Duftstoffes nicht direkt aus dem Rezeptor-Aktivierungsmuster ableiten oder vorhersagen.

Um diese Diskrepanz zwischen Rezeptorebene und Wahrnehmungsebene zu überwinden, wurden bereits mehrere Untersuchungen durchgeführt. Die genaue Vorhersage von Gerüchen sowie die Analyse der Geruchswahrnehmung stellt jedoch nach wie vor eine Herausforderung dar. Häufig spricht man bei dieser Problematik von

6. Diskussion

den unterschiedlichen Dimensionen der Geruchsempfindung. Das Hauptproblem besteht darin, die Rezeptordimensionen mit ihren unterschiedlichen Aktivierungsmustern und Affinitäten in Einklang mit der Wahrnehmungsdimension zu bringen. Zwei Erklärungsansätze stehen sich dabei gegenüber. Zum einen die Annahme, dass die Rezeptordimension mit der Wahrnehmungsdimension gleichzusetzen ist. Dies würde bedeuten, dass die Anzahl unserer Geruchsrezeptoren sich darin begründet, so viele unterschiedliche Moleküle wie möglich sowie jede mögliche Kombination dieser zu diskriminieren und wahrzunehmen. Daraus ergäben sich mehr als eine Milliarde verschiedener wahrnehmbarer Düfte (Bushdid et al., 2014). Dem gegenüber steht die Annahme, dass die beiden Dimensionen nicht identisch sind, sondern auf einander projizieren. Dies konnte anhand des Bakterium *Escherichia coli* nachgewiesen werden.

Da es fünf Rezeptoren besitzt, könnte es prinzipiell Geruchsgemische in fünf Dimensionen analysieren. Jedoch konvergieren alle Rezeptoren auf eine einzelne Variable, nämlich die Konzentration des Zytoplasma-Proteins ‚CheY‘ (Grebe und Stock, 1998), welches die Chemotaxis des Bakteriums steuert. *Escherichia coli* projiziert also seinen fünfdimensionalen Rezeptorraum auf einen eindimensionalen Wahrnehmungsraum. Wozu benötigt es aber die fünf verschiedenen Rezeptortypen? Sie dienen der Bindung von Aminosäuren wie Aspartat und Serin. Da sowohl die Aminogruppe als auch die Carboxylgruppe der Moleküle in ihrer Ladungsverteilung (abhängig vom pH-Wert) variieren, benötigt das Bakterium verschiedene Rezeptorproteine um die unterschiedlichen Liganden zu binden. Alle dienen jedoch der gleichen Wahrnehmungsdimension.

Dieser Gedanke lässt sich auf das Rezeptorsystem in der menschlichen Nase übertragen. Auch Stoffe, die nur in geringer Konzentration vorkommen, sollen erkannt und gebunden werden. Dafür benötigt der Mensch Rezeptoren mit starker Affinität zu den jeweiligen chemischen Gruppen, wodurch eine große Anzahl an Rezeptoren und damit verschiedene physikochemischen Dimensionen benötigt werden. Dies lässt aber noch keinen Rückschluss auf die Anzahl und Art der Wahrnehmungsdimensionen zu. Man geht davon aus, dass unterschiedliche Aktivierungsmuster letztendlich ähnliche oder gleiche Geruchswahrnehmungen auslösen können. Dabei ist es, ähnlich wie bei dem Bakterium *Escherichia coli*, von Vorteil wenn möglichst viele sensorische Inputs erkannt werden. Jedoch besteht nicht immer die Notwendigkeit, die exakten Rezeptormuster zu unterscheiden (Meister, 2015).

6. Diskussion

Einige Studien weisen darauf hin, dass es weit weniger Wahrnehmungsdimensionen gibt, als die Anzahl der Geruchsrezeptoren vermuten lässt (Secundo et al., 2014). Die Untersuchungen zum ‚olfaktorischen weiß‘ geben sogar einen Hinweis darauf, dass es sich um weniger als 20 Dimensionalitäten handeln könnte (Weiss et al., 2012).

Im Bestreben den Geruch von Molekülen anhand ihrer Struktur vorherzusagen, wurde die Verbindung zwischen Rezeptor- und Wahrnehmungsdimensionen untersucht. Dafür mussten Duftstoffe mithilfe eines Wahrnehmungsspektrums und eines physikochemischen Spektrums bewertet und mögliche Beziehungen ermittelt werden. Zu diesem Zwecke wurden die komplexen Spektren auf primäre Bewertungsachsen vereinfacht. Für das Wahrnehmungsspektrum reduzierte man die Dimensionen der Geruchsempfindung auf die Hedonik (Khan et al., 2007), da sich die Qualität eines Duftstoffes hauptsächlich über die Unterteilung in angenehm und unangenehm definieren lässt (Schiffman, 1974; Godinot et al., 1995). Für das physikochemische Spektrum wurden Molekülmasse und –größe bewertet. Dabei stellte sich heraus, dass beide primären Achsen einander reflektieren. Demnach ist die Empfindung eines Stoffes anhand seiner physikochemischen Eigenschaften grob vorhersagbar (Khan et al., 2007).

Diesen Schluss lässt auch die genauere Untersuchung der komplexen Wirkungsweise der Rezeptorzellen zu. Moleküle einer chemischen Gruppe lösen bei den Geruchsrezeptoren stark korrelierende Antwortprofile aus (Sicard und Holley, 1984). Doch während die Intensität eines Stimulus das Aktivierungsprofil der Rezeptoren nicht beeinflusst, löst eine steigende Konzentration des Duftstoffes durchaus eine Veränderung aus. Durch die Rekrutierung gering affiner Rezeptoren verändert sich das Muster der Rezeptoraktivität (Sicard und Holley, 1984).

6.1.2. Einfluss der Quantität

Hypothese: Mixturen werden im Gegensatz zu Einzelmolekülen einfacher wahrgenommen und weisen eine bessere Reproduzierbarkeit der Riechschwelle auf.

Wie auch schon in vorangehenden Forschungsarbeiten, war in der vorliegenden Studie eine höhere Sensitivität sowie bessere Reproduzierbarkeit der Geruchsschwellen für Mixturen im Vergleich zu Einzelmolekülen erkennbar. Durch die molekulare Vielfalt verringert sich der Einfluss des individuellen Rezeptorangebotes und der spezifischen Sensitivität auf einzelne Moleküle. Es resultiert eine einheitlichere Geruchsschwelle und zuverlässigere Reproduzierbarkeit (Hsieh et al., 2017; Oleszkiewicz et al., 2017).

6. Diskussion

Dennoch stiegen die Wahrnehmbarkeit der Duftstoffe sowie die Reproduzierbarkeit der Schwellenwerte nicht proportional zur Anzahl der Moleküle an. Die besten Ergebnisse erzielten die 10-Komponenten-Mixturen.

Sensitivität Schon während der Untersuchung wurden die Mixturen A und B von vielen Probanden als unangenehm und stechend bewertet. Mischung C hingegen empfanden die meisten deutlich angenehmer. Die Molekülproben Citral und Anethol wurden im Allgemeinen nicht weiter kommentiert und somit weder als besonders angenehm noch unangenehm eingestuft. Diese rein subjektiven Ergebnisse deuteten bereits eine erste Tendenz für die Wahrnehmbarkeit der Duftgemische an.

Tatsächlich bestätigte sich für Mixturen im Vergleich zu Einzelmolekülen eine höhere Sensitivität. Dies widerspricht der Annahme, es könnte einen ‚hypoadditiven‘ Effekt geben, welcher in einer schlechteren Wahrnehmbarkeit für Mixturen resultiert hätte (Cain, 1975).

Durch das Vermischen von Duftmolekülen ergibt sich eine neue Geruchsschwelle. Diese errechnet sich nicht aus den Grenzwerten der am besten wahrzunehmenden Moleküle, sondern liegt meist unterhalb der Einzelschwellen (Laska und Hudson, 1991). Ebenso wie die Schwelle verändert sich auch der Geruch. In den neu entstehenden Düften von Mixturen lassen sich nur schwer alle vorhandenen Duftmoleküle identifizieren. Ähnlich wie bei der Vermengung mehrerer Farbkomponenten, scheinen einige Duftnoten unterdrückt zu werden, beziehungsweise verloren zu gehen (Laing und Francis, 1989). Einige Studien gehen sogar davon aus, dass Mixturen aus mehr als vier Molekülen einen komplett neuen Duft annehmen, welcher keinen Zusammenhang zu den Gerüchen der Einzelkomponenten aufweist (Dunkel et al., 2014). Ein gutes Beispiel findet sich in der Lebensmittelindustrie. Trotzdem der Mensch nur etwa 3% der flüchtigen Moleküle in Lebensmitteln wahrnehmen kann, ist es möglich jedes einzelne Nahrungsmittel anhand seines individuellen Duftes zu identifizieren (Dunkel et al., 2014).

Mit der Zunahme von Einzelmolekülen mit gleicher Intensität und gleichem Reizspektrum, nähern sich Gerüche von Mixturen einander an. Ab etwa 30 Molekülen spricht man von einem ‚Geruchs-weiß‘, bei dem Mixturen als gleich-riechend eingestuft werden, obgleich sie in keiner einzigen Komponente übereinstimmen (Weiss et al., 2012). Diese Erkenntnisse erklären, warum die 230 Schlüsselaromen in unseren Lebensmitteln überwiegend in Mixturen von 3 – 40 Komponenten auftreten (Dunkel et al., 2014). Mixturen mit einer großen Anzahl von Molekülen, wie im Falle von Mischung C, verlieren

6. Diskussion

also zunehmend an Individualität und Spezifik. Die Wahrnehmbarkeit solcher großen Duftgemische wird schwieriger. Diese Erkenntnis sollten in zukünftigen Studien berücksichtigt und überprüft werden, beispielsweise durch den Vergleich der Riechschwellen von Mixturen bis 30 und über 30 Molekülen.

Reproduzierbarkeit Bei der Reproduzierbarkeit ergaben sich die besten Werte ebenfalls für Mixtur B, eine 10-Komponenten-Mixtur. Sie unterschieden sich signifikant von denen aller anderen Testlösungen. Für die Korrelationskoeffizienten der Einzelmoleküle konnten bessere Werte ermittelt werden, als in vorherigen Studien (Oleszkiewicz et al., 2017). Jedoch wurde erneut nur eine geringe Korrelation nachgewiesen ($r < 0,5$). Bei den Untersuchungen mit Einzelmolekülen scheinen die individuellen Ergebnisse also maßgeblich vom Zufall beeinflusst zu werden. Die höhere Reliabilität der Geruchsschwelle von Duftgemischen im Vergleich zu denen einzelner Moleküle, begründet sich mit der Aktivierung einer größeren Anzahl von Rezeptoren. Hierdurch wird der Einfluss individueller Unterschiede in der Ausbildung von Geruchsrezeptoren verringert (Gilbert und Kemp, 1996; Keller et al., 2007; Verbeurgt et al., 2014).

Die Reliabilität der Ergebnisse von Mixtur C ist deutlich niedriger als die von Mixtur B. Daraus lässt sich schließen, dass die Reproduzierbarkeit nicht stetig zunimmt, sondern ab einer bestimmten Anzahl an Molekülen begrenzt wird. In anderen Studien stieg die Reliabilität der Messungen nicht im Verhältnis zur Anzahl der Moleküle im Gemisch aber mit der Anzahl der Testwiederholungen (Cain und Gent, 1991; Laska und Hudson, 1991). Die Ursache für diesen Effekt liegt vermutlich in der Lernfähigkeit der Probanden. Über mehrere Sitzungen gelingt es ihnen, sich stärker auf die Düfte zu fokussieren und Umgebungsreize besser auszublenden. Es ist davon auszugehen, dass kein Zusammenhang zwischen den kognitiven Fähigkeiten und den Schwellenmessungen besteht (Hedner et al., 2010).

6.1.3. Einfluss der Qualität

Hypothese: Die qualitative Zusammensetzung der Testlösungen hat keinen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse und die Sensitivität der Duftgemische.

Diese dritte Hypothese erwies sich als nicht zutreffend. Zwar ergaben sich die besten Sensitivitätswerte für die Zehn-Komponenten-Mixturen, jedoch unterschieden sich die Mixturen A und B untereinander signifikant. Gleiches galt für die Reliabilität, bei der lediglich der Korrelationskoeffizient von Mixtur B signifikant war. Die Zusammensetzung

6. Diskussion

der Mixturen ist bei zehn Komponenten also durchaus von Bedeutung. Um die Ursache dafür zu ermitteln, wurden die Duftgemische genauer untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass Mixtur B drei Komponenten besitzt, die auf Grund niedriger VP und clogP besonders gut wahrnehmbar sind. Darüber hinaus wurden die Komplexitätswerte und die molare Masse der Moleküle beider Mixturen, ermittelt. Dabei wurden deutliche Unterschiede erkennbar. Die Duftstoffe aus Mixtur B wiesen eine durchschnittliche Komplexität von 115,5 auf. Neun der zehn Moleküle besaßen Werte unter 150 und vier davon sogar unter 100. Währenddessen wiesen die Moleküle aus Mixtur A eine durchschnittliche Komplexität von 196,9 auf und lediglich zwei der zehn Moleküle besaßen eine Komplexität kleiner als 150. Dies ist möglicherweise die Ursache für die differierenden Ergebnisse.

Wie bereits erläutert, werden Mixturen besser und zuverlässiger wahrgenommen als Einzelmoleküle. Durch die individuellen Besonderheiten im Rezeptorangebot sowie die unterschiedlichen Eigenschaften der Moleküle, ergeben sich bei der Wahrnehmung von Einzelmolekülen größere Unterschiede verglichen mit Duftstoffmixturen. An den OBP werden einige Moleküle, auf Grund ihrer chemischen und strukturellen Voraussetzungen, einfacher und schneller gebunden als andere. Diese Unterschiede lassen sich in Mixturen ausgleichen, bleiben jedoch erhalten. Dass Mixtur B signifikant besser wahrgenommen wurde und eine höhere Reliabilität aufwies, könnte mit der besseren Bindung klein-komplexer Moleküle zusammenhängen. Nicht nur die Menge, auch die Art und Komplexität der Moleküle einer Mixtur hat also einen Einfluss auf die Geruchsempfindung. Diese Erkenntnisse helfen dabei, die ideale Zusammensetzung und die Größe von Duftgemischen für die zuverlässige Reproduktion von Schwellenwerten zu ermitteln. Sie sollten daher in zukünftigen Studien Anwendung finden und näher untersucht werden. Dazu empfehlen wir den Vergleich von Mixturen mit Molekülen gleicher Anzahl aber unterschiedlicher Komplexitäten.

6.2. Praktische Auswertung

Testverfahren Schwellentests sind für die Testpersonen äußerst schwierig und erfordern ein hohes Maß an Konzentration. Probanden die unter Zeitdruck standen oder angaben müde zu sein wiesen größere Schwankungen in ihren Antworten auf. Um keine Erschöpfung oder Verringerung der Konzentration durch die Testungen hervorzurufen, wurden Pausen von jeweils 15 Minuten festgelegt, welche zwischen den Testdurchgängen einzuhalten waren. Weiterhin musste ein Intervall von mindestens 24 Stunden zwischen zwei Sitzungen eingehalten werden.

In der Auswertung stellten wir keine, durch die Testmethode hervorgerufene, Ermüdungserscheinung fest. Daher kann angenommen werden, dass die festgelegten Pausen und Intervalle optimal für die Effektivität der Probanden waren.

Insgesamt empfanden die Testpersonen die Schwellentestung als schwierig. Besonders auffällig war die Diskrepanz zwischen der Selbsteinschätzung der Probanden und ihren Ergebnissen. Häufig hatten sie ein besseres Gefühl, bei deutlich schlechteren Ergebnissen, verglichen mit Testdurchgängen, in denen sie objektiv bessere Ergebnisse erzielten.

Material Es wurden 10ml Glasflaschen mit kleinen Öffnungen verwendet um Einflussfaktoren, welche die Variabilität der Messungen bekanntermaßen verstärken, zu minimieren (Doty et al., 1986). Weiterhin nutzten wir die Erkenntnisse aus früheren Studien, um das Verdünnungsverhältnis auf 1:2 und die Anzahl der Verdünnungsschritte auf 16 festzulegen (Lötsch et al., 2004; Croy et al., 2009). Die Schwellentestung wurden nach dem bewährten Dreifach-Wahl-Prinzip mit stufenweise aufsteigenden Konzentrationen durchgeführt (Lötsch et al., 2004). Die arbiträre Regel zum Einschluss der Wendepunkte für die Berechnung der Schwellenwerte erwies sich als günstig. Wie erhofft konnten Ausreißer dadurch eliminiert werden. Eine allgemeine Anwendung dieser Regel für künftige Studien kann befürwortet werden.

Durchführung Für die erfolgreiche Testung war es wichtig, dass die Probanden nach jeder Präsentation der drei Gläser (1x Duft, 2x Leerprobe) eine Antwortmöglichkeit auswählten (Glas 1, Glas 2 oder Glas 3). Die Testpersonen wurden über den Ablauf und die Notwendigkeit einer Antwort aufgeklärt. Wir vermittelten ihnen, dass teilweise auch eine intuitives Raten notwendig sei, da naturgemäß nicht alle Konzentrationen erkannt werden können. Trotz der Aufforderung intuitiv und schnell eine Antwort zu geben,

6. Diskussion

verunsicherte es die meisten Probanden stark, sobald sie keine eindeutige Entscheidung treffen konnten. Einige Probanden wollten in diesen Fällen keine Antwort geben oder erklärten zunächst ausführlich, dass sie nichts riechen können. Dadurch wurden die erwünschten unbewussten Antworten möglicherweise verfälscht. Festzustellen war, dass diese Unsicherheit in der zweiten Sitzung deutlich geringer wurde. Da die Probanden zum zweiten Termin wussten was sie erwartet, waren sie eher bereit ohne Diskussion die notwendigen Antworten zu geben. Es ist anzunehmen, dass dadurch häufiger unbewusst richtig geantwortet wurde und dies die Ergebnisse beeinflusst hat. Die Mittelwerte unterstützen diese Vermutung, da in der zweiten Sitzung in allen Kategorien (Einzelmolekül, Mixtur 10, Mixtur 100) bessere Ergebnisse erzielt wurden.

Probanden Da die vorliegende Studie ausschließlich mit gesunden Probanden durchgeführt wurde, limitieren sich die getroffenen Aussagen auf ebenjenes Kollektiv. Eine Untersuchung mit Patienten wäre für zukünftige Studien zu empfehlen, um die festgestellten Ergebnisse dahingehend überprüfen zu können.

7. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Ergebnisse neuester Studien zu bestätigen und eine zuverlässige Methode zur Bestimmung der Geruchsschwelle zu definieren. Dafür wurde der Einfluss der Komplexität der Einzelmoleküle, der Anzahl der Moleküle in Mixturen sowie der molekularen Zusammensetzung der Mischungen auf die Schwellenwerte und deren Reproduzierbarkeit, untersucht.

Dafür wurden 109 freiwillige, gesunde Probanden getestet, von denen 100 in die Auswertung eingeschlossen werden konnten. An zwei unterschiedlichen Terminen wurden die Geruchsschwellen der Probanden für jeweils ein Einzelmolekül, eine Mixtur aus 10 Molekülen und eine Mixtur aus 89 Molekülen, ermittelt.

Äquivalent zu den Ergebnissen früherer Studien, wies eine Mischung aus mehreren Molekülen im Vergleich zu Einzelmolekülen eine höhere Sensitivität sowie bessere Reproduzierbarkeit der Geruchsschwelle auf. Die Art und Anzahl der Moleküle hatte dabei einen entscheidenden Einfluss auf die Ergebnisse. In der vorliegenden Untersuchung, erreichten die Mixturen bestehend aus zehn Molekülen die besten Werte. Jedoch war die Reproduzierbarkeit nur bei einer der zwei Mischungen statistisch signifikant erhöht. Dies deutet darauf hin, dass die Verwendung von Duftgemischen zwar den Einfluss des individuellen Rezeptorangebotes verringert, die Komplexität der Moleküle aber auch in Duftgemischen noch einen Einfluss auf die Ergebnisse ausübt.

Im klinischen Alltag empfehlen wir die Verwendung von Duftgemischen. Besonders Mixtur B erzielte gute Ergebnisse und kann in der Schwellentestung Anwendung finden. Dennoch ist die Forschung zu diesem Thema noch nicht abgeschlossen. Für zukünftige Studien empfehlen wir, den Fokus auf die Anzahl der Moleküle in Mixturen zu legen. Dabei erscheinen Testungen mit Mischungen, bestehend aus 10-30 Molekülen, sinnvoll. Weiterhin sollten Untersuchungen zur Komplexität der Moleküle in den Mixturen durchgeführt werden. Hierbei empfiehlt sich ein Vergleich von Mixturen mit Molekülen geringer Komplexität, hoher Komplexität und unterschiedlicher Komplexität. Die Anzahl der Komponenten in den Duftgemischen sollte dabei gleich sein.

8. Summary

Results of the recent reports suggest that mixtures of odorants produce significantly more reliable and favorable results of olfactory threshold compared to single molecules. Within the current study we aimed to determine the optimal number of odor compounds and examine potential differences due to qualitative characteristics of the stimuli. One-hundred-nine individuals volunteered to participate in the study. During two sessions their olfactory threshold was measured with stimuli varying in the number of compounds. We found that stimuli consisting of various odors make olfactory threshold assessments relatively independent from an individual variability in sensitivity to specific odorants and produce olfactory thresholds with a higher reproducibility. This is nevertheless only true in certain conditions – depending on the number of components and quality of the odorants. Based on this we outline future directions for studies aimed to advance assessments of olfactory threshold by examining the relationships between chemical and physical properties of odorants and threshold assessment results they produce.

9. Anhang

9.1. Wertetabelle

ID	Einzelmolekül A= Anethol B= Citral	Mixtur 10 A= Mixtur A B= Mixtur B	EM (1)	10 (1)	100 (1)	EM (2)	10 (2)	100 (2)
Pb018	A	A	5,3	5,6	5,3	9	11	4,25
Pb019	A	B	6	8	7	7,5	8	6
Pb020	B	B	5,5	5,3	5,3	5,75	8	6
Pb021	B	B	8	6,75	6	9	7	8
Pb022	A	A	8,75	6,25	7	7,75	6,25	5,75
Pb023	A	B	8	6,75	7,5	6,75	7,75	6,5
Pb024	B	A	8	7,25	6,5	7	8	6,5
Pb025	A	B	6,75	7,5	5,5	7,75	8,5	6,5
Pb026	A	B	4,5	6,5	4,5	6,5	6,5	6
Pb027	A	A	8,25	6	6,5	7	7,5	6,75
Pb028	B	A	6	7,5	4,5	5,25	8	7,75
Pb029	A	A	6,5	6,75	8,25	7	7,25	8
Pb030	B	B	6,75	8	7,5	11,5	11	11,75
Pb031	B	A	6,75	5,5	6,75	5,5	8	6
Pb032	A	B	8,25	10,5	6,75	7,75	9,5	6,5
Pb033	B	A	5,5	9,5	6,5	6,75	7,5	6,25
Pb034	B	B	7,25	8	6,5	8	8,5	6,75
Pb037	A	A	8,75	6	6,5	7,5	8	7,5
Pb038	A	B	7,75	9	6,5	7,5	10,25	8,25
Pb039	A	A	7,75	6,25	7,25	10	6,6	5,5
Pb040	B	A	11,25	7	7	6,25	6,5	10,25
Pb041	B	B	5,25	7,75	6,5	4,5	8	5,3
Pb042	A	A	10	5,5	7,25	9	7	7,5
Pb043	B	A	7,75	7,5	7,25	6	7,5	7,5
Pb044	A	B	9,25	8,25	10	8,75	9,5	7
Pb045	A	A	6,75	5,5	6	8,75	7,25	7,25
Pb046	B	B	5,75	8	5,5	5,75	6,75	6,5
Pb047	A	B	7,75	7	7,25	6,5	6,5	7
Pb048	B	A	6	4,5	5,5	5,5	6,5	8,25
Pb049	B	A	5,75	6,5	7,5	5,75	6,25	7,5
Pb050	A	B	7,5	10	7,75	7	11,5	7,75
Pb051	A	B	4,5	6,5	7,5	5,5	6,5	6
Pb053	A	B	7,5	9	7,5	6,75	10,5	8
Pb054	B	A	6	3,75	7	5,75	4	7,5
Pb055	A	A	7,5	6,25	7,5	8	5,5	7
Pb056	B	B	5,5	6,75	8	7,5	7,75	8,75

9. Anhang

Pb057	B	A	6,5	7	7,75	9,5	6,75	7,5
Pb058	B	A	7,75	6,75	7	6,5	7,5	7,25
Pb059	B	A	5	7,75	6,25	4,75	9,5	5,75
Pb060	B	A	6	6,5	6	5,75	6,5	6,5
Pb062	B	A	6	9,25	5,5	6,25	7,25	7,25
Pb063	A	A	7,5	11	7,25	6,75	10,5	8
Pb064	A	A	6,25	7,5	6,5	7,25	7	6,25
Pb065	B	B	5,5	10,5	5,75	6	10,25	6
Pb066	B	B	6,5	7,5	6	4,75	6,25	4,5
Pb067	B	B	5,5	6,25	7,75	4,5	6,5	6,75
Pb068	B	B	6,5	9,75	7	8,25	10,75	6,5
Pb069	A	A	9	7,75	6,25	6,5	7,75	6,75
Pb070	A	B	5,75	5,5	5,5	7,5	5,5	6,75
Pb072	B	B	5,5	6,75	5	6,5	7	7,75
Pb073	A	A	6	8,5	6,75	6,5	6,5	7,75
Pb075	B	A	6,25	7,75	9,25	5,75	8	6,5
Pb076	A	A	5,75	5	4	5	6,25	5
Pb077	B	A	7	9,25	7,25	6,25	6,5	7
Pb078	B	A	5,75	9	6	5,75	6,75	6,75
Pb080	B	A	3,5	2,5	6,25	5,5	6,5	7
Pb082	B	A	7,25	7	7,25	6,5	7,5	7
Pb083	A	B	5,75	6,5	5	6,75	6,5	6,5
Pb084	B	A	5,5	7,5	6,75	5,75	8,75	6,75
Pb085	B	A	6,5	7,5	7,75	5,75	6,5	9
Pb086	B	A	7	7,25	7,75	5,5	9,25	10,5
Pb087	B	A	6,75	7,5	6,75	6,75	7,5	7,25
Pb088	A	B	6,5	7,5	6,75	7,75	7,75	7
Pb089	A	B	6	6,75	8	6,5	5,75	7,75
Pb090	B	A	5,5	5,75	6,5	7,5	7	6,5
Pb091	A	B	5,5	7,5	6,5	7,75	8,5	8
Pb092	B	A	5,25	6,5	7	5,75	7,5	7,75
Pb093	B	A	6,25	8,25	7,5	6,25	9,5	7,75
Pb094	A	B	7,75	6,75	8	6,75	6,5	8
Pb095	B	A	5,5	6,5	6,75	5,5	7,5	7
Pb096	B	B	4,25	6,25	4,75	4,75	6,5	5
Pb097	A	B	6,75	6,75	6,75	7	8,5	8
Pb099	A	B	7,25	8,75	6,5	6,25	7,25	6,25
Pb100	A	A	7,5	8	7,5	7	8	6,5
Pb101	A	A	6,75	8	6,75	7,75	7,5	6,75
Pb102	B	B	5,5	7,75	6,75	7	8,5	7
Pb103	A	B	8,5	9	7,25	7	8,25	7,25
Pb104	A	B	3,5	7,5	6,5	6,26	6,5	6,5
Pb105	A	B	6,5	7,25	7,25	7	7,5	7

9. Anhang

Pb106	A	B	5,5	8,5	7,25	8	7,5	6,5
Pb107	A	B	4,25	8	7,25	4,5	7	8,5
Pb108	A	B	7,75	8	7	7,5	8,75	7,5
Pb109	A	B	6,75	8,25	7,25	5,75	10,75	7,75
Pb110	A	B	8,5	7,75	7	6	7,5	7
Pb111	A	B	4,75	6,5	7,25	5,75	6,26	6
Pb112	A	B	6,75	6,25	6,75	7,75	8,25	7
Pb113	A	B	6,25	6,25	6,75	5,5	7,5	6,5
Pb115	A	A	5,75	8	6,25	5,67	6,25	5,25
Pb116	A	B	5,25	7	6,5	5,25	6,5	7
Pb117	A	B	5,5	5	6,5	6,5	8	5,75
Pb118	A	A	6,5	8,25	7,25	7,25	7,25	5,5
Pb119	B	A	6,5	7,5	6,75	7,5	7	6,25
Pb120	B	A	5,5	6,5	6,5	5,75	5,75	6,5
Pb121	B	A	5,75	6	6	6,25	5,5	6,5
Pb122	B	A	6	4,5	5,75	5,5	6,5	6,25
Pb123	B	A	6,5	5,5	6,5	7	8	7
Pb124	B	B	6	6,75	6,75	7,25	6,5	7,5
Pb125	B	B	6,5	7,5	6,5	7,5	8,5	7,75
Pb126	B	A	7,25	6,25	6,5	6,5	6,5	6
Pb127	B	B	5,5	5,5	5,5	5,75	7,5	6,5

Tabelle 9: Wertetabelle der Schwellenmessungen aller, in die Auswertung eingeschlossenen, Probanden. Darstellung von Probandenidentifikationsnummer (ID); Unterscheidung der verwendeten Duftproben bei Einzelmolekül [Anethol (A) oder Citral (B)] und Mixtur 10 [Mixtur A (A) oder Mixtur B (B)]; Schwellentestergebnis für die Testung mit Einzelmolekül (EM), Mixtur10 (10) und Mixtur 100 (100) in der ersten (1) und zweiten (2) Sitzung

10. Literaturverzeichnis

- Ache BW, Young JM. 2005. Olfaction: Diverse Species, Conserved Principles. *Neuron*, 48(3):417–430 DOI: 10.1016/j.neuron.2005.10.022.
- Albrecht J, Wiesmann M. 2006. Das olfaktorische System des Menschen: Anatomie und Physiologie. *Nervenarzt*, 77(8):931–939 DOI: 10.1007/s00115-006-2121-z.
- Amoore JE. 1967. Specific Anosmia: a Clue to the Olfactory Code. *Nature*, 214(5093):1095–1098 DOI: 10.1038/2141095a0.
- Arctander S. 1969. *Perfume and flavor chemicals:(aroma chemicals)*. Allured Publishing Corporation, Michigan (Perfume and flavor chemicals).
- Aumüller G. 2010. Nase und Nasennebenhöhlen. In: Bob A, Bob K (Hrsg) *Duale Reihe Anatomie*. Georg Thieme, Stuttgart (Duale Reihe), S. 942–948.
- Benninghoff A, Asan E. 2011. *Taschenbuch Anatomie*. 1. Aufl. Waschke J, Drenckhahn D (Hrsg) Urban & Fischer, Elsevier GmbH, München.
- Bischofberger J, Schmidt-Hieber C. 2006. Adulte Neurogenese im Hippokampus. *E-Neuroforum*, 12(3):212–221 DOI: 10.1515/nf-2006-0302.
- Böttcher T. 2016. An Additive Definition of Molecular Complexity. *J Chem Inf Model*, 56(3):462–470 DOI: 10.1021/acs.jcim.5b00723.
- Brämerson A, Johansson L, Ek L, Nordin S, Bende M. 2004. Prevalence of Olfactory Dysfunction: The Skövde Population-Based Study: The Laryngoscope, 114(4):733–737 DOI: 10.1097/00005537-200404000-00026.
- Brookmeyer R, Gray S, Kawas C. 1998. Projections of Alzheimer’s disease in the United States and the public health impact of delaying disease onset. *Am J Public Health*, 88(9):1337–1342 DOI: 10.2105/AJPH.88.9.1337.
- Buck L, Axel R. 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. *Cell*, 65(1):175–187 DOI: 10.1016/0092-8674(91)90418-X.
- Bushdid C, Magnasco MO, Vosshall LB, Keller A. 2014. Humans can Discriminate more than one Trillion Olfactory Stimuli. *Science*, 343(6177):1370–1372 DOI: 10.1126/science.1249168.
- Cain WS. 1975. Odor Intensity: Mixtures and Masking. *Chem Senses*, 1(3):339–352 DOI: 10.1093/chemse/1.3.339.
- Cain WS, Gent JF. 1991. Olfactory sensitivity: Reliability, generality, and association with aging. *J Exp Psychol Hum Percept Perform*, 17(2):382–391 DOI: <http://dx.doi.org/10.1037/0096-1523.17.2.382>.
- Cain WS, Goodspeed RB, Gent JF, Leonard G. 1988. Evaluation of Olfactory Dysfunction In The Connecticut Chemosensory Clinical Research Center. *The Laryngoscope*, 98(1):83–88 DOI: 10.1288/00005537-198801000-00017.

10. Literaturverzeichnis

- Catana I, Negoiaş S, Maniu A, Porojan M, Cosgarea M. 2014. A Modified Version of "Sniffin' Sticks" Odor Identification Test: The Romanian Cultural Adaptation. *Clujul Med*, 85(2):218–223.
- Croy I, Lange K, Krone F, Negoias S, Seo H-S, Hummel T. 2009. Comparison between odor thresholds for phenyl ethyl alcohol and butanol. *Chem Senses*, 34(6):523–527.
- Croy I, Olgun S, Mueller L, Schmidt A, Muench M, Gisselmann G, Hatt H, Hummel T. 2016. Spezifische Anosmie als Prinzip olfaktorischer Wahrnehmung. *HNO*, 64(5):292–295 DOI: 10.1007/s00106-016-0119-9.
- Croy I, Olgun S, Mueller L, Schmidt A, Muench M, Hummel C, Gisselmann G, Hatt H, Hummel T. 2015. Peripheral adaptive filtering in human olfaction? Three studies on prevalence and effects of olfactory training in specific anosmia in more than 1600 participants. *Cortex*, 73:180–187 DOI: 10.1016/j.cortex.2015.08.018.
- Croy I, Schulz M, Blumrich A, Hummel C, Gerber J, Hummel T. 2014. Human olfactory lateralization requires trigeminal activation. *NeuroImage*, 98:289–295 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2014.05.004.
- Curtis MA, Kam M, Nannmark U, Anderson MF, Axell MZ, Wikkelso C, Holtås S, Roon-Mom WMC van, Björk-Eriksson T, Nordborg C, Frisén J, Dragunow M, Faull RLM, Eriksson PS. 2007. Human Neuroblasts Migrate to the Olfactory Bulb via a Lateral Ventricular Extension. *Science*, 315(5816):1243–1249 DOI: 10.1126/science.1136281.
- Delank K-W. 1998. Subjektive und Objektive Methoden zur Beurteilung der Riechfunktion. *HNO*, 46(2):182–190 DOI: 10.1007/s001060050222.
- Delank K-W, Fechner G. 1996. Zur Pathophysiologie der posttraumatischen Riechstörung*. *Laryngo-Rhino-Otol*, 75(3):154–159 DOI: 10.1055/s-2007-997554.
- Doty RL. 2006. Olfactory dysfunction and its measurement in the clinic and workplace. *Int Arch Occup Environ Health*, 79(4):268–282 DOI: 10.1007/s00420-005-0055-6.
- Doty RL, Gregor TP, Settle RG. 1986. Influence of intertrial interval and sniff-bottle volume on phenyl ethyl alcohol odor detection thresholds. *Chem Senses*, 11(2):259–264.
- Doty RL, Marcus A, William Lee W. 1996. Development of the 12-Item Cross-Cultural Smell Identification Test(CC-SIT). *Laryngoscope*, 106(3):353–356 DOI: 10.1097/00005537-199603000-00021.
- Doty RL, Shaman P, Dann M. 1984. Development of the university of pennsylvania smell identification test: A standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiol Behav*, 32(3):489–502 DOI: 10.1016/0031-9384(84)90269-5.
- Draguhn A. 2014. Geschmack und Geruch. In: Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S (Hrsg) *Physiologie*. Georg Thieme, Stuttgart, S. 805–818.
- Dravnieks A, Masurat T, Lamm RA. 1984. Hedonics of Odors and Odor Descriptors. *J Air Pollut Control Assoc*, 34(7):752–755 DOI: 10.1080/00022470.1984.10465810.

10. Literaturverzeichnis

- Duchamp-Viret P, Duchamp A, Chaput MA. 2000. Peripheral Odor Coding in the Rat and Frog: Quality and Intensity Specification. *J Neurosci*, 20(6):2383–2390.
- Duchamp-Viret P, Duchamp A, Chaput MA. 2003. Single olfactory sensory neurons simultaneously integrate the components of an odour mixture. *Eur J Neurosci*, 18(10):2690–2696 DOI: 10.1111/j.1460-9568.2003.03001.x.
- Dunkel A, Steinhaus M, Kotthoff M, Nowak B, Krautwurst D, Schieberle P, Hofmann T. 2014. Nature's Chemical Signatures in Human Olfaction: A Foodborne Perspective for Future Biotechnology. *Angew Chem Int Ed*, 53(28):7124–7143 DOI: 10.1002/anie.201309508.
- Ehrenstein WH, Ehrenstein A. 1999. Psychophysical methods. In: Windhorst U, Johansson H (Hrsg) *Modern techniques in neuroscience research*. Springer, Berlin Heidelberg, S. 1211–1241.
- Engen T. 1988. The acquisition of odour hedonics. In: Van Toller S, Dodd GH (Hrsg) *Perfumery: The psychology and biology of fragrance*. Springer Netherlands, Dordrecht, S. 79–90 DOI: 10.1007/978-94-017-2558-3_4.
- Engen T. 1982. *The Perception of Odors*. Academic, New York.
- Förster G, Damm M, Gudziol H, Hummel T, Hüttenbrink K-B, Just T, Muttray A, Seeber H, Temmel A, Welge-Lüssen A. 2004. Riechstörungen. *HNO*, 52(8):679–684 DOI: 10.1007/s00106-004-1117-x.
- Gilbert AN, Kemp SE. 1996. Odor Perception Phenotypes: Multiple, Specific Hyperosmias to Musks. *Chem Senses*, 21(4):411–416 DOI: 10.1093/chemse/21.4.411.
- Godinot N, Sicard G, Dubois D. 1995. Categories, familiarity and unpleasantness of odours. *Odours VOC's J*, 1(3):202–208.
- Grebe TW, Stock J. 1998. Bacterial chemotaxis: the five sensors of a bacterium. *Curr Biol CB*, 8(5):R154-157.
- Grevers G. 2008. Nase, Nasennebenhöhlen und Gesicht. In: Probst R, Iro H, Grevers G (Hrsg) *Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde*. Georg Thieme, Stuttgart, S. 2–24.
- Haering C, Kanageswaran N, Bouvain P, Scholz P, Altmüller J, Becker C, Gisselmann G, Wäring-Bischof J, Hatt H. 2015. Ion transporter NKCC1, modulator of neurogenesis in murine olfactory neurons. *J Biol Chem*, 290(15):9767–9779 DOI: 10.1074/jbc.M115.640656.
- Hasin-Brumshtein Y, Lancet D, Olender T. 2009. Human olfaction: from genomic variation to phenotypic diversity. *Trends Genet*, 25(4):178–184 DOI: 10.1016/j.tig.2009.02.002.
- Hatt H. 2006. Geruch. In: Robert F. Schmidt, Hans-Georg Schaible (Hrsg) *Neuro-und Sinnesphysiologie*. Springer, Heidelberg, S. 340–351.

10. Literaturverzeichnis

- Hedner M, Larsson M, Arnold N, Zucco GM, Hummel T. 2010. Cognitive factors in odor detection, odor discrimination, and odor identification tasks. *J Clin Exp Neuropsychol*, 32(10):1062–1067 DOI: 10.1080/13803391003683070.
- Hemmerich W. 2015. ANOVA mit Messwiederholung in SPSS | StatistikGuru. Stat Version 196 [Aufruf am: 08.11.2017] URL: <https://statistikguru.de/spss/rm-anova/einleitung-3.html>.
- Herting B, Bietenbeck S, Scholz K, Hähner A, Hummel T, Reichmann H. 2008. Riechstörungen bei Morbus Parkinson. *Nervenarzt*, 79(2):175–184 DOI: 10.1007/s00115-007-2326-9.
- Holley A, Duchamp A, Revial M-F, Juge A, MacLeod P. 1974. Qualitative and Quantitative Discrimination in the Frog Olfactory Receptors: Analysis from Electrophysiological Data. *Ann N Y Acad Sci*, 237(1):102–114 DOI: 10.1111/j.1749-6632.1974.tb49847.x.
- Hsieh JW, Keller A, Wong M, Jiang R-S, Vosshall LB. 2017. SMELL-S and SMELL-R: Olfactory tests not influenced by odor-specific insensitivity or prior olfactory experience. *Proc Natl Acad Sci*, 114(43):11275–11284 DOI: 10.1073/pnas.1711415114.
- Hummel T, Nordin S. 2005. Olfactory disorders and their consequences for quality of life. *Acta Otolaryngol (Stockh)*, 125(2):116–121 DOI: 10.1080/00016480410022787.
- Hummel T, Pfetzing U, Lötsch J. 2010. A short olfactory test based on the identification of three odors. *J Neurol*, 257(8):1316–1321 DOI: 10.1007/s00415-010-5516-5.
- Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G. 1997. 'Sniffin' Sticks': Olfactory Performance Assessed by the Combined Testing of Odor Identification, Odor Discrimination and Olfactory Threshold. *Chem Senses*, 22(1):39–52 DOI: 10.1093/chemse/22.1.39.
- Hummel T, Welge-Lüssen A (Hrsg). 2009. Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie, therapeutische Ansätze. Georg Thieme, Stuttgart DOI: 10.1055/b-002-33686.
- Hüttenbrink KB. 1997. Riech- und Schmeckstörungen - Bewährtes und Neues zu Diagnostik und Therapie*. *Laryngo-Rhino-Otol*, 76(08):506–514 DOI: 10.1055/s-2007-997469.
- Keller A, Hempstead M, Gomez IA, Gilbert AN, Vosshall LB. 2012. An olfactory demography of a diverse metropolitan population. *BMC Neurosci*, 13:122 DOI: 10.1186/1471-2202-13-122.
- Keller A, Malaspina D. 2013. Hidden consequences of olfactory dysfunction: a patient report series. *BMC Ear Nose Throat Disord*, 13:8 DOI: 10.1186/1472-6815-13-8.
- Keller A, Vosshall LB. 2016. Olfactory perception of chemically diverse molecules. *BMC Neurosci*, 17:55 DOI: 10.1186/s12868-016-0287-2.

10. Literaturverzeichnis

- Keller A, Zhuang H, Chi Q, Vosshall LB, Matsunami H. 2007. Genetic variation in a human odorant receptor alters odour perception. *Nature*, 449(7161):468–472 DOI: 10.1038/nature06162.
- Kermen F, Chakirian A, Sezille C, Joussein P, Le Goff G, Ziessel A, Chastrette M, Mandairon N, Didier A, Rouby C, Bensafi M. 2011. Molecular complexity determines the number of olfactory notes and the pleasantness of smells. *Sci Rep*, 1:206 DOI: 10.1038/srep00206.
- Khan RM, Luk C-H, Flinker A, Aggarwal A, Lapid H, Haddad R, Sobel N. 2007. Predicting Odor Pleasantness from Odorant Structure: Pleasantness as a Reflection of the Physical World. *J Neurosci*, 27(37):10015–10023 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1158-07.2007.
- Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, Han L, He J, He S, Shoemaker BA, Wang J, Yu B, Zhang J, Bryant SH. 2016. PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic Acids Res* [Aufruf am: 14.02.2018] URL: <https://academic.oup.com/nar/article/44/D1/D1202/2503131>.
- Knecht M, Kühnau D, Hüttenbrink K-B, Witt M, Hummel T. 2001. Frequency and Localization of the Putative Vomeronasal Organ in Humans in Relation to Age and Gender. *The Laryngoscope*, 111(3):448–452 DOI: 10.1097/00005537-200103000-00013.
- Kobal G, Hummel T, Sekinger B, Barz S, Roscher S, Wolf S. 1996. „Sniffin“ sticks": screening of olfactory performance." *Rhinology*, 34(4):222–226.
- Konstantinidis I, Printza A, Genetzaki S, Mamali K, Kekes G, Constantinidis J. 2008. Cultural adaptation of an olfactory identification test: The Greek version of Sniffin' Sticks. , 46:292–296.
- Laing DG, Francis GW. 1989. The capacity of humans to identify odors in mixtures. *Physiol Behav*, 46(5):809–814 DOI: 10.1016/0031-9384(89)90041-3.
- Landis BN, Hummel T, Hugentobler M, Giger R, Lacroix JS. 2003. Ratings of Overall Olfactory Function. *Chem Senses*, 28(8):691–694 DOI: 10.1093/chemse/bjg061.
- Landis BN, Konnerth CG, Hummel T. 2004. A Study on the Frequency of Olfactory Dysfunction: A Study on the Frequency of Olfactory Dysfunction. *The Laryngoscope*, 114(10):1764–1769 DOI: 10.1097/00005537-200410000-00017.
- Lane AP, Gomez G, Dankulich T, Wang H, Bolger WE, Rawson NE. 2002. The Superior Turbinate as a Source of Functional Human Olfactory Receptor Neurons: The Laryngoscope, 112(7):1183–1189 DOI: 10.1097/00005537-200207000-00007.
- Laska M, Hudson R. 1991. A comparison of the detection thresholds of odour mixtures and their components. *Chem Senses*, 16(6):651–662 DOI: 10.1093/chemse/16.6.651.
- Lenarz T, Boenninghaus H-G. 2012. Sprach- und Stimmbildung. In: Lenarz T, Boenninghaus H-G (Hrsg) *Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde*. Springer, Berlin (Springer-Lehrbuch), S. 383–385 DOI: 10.1007/978-3-642-21131-7_25.

10. Literaturverzeichnis

- Leopold DA, Hummel T, Schwob JE, Hong SC, Knecht M, Kobal G. 2000. Anterior Distribution of Human Olfactory Epithelium: The Laryngoscope, 110(3):417–421 DOI: 10.1097/00005537-200003000-00016.
- Liu G, Zong G, Doty RL, Sun Q. 2016. Prevalence and risk factors of taste and smell impairment in a nationwide representative sample of the US population: a cross-sectional study. *BMJ Open*, 6(11):e013246 DOI: 10.1136/bmjopen-2016-013246.
- Lötsch J, Lange C, Hummel T. 2004. A simple and reliable method for clinical assessment of odor thresholds. *Chem Senses*, 29(4):311–317.
- Malnic B, Godfrey PA, Buck LB. 2004. The Human Olfactory Receptor Gene Family. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(8):2584–2589 DOI: 10.2307/3371334.
- Malnic B, Hirono J, Sato T, Buck LB. 1999. Combinatorial Receptor Codes for Odors. *Cell*, 96(5):713–723 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80581-4.
- Manzini I, Frasnelli J, Croy I. 2014. Wie wir riechen und was es für uns bedeutet: Grundlagen des Geruchssinns. *HNO*, 62(12):846–852 DOI: 10.1007/s00106-014-2925-2.
- Meister M. 2015. On the dimensionality of odor space. *eLife*, 4:e07865 DOI: 10.7554/eLife.07865.
- Merck KGaA. 2011. Citral MSDS - 802489 - Merck. Citral SDS [Aufruf am: 23.05.2018] URL: http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-DE-Site/de_DE/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA_CHEM-802489&Origin=PDP.
- National Center for Biotechnology Information. 2018a. cis-Anethole. PubChem Compd Database CID1549040 [Aufruf am: 19.11.2018] URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1549040>.
- National Center for Biotechnology Information. 2018b. Citral. PubChem Compd Database CID638011 [Aufruf am: 19.11.2018] URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/638011>.
- National Center for Biotechnology Information. 2018c. NERAL. PubChem Compd Database CID643779 [Aufruf am: 19.11.2018] URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/643779>.
- National Center for Biotechnology Information. 2018d. trans-Anethole. PubChem Compd Database CID637563 [Aufruf am: 19.11.2018] URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/637563>.
- Niimura Y, Nei M. 2005. Comparative evolutionary analysis of olfactory receptor gene clusters between humans and mice. *Gene*, 346:13–21 DOI: 10.1016/j.gene.2004.09.025.
- Oleszkiewicz A, Pellegrino R, Pusch K, Margot C, Hummel T. 2017. Chemical complexity of odors increases reliability of olfactory threshold testing. *Sci Rep*, 7:39977 DOI: 10.1038/srep39977.

10. Literaturverzeichnis

- Oleszkiewicz A, Taut M, Sorokowska A, Radwan A, Kamel R, Hummel T. 2016. Development of the Arabic version of the “Sniffin’ Sticks” odor identification test. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 273(5):1179–1184 DOI: 10.1007/s00405-015-3718-2.
- Rawson NE, LaMantia A-S. 2007. A speculative essay on retinoic acid regulation of neural stem cells in the developing and aging olfactory system. *Exp Gerontol*, 42(1):46–53 DOI: 10.1016/j.exger.2006.05.021.
- Rawson NE, LaMantia AS. 2006. Once and again: Retinoic acid signaling in the developing and regenerating olfactory pathway. *J Neurobiol*, 66(7):653–676 DOI: 10.1002/neu.20236.
- Riechstofflexikon © OMIKRON GmbH Naturwaren. 2013. Riechstofflexikon. Anethol [Aufruf am: 30.05.2018] URL: <http://www.chemikalienlexikon.de/aroinfo/1568-aro.htm>.
- Rohden AC. 1911. Anethol. In: *Die offizinellen ätherischen Öle und Balsame*. Springer, Berlin, S. 1–2 DOI: 10.1007/978-3-642-51414-2_1.
- Schiffman SS. 1974. Physicochemical Correlates of Olfactory Quality. *Science*, 185(4146):112–117.
- Schulze M, Wree A. 2016. Atemwegs-anatomie. *Notf Rettungsmedizin*, 19(7):601–616 DOI: 10.1007/s10049-016-0218-x.
- Secundo L, Snitz K, Sobel N. 2014. The perceptual logic of smell. *Curr Opin Neurobiol*, 25:107–115 DOI: 10.1016/j.conb.2013.12.010.
- Sicard G, Holley A. 1984. Receptor cell responses to odorants: Similarities and differences among odorants. *Brain Res*, 292(2):283–296 DOI: 10.1016/0006-8993(84)90764-9.
- Sindhusake D, Mitchell P, Smith W, Golding M, Newall P, Hartley D, Rubin G. 2001. Validation of self-reported hearing loss. The Blue Mountains Hearing Study. *Int J Epidemiol*, 30(6):1371–1378 DOI: 10.1093/ije/30.6.1371.
- Sinding C, Puschmann L, Hummel T. 2014. Is the Age-Related Loss in Olfactory Sensitivity Similar for Light and Heavy Molecules? *Chem Senses*, 39(5):383–390 DOI: 10.1093/chemse/bju004.
- Sinding C, Valadier F, Al-Hassani V, Feron G, Tromelin A, Kontaris I, Hummel T. 2017. New determinants of olfactory habituation. *Sci Rep*, 7:41047 DOI: 10.1038/srep41047.
- Sorokowska A, Albrecht E, Haehner A, Hummel T. 2015. Extended version of the “Sniffin’ Sticks” identification test: Test–retest reliability and validity. *J Neurosci Methods*, 243(C):111–114 DOI: 10.1016/j.jneumeth.2015.01.034.
- Sorokowska A, Hummel T. 2014. [Polish version of the Sniffin’ Sticks Test - adaptation and normalization]. *Otolaryngol Pol Pol Otolaryngol*, 68(6):308–314 DOI: 10.1016/j.otpol.2014.08.001.

- Tegoni M, Pelosi P, Vincent F, Spinelli S, Campanacci V, Grolli S, Ramoni R, Cambillau C. 2000. Mammalian odorant binding proteins. *Biochim Biophys Acta BBA - Protein Struct Mol Enzymol*, 1482(1):229–240 DOI: 10.1016/S0167-4838(00)00167-9.
- Temmel AFP, Quint C, Schickinger-Fischer B, Klimek L, Stoller E, Hummel T. 2002. Characteristics of Olfactory Disorders in Relation to Major Causes of Olfactory Loss. *Arch Otolaryngol Neck Surg*, 128(6):635 DOI: 10.1001/archotol.128.6.635.
- Vennemann MM, Hummel T, Berger K. 2008. The association between smoking and smell and taste impairment in the general population. *J Neurol*, 255(8):1121–1126 DOI: 10.1007/s00415-008-0807-9.
- Verbeurgt C, Wilkin F, Tarabichi M, Gregoire F, Dumont JE, Chatelain P. 2014. Profiling of Olfactory Receptor Gene Expression in Whole Human Olfactory Mucosa. *PLOS ONE*, 9(5):e96333 DOI: 10.1371/journal.pone.0096333.
- Volz A, Ehlers A, Younger R, Forbes S, Trowsdale J, Schnorr D, Beck S, Ziegler A. 2003. Complex Transcription and Splicing of Odorant Receptor Genes. *J Biol Chem*, 278(22):19691–19701 DOI: 10.1074/jbc.M212424200.
- Weiss T, Snitz K, Yablonka A, Khan RM, Gafsou D, Schneidman E, Sobel N. 2012. Perceptual convergence of multi-component mixtures in olfaction implies an olfactory white. *Proc Natl Acad Sci*, 109(49):19959–19964 DOI: 10.1073/pnas.1208110109.
- Welsch U, Deller T, Kummer W. 2014. *Lehrbuch Histologie*. 4. Auflage. Elsevier, Urban & Fischer, München.
- Wetzel CH, Brunert D, Hatt H. 2005. Cellular mechanisms of olfactory signal transduction. *Chem Senses*, 30 SUPPL.(Supplement 1):i321–i322 DOI: 10.1093/chemse/bjh244.
- Wetzel CH, Oles M, Wellerdieck C, Kuczkowiak M, Gisselmann G, Hatt H. 1999. Specificity and Sensitivity of a Human Olfactory Receptor Functionally Expressed in Human Embryonic Kidney 293 Cells and *Xenopus Laevis* Oocytes. *J Neurosci*, 19(17):7426–7433 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.19-17-07426.1999.
- Wilson RS, Arnold SE, Schneider JA, Boyle PA, Buchman AS, Bennett DA. 2009. Olfactory Impairment in Presymptomatic Alzheimer's Disease. *Ann N Y Acad Sci*, 1170(1):730–735 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04013.x.
- Zernecke R, Frank T, Haegler K, Albrecht J, Bruckmann H, Wiesmann M. 2011. Correlation analyses of detection thresholds of four different odorants. *Rhinology*, 49(3):331–336 DOI: 10.4193/Rhino10.263.