

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde der Universitätsklinik

Carl Gustav Carus Dresden

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

Dishabituatation des Riechsystems durch olfaktorisch-trigemurale Mischreize

DISSERTATIONSSCHRIFT

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Zahnheilkunde

Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus

der Technischen Universität Dresden

von

Ramona Solmas Theilen

aus Schloß Holte-Stukenbrock

Dresden 2020

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	iii
1 Einleitung.....	3
2 Anatomische und physiologische Grundlagen des Riechens	6
2.1 Anatomie und Funktion der Nase	6
2.2 Das olfaktorische System	7
2.3 Die zentrale Verarbeitung.....	8
2.4 Das trigeminale System	10
2.5 Habituation und Dishabituation des Riechsystems	13
2.5.1 Grundlagen und Theorien zur Habituation.....	13
2.5.2 Mechanismus der Habituation	13
2.5.3 Molekulare Vorgänge der Signaltransduktion bei der Habituation	14
2.6 Dishabituation des olfaktorischen Systems	15
2.7 Olfaktorisch ereigniskorrelierte Potentiale (OEP).....	16
2.8 Fragestellung und Hypothesen.....	18
3 Material und Methoden	20
3.1 Probandenkollektiv.....	20
3.2 Studienablauf	20
3.2.1 Voruntersuchungen.....	21
3.2.2 Olfaktorische Testung: „SNIFFIN` STICKS“-TEST	22
3.2.3 Atemtechnik (velopharyngeale Atmung).....	24
3.2.4 EEG-Ableitung	25
3.3 Versuchsdesign.....	27
3.3.1 Arbeitsplatz und der Olfaktometer	27
3.3.2 Verwendete Geruchsstoffe und Gase.....	27
3.3.3 Dishabituationsuntersuchung	29
3.4 Methoden der statistischen Auswertung.....	33
4 Ergebnisse.....	35
4.1 Ergebnisse der subjektive Intensitätsbewertungen und der OEPs für alle drei Klassen.....	35
4.1.1 Ergebnisse der OEPs und der Intensitätsbewertungen für die Klasse 1 mit dem Reiz DH = Orangenduft	36
4.1.2 Ergebnisse der OEPs und der Intensitätsbewertungen für die Klasse 2 mit dem kongruenten Reiz DH = Orangenduft und CO ₂	38

4.1.3	Ergebnisse der OEPs und der Intensitätsbewertungen für die Klasse 3 mit dem inkongruenten Reiz DH = Orangenduft und „Coolact P“	40
4.2	Bewertung der Reizqualität	44
4.3	Zusammenfassung der Ergebnisse	46
5	Diskussion	47
6	Zusammenfassung	53
7	Summary	55
8	Verzeichnisse	57
8.1	Literaturverzeichnis	57
8.2	Abbildungsverzeichnis	64
8.3	Tabellenverzeichnis	66
9	Anhang	Fehler! Textmarke nicht definiert.
9.1	Einwilligungserklärung des Probanden	Fehler! Textmarke nicht definiert.
9.2	Anamnesefragebogen	Fehler! Textmarke nicht definiert.
9.3	Händigkeitsuntersuchung	Fehler! Textmarke nicht definiert.
9.4	Fragebogen zur Dishabituationsuntersuchung ...	Fehler! Textmarke nicht definiert.
9.5	Fragebogen zur Wahrnehmung der Stoffe 1 und 2	Fehler! Textmarke nicht definiert.
10	Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.
11	Erklärung zur Eröffnung des Promotionsverfahrens	Fehler! Textmarke nicht definiert.
12	Erklärung über die Einhaltung der gesetzlichen Vorgaben im Rahmen der Dissertation	Fehler! Textmarke nicht definiert.
13	Publikationsverzeichnis	Fehler! Textmarke nicht definiert.
14	Danksagung	Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
Abb.´	Abbildung
ANOVA	multifaktorielle Varianzanalyse
BO	Bulbus olfactorius
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CP	Cortex piriformis
CSERP	hemosensorisch ereigniskorrelierte Potentiale
EEG	Elektroenzephalografie
H ₂ S	Schwefelwasserstoff
HCN-Kanäle	aus dem engl.: hyperpolarization activated and cyclic nucleotide gated
Hz	Hertz
ISI	Interstimulusintervall
mA	Milliampere
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MBO	Mitralzellen des Bulbus olfactorius
MGlulIII	präsynaptischer metabotroper Glutamatrezeptor
N.	Nervus
NMDA	N-methyl-D-Aspartat
OEP	olfaktorisch ereigniskorrelierte Potentiale
OFC	orbitofrontaler Cortex
ORN	olfaktorisches Rezeptorneuron
PEA	Phenylethylalkohol
VPN	Nucleus ventralis posteromedialis
z. B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Der Geruchssinn, auch das olfaktorische System genannt, gehört neben dem trigeminalen und dem gustatorischen System zu den „chemischen Sinnen“ des Menschen. Er wird von unterschiedlichen chemischen Substanzen aktiviert, welche als Geruch wahrgenommen werden. Das olfaktorische und das trigeminale System sind eng miteinander verknüpft und

wirken meist zusammen. Einige Gerüche wie z. B. „Ammoniak“ und „Menthol“ aktivieren sowohl den N. olfactorius als auch den N. trigeminus. Dabei werden die beißende und stechende Komponente von Ammoniak und der kühlende Effekt von Menthol über den N. trigeminus wahrgenommen (Doty et al., 1978). Es besteht eine Verknüpfung der beiden Systeme mit dem limbischen System, wodurch immer eine hedonische Bewertung der Geruchsempfindung erfolgt. Sowohl das olfaktorische als auch das trigeminale System dienen primär dazu, uns vor potentiell lebensbedrohlichen Gefahren wie z. B. Feuer oder verdorbenen Nahrungsmitteln zu warnen. Sie lösen deshalb bestimmte überlebenswichtige Reflexe wie Flucht oder Erbrechen aus.

Düfte bestehen in der Regel aus unterschiedlichen Duftstoffen. Diese werden von speziell konfigurierten Rezeptoren im Bereich der Nase gebunden und lösen eine Signalkaskade aus, die über mehrere Stationen bis ins Großhirn weitergeleitet wird.

Unser Gehirn habituiert schnell an gleichartige und aufeinander folgende Reize, da es daraus keine Konsequenz zu erwarten hat. Dieser Gewöhnungseffekt findet sowohl auf peripherer als auch auf zentraler Ebene statt (Thompson und Spencer, 1966). Diese Prozesse dienen dazu, unser Gehirn vor einer Reizüberflutung zu schützen (Dalton, 2000). Ein Beispiel aus unserem Alltag ist das Auftragen eines Parfüms. Der Duft ist zunächst sehr intensiv. Nach wenigen Minuten nehmen wir ihn jedoch kaum noch bewusst wahr, da sich unser Geruchssystem an diesen Duft (Reiz) gewöhnt hat.

Der Prozess der Habituation kann durch das Auftreten neuer – die Monotonie durchbrechender – Reize aufgehoben werden. Diese „Entwöhnung“ bezeichnet man als Dishabituation.

Die Standardwerke zum Thema Habituation und Dishabituation sind die im Jahre 1966 erschienenen Veröffentlichungen von Thompson und Spencer mit ihren neun Theorien. Ein weiteres Werk stammt von Groves und Thompson aus dem Jahre 1970. Sie beschrieben die Zwei-Prozess-Theorie der Habituation. Diese besagt, dass die Habituation aus dem Zusammenwirken der Sensibilisierung für die Reizaufnahme und des Habituationsprozesses, welcher die Reaktion dämpft, entsteht. Im August 2007 trafen sich die Autoren dieser Rezension, die sich mit der Gewöhnung in einer Vielzahl von Arten und Paradigmen befassten, noch einmal, um ihre Arbeit zu diskutieren und die Eigenschaften der Gewöhnung zu überdenken und zu verfeinern.

Es gibt nur wenige Studien zur Interaktion zwischen dem olfaktorischen und trigeminalen System bezüglich der Habituation und Dishabituation. Stuck et al. untersuchten die Dishabituation beim Menschen. Dabei wurde den Probanden der Duft, an den sie habituiert hatten, nach einer längeren Erholungsperiode noch einmal präsentiert. Dieser wurde dann als intensiver wahrgenommen, was den Beweis für die Dishabituation lieferte. Es stellte sich heraus, dass dieser Effekt unabhängig von dem verwendeten Geruchsstoff oder der

Konzentration war (Stuck et al., 2014). In einer Studie von Kobayashi et al. zeigte sich die Habituation durch die Abnahme der Intensitätsbewertungen des präsentierten Duftes und der Steigerung der Duft-Schwelle (Kobayashi et al., 2007). Die Stärke der Habituation hängt von unterschiedlichen Faktoren ab (Dalton, 2000). Jacob et al. zeigten, dass die Hedonik die Habituation beeinflusst. Das menschliche Geruchssystem ist gegenüber Veränderungen der Stimulation durch unangenehme Gerüche empfindlicher, da diese als Warnsignale dienen (Jacob, 2003; Kobayashi et al., 2007).

Ziel der Studie war es, herauszufinden, ob es nach einer Habituation, die durch wiederholte olfaktorische Reizung mit Orangenduft hervorgerufen wurde, anschließend durch die Co-Stimulation des trigeminalen und olfaktorischen Systems mit CO₂ und Orange oder mit „Coolact P“ (L-Isopulegol) und Orange zu einer Dishabituation kommt. Ein weiteres Ziel dieser Studie bestand darin, zu eruieren, inwiefern die Darbietung eines kongruenten oder inkongruenten Duftgemisches, welche sowohl den olfaktorischen als auch den trigeminalen Anteil reizen, die Dishabituation positiv oder negativ beeinflussen. Die zu untersuchenden Variablen in dieser Studie waren zum einen die subjektive Intensitätsbewertung jedes einzelnen Reizes durch den Probanden und zum anderen die Amplituden und Latenzen der olfaktorisch ereigniskorrelierten Potentiale (OEP).

Bevor dies intensiver besprochen wird, werden zunächst die anatomischen und physiologischen Grundlagen dargelegt.

2 Anatomische und physiologische Grundlagen des Riechens

2.1 Anatomie und Funktion der Nase

Die Nase ist der Schlüssel zur Welt der Düfte. Sie hat bei jedem Menschen ein individuelles Aussehen und ist ein wichtiges Erkennungsmerkmal. Sie setzt sich aus der äußeren und der inneren Nase zusammen. Der sichtbare Bereich, die äußere Nase, besteht aus einem knöchernen und einem knorpeligen Anteil. Die innere Nase wird durch die Nasenscheidewand (Septum nasi) in eine rechte und eine linke Nasenhöhle unterteilt.

Die knöcherne Nasenhöhle geht dorsal mit paarig angelegten, ovalen Öffnungen, den Choanen, in den oberen Rachenraum (Nasopharynx) über.

Aus der seitlichen Wand der Nasenhöhle ragen drei mit Schleimhaut ausgekleidete paarig angelegte Knochenspannen, die sogenannten Nasenmuscheln (Conchae nasalis), die der Oberflächenvergrößerung dienen und die Nase in drei Nasengänge (Meatus Nasi) unterteilen (Vaupel, Schaible und Mutschler, 2015).

In Abbildung 1 sieht man die knorpeligen und knöchernen Strukturen der rechten lateralen Wand der Nase und Nebenhöhlen.

Abbildung 1: Anatomie der knöchernen lateralen Wand der rechten Nasenhöhle nach Schünke et al., 2009

Die gesamte Nasenhöhle ist mit Schleimhaut ausgekleidet. Histologisch wird sie in drei Bereiche aufgeteilt: Regio cutanea, Regio respiratoria und Regio olfactoria. Im Folgenden soll lediglich auf die hier relevante Regio olfactoria eingegangen werden.

Der N. trigeminus (V. Hirnnerv) innerviert mit seinen Ästen die gesamte innere Nasenhöhle. Die Regio olfactoria ist für die Wahrnehmung von Gerüchen verantwortlich. Sie befindet sich im Recessus sphenoidal, also in der Riechspalte entlang der Schleimhautauskleidung des oberen Nasenganges und beträgt bei einem Erwachsenen etwa 500 mm² (Hummel und Welge-Lüssen, 2008 a). Sie wird aus einem hohen, mehrreihigen Epithel gebildet und beherbergt die Riehzellen, auch olfaktorische Rezeptorneurone genannt (ORN). Diese sind spezielle primäre Sinneszellen. Sie bestehen aus Chemorezeptoren, die Geruchsmoleküle binden und eine Kaskade von Reaktionen auslösen. Diese Antwort wird als elektrische Impulse über die Axone des N. olfactorius (Nn. Olfactorii), welche den I. Hirnnerv bilden, direkt in das Zentralnervensystem geleitet (Schünke et al., 2014). Die Hauptfunktion der menschlichen Nase ist die Wahrnehmung von Gerüchen. Ihr werden aber noch weitere Aufgaben zuteil. Neben der Schutzfunktion (siehe oben) sorgt sie dafür, dass die Atemluft

erwärmt und angefeuchtet wird. Im beweglichen Teil der Nase liegt der Nasenvorhof (Vestibulum nasi), der von einer äußeren Haut mit Talgdrüsen und Haaren (Vibrissae) ausgekleidet ist. Die Vibrissen sorgen dafür, dass größere Partikel in der Respirationsluft eingefangen werden. Das Nasensekret beinhaltet neben leukozytären Mediatoren auch Immunglobuline und bakterielle Enzyme wie Lysozyme und Laktoflavin, welche der Abwehrfunktion dienen (Lippert, 2003). Nicht zuletzt sorgt ein intakter Geruchssinn für eine gute Lebensqualität, welche wichtig für unsere psychische Gesundheit ist.

2.2 Das olfaktorische System

Um einen Duft bewusst wahrnehmen zu können, lösen die von uns eingeatmeten Duftmoleküle verschiedene Reaktionen in unterschiedlichen Bereichen der Nase und des zentralen Nervensystems aus. Die Duftmoleküle gelangen nach der Passage des Nasenvorhofes zu der sich in der Riechspalte der oberen Nasenmuschel befindlichen Riechschleimhaut (Regio olfactoria). Dort sitzen die bipolaren olfaktorischen Rezeptorneurone (ORN). Diese stellen das erste Neuron der Riechbahn dar und sind die einzigen sensorischen Neurone des menschlichen Körpers, die im direkten Kontakt mit der äußeren Umwelt stehen (= primäre Sinneszellen) (Weismann et al., 2001).

Die olfaktorischen Rezeptorneurone tragen Zilien, die aus der Epitheloberfläche in das von einem Schleim-Wasser-Film umgebenen Riechepithel ragen. Über diese Zilien werden die Duftmoleküle aufgenommen und binden an spezifische Rezeptorproteine. Durch diese Bindung wird schließlich eine Signaltransduktionskaskade ausgelöst.

Es gibt ca. 400 unterschiedliche Rezeptorproteintypen. Ein Duftstoff besitzt verschiedene Molekülanteile, die an verschiedene Rezeptoren binden können. Umgekehrt können unterschiedliche Duftstoffe einen bestimmten Rezeptortypen aktivieren (Hummel und Welge-Lüssen, 2008 a). Am basalen Pol besitzt jede Riechzelle ein Axon. Die gebündelten Axone von hunderten von Riechzellen ziehen als Fila olfactoria durch die Lamina cribrosa des Siebbeins in den Bulbus olfactorius.

Abbildung 2 zeigt die unterschiedlichen Ebenen der Duftwahrnehmung von der Nase über die Rezeptoren bis zum Bulbus olfactorius.

Abbildung 2: Darstellung der unterschiedlichen Ebenen der Duftwahrnehmung von der Nase über die Rezeptoren bis zum Bulbus olfactorius nach Buck, 2005

Da ein Axon nur elektrische Signale weiterleiten kann, muss der chemische Impuls, der durch die Bindung des Duftstoffes an den Rezeptor ausgelöst wird, in ein elektrisches Signal umgewandelt werden. Dabei wird nach der Interaktion zwischen dem Liganden (Duftstoff) und dem Rezeptor ein spezifisches, olfaktorisches G-Protein (olf), das nur dort vorkommt (Reed, 1992), aktiviert. Dieses wiederum hat eine Aktivierung der Adenylatzyklase III zur Folge. Letztere bildet als Second Messenger das zyklische Adenosinmonophosphat (c-AMP).

Das c-AMP öffnet darauf olfaktorische Kationenkanäle, die Natrium (Na^+) und Kalzium (Ca^{2+}) in die Zelle einströmen lassen. Durch das Kalzium wiederum öffnen sich kalziumaktivierte Chloridkanäle (Cl^-), wodurch Chloridionen aus der Zelle ausströmen. Dieser Ausstrom der Chloridionen bewirkt, dass das negative Membranpotential (-70 mV) positiver wird und es bei Erreichen eines Schwellenwertes von +30mV zu einem Aktionspotential (AP) kommt. Dieses Aktionspotential (AP) wird entlang des Axons der Riechzelle in den Bulbus olfactorius geleitet (Hummel und Welge-Lüssen, 2008a).

In Abbildung 3 ist der Ablauf der Signaltransduktion auf molekularer Ebene an der Zellmembran des N. olfactorius dargestellt.

Abbildung 3: Ablauf der Signaltransduktion in der Zellmembran der ORN-Zilien auf molekularer Ebene
aus www.repetico.de/card-66922881

1.Riechkolben,2.Siebbeinplatte, 3.Riechschleimhaut,4.Zellmembran, ATP = Adenosintriphosphat,
cAMP = zyklisches Adenosinmonophosphat, CNG-Kanal = cyclic nucleotide-gated channel,
 Ca^{2+} =Calcium, Na^+ =Natrium, Cl^- = Chlorid

2.3 Die zentrale Verarbeitung

Die Reizweiterleitung erfolgt über die marklosen Axone der Riechzellen, der sogenannten Filae olfactoriae. In ihrer Gesamtheit bilden sie den N. olfactorius (= 1. Hirnnerv).

Diese Filae olfactoriae ziehen durch die Lamina cribrosa des Os ethmoidale und treffen im Bulbus olfactorius auf das zweite Neuron der Riechbahn.

Die Riechfasern teilen sich in die Stria olfactoria lateralis, die zur Area praepiriformis (primäre Riechrinde) zieht und in die Stria olfactoria medialis auf, die zur Area septalis verläuft. Durch die Vernetzung der Geruchsbahn mit verschiedenen anderen Hirnabschnitten sind komplexe Interaktionen möglich. Die unterschiedlichen Regionen im Bulbus olfactorius werden durch verschiedene Duftstoffe aktiviert. Die marklosen Nervenfasern der Riechzellen bilden die Hauptafferenz des Bulbus olfactorius. Die Efferenzen erhält er aus verschiedenen kortikalen Kerngebieten.

Im Bulbus olfactorius befinden sich pyramidenförmige Zellen, die sogenannten Mitralzellen. Sie bilden das zweite Neuron der Riechbahn. Das Rezeptoraxon und die Dendriten der Mitralzellen verbinden sich in den sogenannten Glomeruli olfactorii zu synaptischen Schaltstellen. Die Axone der Sinneszellen mit dem gleichen Rezeptorprotein bilden nur mit wenigen Mitralzellen ein Glomerulus. Die einzelnen Glomeruli sind über Interneurone, den periglomulären Zellen, miteinander vernetzt und wirken durch eine laterale Hemmung auf die Synapsen ein. Dadurch werden die Mitralzellen in ihrer Aktivität gehemmt, was eine deutliche Reduktion der eingehenden Information der Riechrezeptoren zur Folge hat. Die Verschaltung in den Glomeruli stellt die erste und einzige Verschaltung zwischen den Riechzellen der Riechschleimhaut und dem Cortex cerebri dar. Im Bulbus olfactorius des Menschen befinden sich etwa 8.000 olfaktorische Glomeruli und 40.000 Mitralzellen (Meisami et al.,1998). Die Axone der Mitralzellen bilden in ihrer Gesamtheit den Tractus olfactorius lateralis. Dieser Tractus zieht durch den Sulcus olfactorius und sendet die schon bearbeiteten Geruchsinformationen als Efferenzen zum olfaktorischen Kortex. Die zentrale Verarbeitung der Informationen findet sowohl im primären als auch im sekundären olfaktorischen Kortex statt. Außerdem ist sie mit mehreren vegetativen Zentren verschaltet. Dies erklärt auch, dass üble Gerüche einen Brechreiz auslösen können und der Duft von frisch gekochtem Essen einem das Wasser im Munde zusammenlaufen lässt. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist, dass die Informationen über den Thalamus an frontobasale Neokortexareale weitergeleitet werden. Dieser stellt den sekundären olfaktorischen Kortex dar. Hier finden vor allem die Interpretation, Wahrnehmung und Integration von Düften statt (Gottfried, 2006).

2.4 Das trigeminale System

Das trigeminale System ist sehr eng mit dem olfaktorischen System verknüpft (Cain und Murphy, 1980; Hummel und Livermore, 2002) und kann sogar bei Anosmikern das olfaktorische System teilweise kompensieren, so dass sie ebenfalls Gerüche wahrnehmen können.

Der N. trigeminus ist der V. Hirnnerv und führt sowohl sensible als auch motorische Fasern. Dieser besteht aus den drei Hauptästen N. ophthalmicus, N. maxillaris und N. mandibularis. Der N. ophthalmicus (V1) innerviert die Augenpartie und den Nasenrücken ausschließlich sensibel. Der N. maxillaris innerviert die Oberkieferzähne sensibel (V2) und der N. mandibularis (V3), der auch die motorischen Anteile führt, die Unterkieferzähne sensibel, sowie die Kiefer-Gaumen- und Kaumuskulatur motorisch (Trepel, 1999). Für die trigeminale Wahrnehmung befinden sich in der Nasenschleimhaut im Nasenseptum, an der hinteren Siebbeinhöhle und an der Nasenspitze intraepithelial gelegene, freie Nervenendigungen, die als kleine Nervenäste zu den Nn. ethmoidales anteriores und posteriores verlaufen. Diese bilden in ihrer Gesamtheit den N. nasolacrimalis (Aumüller et al., 2010). Diese freien Nervenendigungen sind wesentlich an der Detektion von Gerüchen beteiligt, die als brennend, scharf oder stechend beschrieben werden. Einige Beispiele sind Ammoniak und Senf, die ein Stechen auslösen, der kühlende Effekt von Menthol beim Lutschen eines Pfefferminzbonbons oder das prickelnde Gefühl beim Trinken einer kalten Limonade. Letzteres wird durch das in der Limonade befindliche gasförmige CO₂ ausgelöst, wenn es auf die Schleimhäute der Nase oder der Augen aufgetragen wird (Cometto-Muniz et al., 1997). Stechende Empfindungen werden wahrscheinlich durch A-Delta-Fasern vermittelt, während brennende Empfindungen größtenteils durch C-Fasern ausgelöst werden (Mackenzie et al., 1975).

Die chemosensorischen Fasern und nozizeptiven Afferenzen aus der Nasenhöhle und dem Gesichtsbereich projizieren in den Nucleus spinalis nervi trigemini (Hummel und Livermore, 2002). Die meisten der aufsteigenden Fasern kreuzen zur kontralateralen Seite (Barnett et al., 1995). Die Informationen aus den sensorischen Trigemino-gebieten werden über den lateralen parabrachialen Komplex zur Amygdala geleitet (Bernard et al., 1998). Hier werden die ankommenden Impulse auf das dritte Neuron umgeschaltet und über den hinteren Schenkel der Capsula interna zum primären somatosensorischen Kortex projiziert (Hummel und Livermore, 2002). Im Ganglion trigeminale befinden sich die Zellkörper des N. trigeminus. Dort ist es möglich, die durch die Reizung des trigeminalen Systems mit einem Duftstoff ausgelösten elektrophysiologischen Signale abzuleiten. Fast alle Geruchsstoffe stimulieren auch die trigeminalen Endigungen in der Nase, bei einer ausreichend hohen Konzentration. Lediglich einige wenige Duftstoffe, wie Schwefelwasserstoff oder Vanillin, besitzen keine trigeminale Aktivität (Müller et al., 2015).

In Bezug auf die Rezeptormechanismen scheint gasförmiges CO₂ chemosensorische nozizeptive Afferenzen (C-Fasern, A-Delta-Fasern) durch die intrazelluläre Akkumulation von Protonen zu aktivieren (Komai und Bryant, 1993). Dies erhöht die Leitfähigkeit der Kationenmembrane (Bevan und Yeats, 1991) bei langsamer Desensibilisierung (Steen et al., 1992). Nach Inokuchi et al. scheint eine Koaktivierung zwischen dem olfaktorischen und trigeminalen System im Nucleus ventralis posteromedialis (VPM) des Thalamus stattzufinden (Inokuchi et al., 1993). Weiterhin scheint auch der ventrale orbitofrontale Kortex (OFC) an der kognitiven Verarbeitung von trigeminalen Reizen beteiligt zu sein (Kettenmann et al., 1996). In der Studie von Huttunen et al. wurde festgestellt, dass die trigeminale Stimulation eines Nasenloches immer eine bilaterale Aktivierung im sekundären Kortex bewirkt (Huttunen et al., 1986). Aufgrund der oben genannten Tatsachen lässt sich schlussfolgern, dass Co-Aktivierungen und Verbindungsbahnen in den verschiedenen Ebenen der neuronalen Verarbeitung von olfaktorischen und trigeminalen Reizen bestehen. Interessanterweise tragen beide Systeme dazu bei, dass wir riechen können, aber offenbar haben sie sich für unterschiedliche Zwecke entwickelt. Die Hauptfunktion des intranasalen trigeminalen Systems besteht darin, als Wächter der Atemwege zu fungieren, wo die Inspiration reflexartig angehalten wird, um das Einatmen potentiell lebensbedrohlicher Substanzen zu verhindern (Silver, 1991). Dieser Reflex ist so gut entwickelt, dass er zur Untersuchung intranasaler chemosensorischer Mechanismen verwendet wird (Gudziol, 1987; Hoshino, 1987; Kendall-Reed und Walker JC, 1996). Im Gegensatz dazu wird vermutet, dass das olfaktorische System als nonverbaler Abrufmechanismus für die Erinnerung an eine bestimmte Situation und die damit verbundene emotionale Reaktion fungieren kann (Kirk-Smith und Booth, 1987). Die Wechselwirkung zwischen dem olfaktorischen und dem trigeminalen System beeinflusst nicht nur die Qualität eines reinen Geruchsstoffes, sondern auch die Art der Wechselwirkungen zwischen Geruchsstoffen in Duftgemischen (Cain, 1976). Die Forschung auf diesem Gebiet wird durch die Tatsache erschwert, dass die meisten Gerüche bei ausreichend hoher Konzentration auch trigeminal vermittelte Empfindungen wie Kühlung und Schmerz hervorrufen (Cain, 1976; Elsberg, 1935). In einem Experiment von Cain (Cain, 1976), in dem die Probanden die Empfindung Schärfe und Geruch, welche durch Butanol ausgelöst wurde, bewerteten, nahm die Geruchskomponente mit Erhöhung der Konzentration ab, wohingegen die Reizstärke von Schärfe zunahm. In einem späteren Experiment wurde festgestellt, dass sich beide Systeme gegenseitig unterdrücken (Cain und Murphy, 1980). Die Teilnehmer erhielten jeweils vier Konzentrationen von CO₂ und Amylbutyrat (einem gemischten olfaktorischen und trigeminalen Stimulus). Sie mussten die Gesamtintensität, die Geruchsintensität und die Reizintensität bewerten. Man stellte fest, dass der Geruch von Amylbutyrat durch CO₂ und die Reizung durch niedrige Konzentrationen von Amylbutyrat unterdrückt wurde. Diese unterdrückende Wirkung trat unabhängig davon auf, ob die

Mischung in jedes Nasenloch gleichzeitig oder jeweils ein anderer Geruch appliziert wurde. Dies deutet darauf hin, dass die Unterdrückung zentral vermittelt wurde. Unter Verwendung gemischter Stimuli und einer ähnlichen Stimulationstechnik stellten Laing und Willcox fest, dass der Ort der Unterdrückung zentral oder peripher variiert und von der Qualität der Stimuli abhängt. Sie verwendeten ebenfalls Duftgemische und eine ähnliche Stimulationstechnik. Dabei kam heraus, dass bei der niedrigsten Konzentration das Geruchsgefühl überwog, wohingegen der N. trigeminus kaum aktiviert wurde. Die mittlere Konzentration führte zu einer Zunahme des Geruchs und auch des Brennens. Bei der höchsten Konzentration nahmen Stechen und Brennen signifikant zu, aber der Geruch tatsächlich ab. Dies deutet darauf hin, dass das Geruchsempfinden durch das trigeminale System bei der höchsten Konzentration unterdrückt wurde (Laing, 1987). Diese Ergebnisse spiegelten sich auch in der Verteilung der CSERPs wider, die bei der niedrigsten Konzentration ein „olfaktorisches“ Muster zeigten, während bei der höchsten Konzentration die Amplituden eine „Trigeminus“-Verteilung der Amplituden ergaben. Die Autoren vermuteten, dass dies eine überlegene Gedächtnisspur für den gemischten Stimulus widerspiegeln könnte, der in beiden Systemen codiert ist, mehr Wege zum Abrufen bietet und die Möglichkeit von Interferenzen verringert. Die Ergebnisse könnten aber auch auf die neuronale Unterdrückung verweisen, welche sowohl in der Peripherie als auch im Riechkolben auftreten. Daher ist die Wechselwirkung zwischen dem olfaktorischen und dem trigeminalen System nicht einfach vorherzusehen und hat einen starken Einfluss auf die Geruchswahrnehmung sowohl bei unterschiedlichen Konzentrationen eines einzelnen Stimulus als auch zwischen verschiedenen chemosensorischen Stimuli. Um diese zu erklären, wurden mindestens vier Mechanismen identifiziert, durch welche die Trigeminusaktivität die olfaktorische Verarbeitung beeinflussen kann (Silver, 1991). Zum einen interagieren die Systeme zentral. Beispielsweise erleichtert die Blockierung des trigeminalen Systems, die geruchsbedingte Aktivität im medio-dorsalen Thalamus der Ratte (Inokuchi et al., 1993). Zweitens kann das trigeminale System die Aktivität des Riechkolbens sowohl in Gegenwart als auch in Abwesenheit einer Geruchsstimulation modulieren. Die Blockierung des Nervs am Ganglion Gasserii mit Lidocain verringerte die Hintergrundaktivität im Riechkolben des Kaninchens und erhöhte das Signal-Rausch-Verhältnis der geruchsbedingten Reaktionen (Stone, 1969; Stone und Rebert, 1970). Drittens weisen Studien darauf hin, dass die olfaktorischen Rezeptorantworten auf chemische Reize durch die Freisetzung von Stoff P (SP) modifiziert werden können. Schließlich kann die Trigeminusaktivierung die Geruchswahrnehmung indirekt über nasale Trigeminusreflexe beeinflussen, um die potentiell schädliche Exposition gegenüber schädlichen Substanzen zu minimieren. Dies kann beispielsweise durch Veränderung der Konstitution und Konsistenz der das Epithel bedeckenden Schleimschicht infolge der Stimulation von Drüsen und Sekretionszellen geschehen, wodurch die Durchlässigkeit abnimmt (Finger et al., 1990).

2.5 Habituation und Dishabituation des Riechsystems

2.5.1 Grundlagen und Theorien zur Habituation

Bei der Habituation (lat. habituari an etwas gewohnt sein) handelt es sich um einen komplexen zentralnervösen Lernvorgang (beim Menschen in der Regel unbewusst) (Hummel und Welge-Lüssen, 2009). Die wiederholte Präsentation eines Duftstoffes über einen längeren Zeitraum auf die Riechschleimhaut führt zu einer Habituation und Absenkung der Wahrnehmung, die sich in einer nachlassenden Reizantwort widerspiegeln. Dies geschieht, wenn dieser Reiz keine Folgen oder Konsequenzen für uns hat (Schandry, 1998). Diesem Phänomen begegnen wir täglich und es findet entweder auf peripherer Ebene (Adaptation) oder auf zentraler Ebene (Habituation) statt. Ein gutes Beispiel für die Habituation aus unserem Alltag ist die Situation, dass man das am Morgen aufgetragene Parfüm im Laufe des Tages nicht mehr wahrnimmt. Meistens wird man von anderen Personen darauf aufmerksam gemacht, wie gut dieses riecht. Ferner ist die olfaktorische Habituation von der Konzentration des Duftes und der Zeit der Präsentation abhängig (Wilson, 2009). Die Adaptation, die auf peripherer Ebene in den Rezeptoren stattfindet, resultiert durch den Prozess der Ermüdung von sensorischen oder motorischen Neuronen (Rankin, Abrams und Barry, 2008). Beispielsweise geben die freien Nervenendigungen, die in der Haut oder in der Nase den Reiz aufnehmen mit der Zeit eine verminderte Antwort auf eine längere Reizexposition. Ferner ist die olfaktorische Adaption von der Reizintensität, der Umgebung und der Expositionsdauer abhängig (Wilson, 2009). Mücke und Lemmen (2010) wiesen nach, dass trigeminale Fasern eine deutlich längere Latenzzeit besaßen als die Nervenfasern des olfaktorischen Systems. Daher kommt es zu einer schwächer ausgeprägten Adaptation an Duftstoffen im trigeminalen System (Mücke und Lemmen, 2010).

2.5.2 Mechanismus der Habituation

In diesem Kapitel geht es ausschließlich um die Habituation des olfaktorischen Systems. Der Prozess der Habituation soll unser Gehirn vor einer Reizüberflutung schützen und die Sensitivität für wichtige Informationen, wie z. B. Rauch oder Gift, erhalten. Diese Habituation kann unterbrochen werden, indem man den Reiz für eine bestimmte Zeit meidet oder den vorherigen durch einen anderen stärkeren Reiz unterbricht. Solch eine Situation ist in vielen Parfümerien gegeben. Dort befinden sich überall Behälter mit Kaffeebohnen. Diese dienen dazu, nach einer Duftprobe den Geruchssinn zu neutralisieren, bzw. bewirkt der starke Duft der Kaffeebohnen eine Unterbrechung des vorherigen Reizes (die Duftprobe). Dieser Vorgang

wird Dishabituation genannt. Hält man nach Eintritt der Habituation den Reiz lange genug fern, nimmt die Reaktionsbereitschaft des Individuums in der Regel wieder zu.

Wilson und Linster teilten die Habituation in eine Kurz- und Langzeit-Habituation ein. Sie vermuteten, dass es bei Ersterer zu einer Depression der Mitralzell-Afferenzen zum Cortex piriformis kommt. Diese Depression wird durch die in den präsynaptischen metabotropen Glutamaterezeptor 3 (mGluR3) vermittelten Mechanismen hervorgerufen. Für die Langzeit-Habituation sind N-methyl-D-Aspartat (NMDA) abhängige Rezeptoren verantwortlich. Dies findet im Bulbus olfactorius statt (McNamara et al., 2008). Die Habituation kann entweder durch einige Minuten schneller und kurzer Reizung oder durch mehr als eine Stunde nach langer oder in längeren Abständen erfolgter Reizung ausgelöst werden (McNamara et al., 2008). Die Blockade der mGluR3-Rezeptoren reduziert die Habituation (McNamara et al., 2008).

2.5.3 Molekulare Vorgänge der Signaltransduktion bei der Habituation

Nachdem ein Duftmolekül an einen Rezeptor gebunden hat, kommt es G-Protein-vermittelt zur Bildung von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP).

Das cAMP bindet an die Kationenkanäle und vermittelt das Öffnen von unspezifischen Kationenkanälen. Dieser positive Kationeneinstrom in die Zelle bewirkt eine Depolarisation. Gleichzeitig werden Ca^{2+} -Kanäle in der Plasmamembran der Geruchszellen geöffnet. Das über den erwähnten Kanal einströmende Ca^{2+} bindet bei einer bestimmten Konzentration an das regulatorische Protein Calmodulin. Das dabei entstehende Calcium-Calmodulin-Komplex dockt anschließend an die HCN-Kanäle (engl. hyperpolarization activated and cyclic nucleotide-gated). HCN-Kanäle werden durch hyperpolarisierende Spannungen aktiviert und durch die Bindung zyklischer Nukleotide moduliert. Sie dienen als Schrittmacherkanäle und sind an der rhythmischen Erregung spezieller Herzzellen und Neurone beteiligt. Außerdem stabilisieren sie das neuronale Ruhemembranpotential bei der Ausbildung erregender postsynaptischer Potentiale sowie bei der Entstehung von Schmerzempfindungen (https://www.uniklinikum-jena.de/physiologie2/Forschungsthemen/HCN_Kanäle.html).

Dies führt dazu, dass diese gegenüber cAMP weniger empfindlich sind und sich wieder schließen. Dadurch wird die Aktionspotenzialfrequenz vermindert. Die Aktivität des Natrium-Calcium-Austauschers, welcher Calcium im Austausch mit Natrium aus der Zelle befördert, bestimmt die Dauer der Habituation (Hummel und Welge-Lüssen, 2009). Daraus lässt sich schließen, dass es bei Menschen, die dauerhaft oder wiederholt einem Duft ausgesetzt sind, zu einer Senkung der reizspezifischen olfaktorischen Sensitivität kommt. Bei Entfernung der Duftquelle jedoch steigt nach einer gewissen Zeit die Sensitivität wieder an. (Dalton, 2000).

2.6 Dishabituation des olfaktorischen Systems

Der Begriff Dishabituation auch Dehabituation oder Entwöhnung genannt, beschreibt die Unterbrechung der Habituation und die Zunahme der Reaktion auf den die Habituation ausgelösten Reizes, durch einen neuen nicht aversiven Fremdreiz, nachdem es zu einer Gewöhnung gekommen ist (Ranking et al., 2008). Dabei erhöht sich die Reaktionsamplitude des Fremdreizes auf das Niveau der letzten Reaktion. Unten sind einige wichtige Theorien von Ranking et al. zitiert.

„Innerhalb einer Stimulus Modalität zeigt die Reaktionsabnahme einige Stimulus Spezifitäten. Um die Stimulus Spezifität zu testen, wurde ein zweiter Stimulus präsentiert und ein Vergleich zwischen den Änderungen der Reaktion zum habituierten Stimulus und zum neuen Stimulus gemacht. In vielen Modellen wurde dieser Test unpassend als Dishabituation-Test bezeichnet und hätte eher als Stimulus-Generalisierungs-Test, seinem eigentlichen Inhalt entsprechend, bezeichnet werden sollen“ (Spencer und Thompson, 1966; Rankin, Abrams und Barry, 2008).

„Bei der Präsentation eines andersartigen meist stärkeren Stimulus kommt es zu einer Zunahme der abnehmenden Reaktion zum originalen Stimulus. Dies wird als Dishabituation bezeichnet. Dabei ist zu beachten, dass der richtige Test für die Dishabituation ein Reaktionsanstieg der Antwort zum originalen Stimulus und nicht einen Reaktionsanstieg zum dishabituerten Stimulus bezeichnet. Allerdings muss der Dishabituation-Stimulus diese Reaktion nicht allein auslösen (Dishabituation)“ (Spencer und Thompson 1966; Rankin, Abrams und Barry, 2008).

„Wird der dishabituerte Reiz wiederholt präsentiert, kommt es erneut zu einem Reaktionsabfall (Habituation der Dishabituation)“ (Spencer und Thompson 1966; Rankin, Abrams und Barry, 2008)“

Für Thompson und Spencer ist die Dishabituation ein eigenes Phänomen und nicht die Unterbrechung der Habituation (Spencer und Thompson 1966). Sie nannten diesen Prozess die Sensibilisierung. Somit entwickeln sich Habituation und Sensibilisierung getrennt voneinander und verlaufen unabhängig. Beide Mechanismen haben aber einen Einfluss auf die Reaktion. Dieses Phänomen scheint so allgegenwärtig zu sein wie die Gewöhnung selbst und wird häufig verwendet, um nachzuweisen, dass eine Gewöhnung stattgefunden hat. Humphrey (1933) untersuchte die Dishabituation bei niederen Wirbeltieren. Der zur Dishabituation führende Reiz muss nicht immer stark sein. Sokolov und Voronin (1960)

berichtet, dass eine Abnahme der Intensität eines Hörreizes zu einer Dishabituation der gewohnten Orientierungsreaktion beim Menschen führt. Dishabituation, die als Neutralisierung des Gewöhnungsprozesses angesehen wird (Humphrey, 1933), war vielleicht die wichtigste Methode zur Unterscheidung zwischen Gewöhnung und „Müdigkeit“. Während der Gewöhnung tritt der Effekt der Verstärkung ein. Dieser beschreibt, dass es bei mehreren aufeinander folgenden Gewöhnungsphasen mit Stimulus und Entwöhnungsphasen ohne Stimulus die Zeit der Phasen der Gewöhnung bzw. der Entwöhnung kürzer wird.

Weiterhin wurde gezeigt, dass je schwächer die Intensität eines Stimulus ist, desto schneller und ausgeprägter eine Gewöhnung beobachtet werden kann. Dahingehend wird bei sehr starken Reizen häufig nur eine geringe bis keine Gewöhnung festgestellt. Ferner ist aber bei der Habituation zu sehen, dass bei gleichbleibender Art und Weise der Reizung die zu beobachtende Abnahme in der Antwort nicht immer gleich, sondern vom Stimulus abhängig ist (Rankin, Abrams und Barry, 2008).

Bei der Unterbrechung der Reizdarbietung, nähert sich die Antwort auf den Reiz nach einer Phase der Entwöhnung mit der Zeit wieder dem Ausgangsniveau an (Thompson und Spencer, 1966).

2.7 Olfaktorisch ereigniskorrelierte Potentiale (OEP)

Immer häufiger wird bei Verdacht auf Anosmien mit Hilfe eines EEG die kortikale elektrische Aktivität auf die Stimulation mit unterschiedlichen Duftstoffen gemessen. Bei der Aktivierung bauen kortikale Neurone ein elektromagnetisches Feld auf, das mittels EEG aufgezeichnet werden kann (Evans et al., 1993). Diese Ableitungen werden als olfaktorisch ereigniskorrelierte Potentiale (OEP), engl. eventrelated Potential (ERP), bezeichnet. Sie sind eine objektivierende Methode zur Untersuchung des Geruchssinns. Das erste OEP am wachen Menschen wurde 1965 von Finkenzeller aufgenommen (Finkenzeller, 1966). Die OEPs werden meist mit einem reinen, den Olfactorius stimulierenden Reizstoff, z. B. Schwefelwasserstoff (H₂S), Phenylethylalkohol (PEA) oder Vanillin, abgeleitet. Diese haben eine sehr geringe bzw. gar keine trigeminale Reizkomponente (Hummel et al., 2000). Neben dem OEP gibt es noch eine besondere Form, die chemosensorisch ereigniskorrelierten Potentiale (CSERPs). Diese werden durch chemische Reize ausgelöst und können mittels EEG von der Kopfhaut abgeleitet werden (Kobal und Hummel, 1988). Die CSERPs bieten die Möglichkeit, eine bestimmte Antwort auf einen bestimmten Reiz zu bekommen, der sowohl olfaktorische als auch trigeminale Eigenschaften hat (Kobal und Hummel, 1988). Zum Beispiel werden bei einer Reizung mit Menthol neben dem N. olfactorius zusätzlich Fasern des N. trigeminus stimuliert (Kobal und Hummel, 1988). Um ein gutes Signal darstellen zu können,

ist es wichtig, viele Neurone zu aktivieren bzw. zu synchronisieren (Hummel und Kobal, 1988). Daher müssen einige Voraussetzungen erfüllt werden. Beispielsweise sollte der Proband wenig blinzeln, da sich bei Augenschluss EEG-Veränderungen ergeben. Es sollte ein schneller Stimulusanstieg (ca. 20 ms) stattfinden, die Probanden sollten ein die Vigilanz stabilisierendes, einfaches Computerspiel spielen. Olfaktorisch ereigniskorrelierte Potentiale weisen eine typische Form auf (Berger, 1929) und werden nach einer festgelegten Nomenklatur bezeichnet (Abbildung 4). Nach internationalen Richtlinien werden Potentialgipfel mit negativer Polarität nach oben und Potentialgipfel mit positiver Polarität nach unten dargestellt (Buchner, 2014). Positive Signalgipfel werden mit einem „P“ bezeichnet, negative Signalgipfel mit einem „N“ (Hummel et al., 2000). Die Gipfel werden nach dem zeitlichen Auftreten im Signal durchnummeriert (siehe Abbildung 4). Der erste negative Gipfel wird folglich als N1 (Negativität 1) bezeichnet und tritt typischerweise nach etwa 200 bis 700 ms auf. Diesem folgt ein später positiver Komplex (engl. „late positivity“, LP) nach etwa 300 bis 800 ms (Hummel et al., 2000). Einige Studien unterteilen den späten positiven Komplex in eine Signalkomponente P2 und eine Signalkomponente P3 (Pause und Krauel, 1998). Beide lassen sich in exogene und endogene Komponenten unterteilen (Picton, 1988; Pause et al., 1996b). Dabei wird dem Signalanteil N1 eine exogene Komponente zugeschrieben. Das bedeutet, dass sich v. a. die Amplitude dieses Signalanteils durch äußere Einflüsse, wie z. B. die Intensität oder Reizlänge des Stimulus, verändern lässt. P2 als Teil des „Late Positivity“ spiegelt die endogene Reizverarbeitung wider und wird dabei durch die Vertrautheit, Verfassung des Probanden und Motivation beeinflusst (Pause et al., 1996b). Die Aufnahme von OEPs erfolgt standardisiert nach dem 10/20-System (siehe oben) und sollte mindestens über drei Oberflächenelektroden wie Cz, Fz und Pz gegen die Referenzelektroden A1/2 an den Ohrläppchen abgeleitet werden (Hummel et al., 2000).

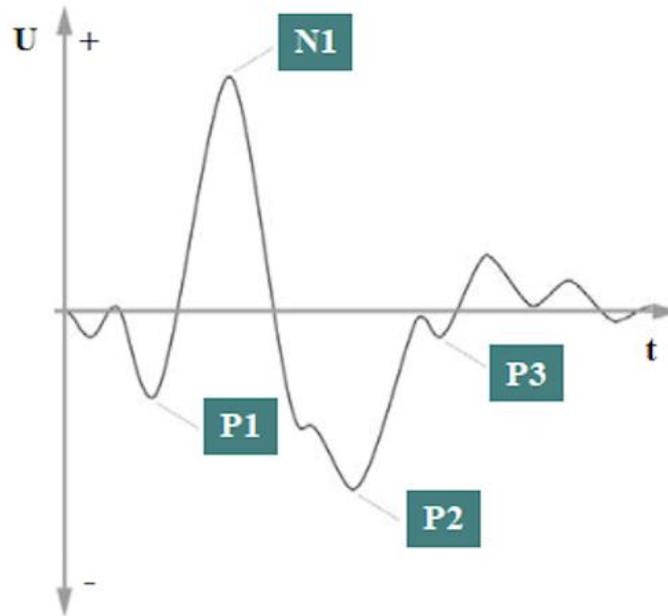


Abbildung 4: Schematische Darstellung eines OEP modifiziert nach Stefanie Weise, 2017

Darstellung eines typischen olfaktorisch ereigniskorrelierten Potentials. Zu Beginn kommt es zu einem kleinen positiven Ausschlag P1. Danach folgt ein großer negativer Ausschlag N1. Dieser tritt meistens zwischen 320 bis 450 ms nach dem Reiz auf (Rombaix et al., 2006). Anschließend folgt mit P2 ein weiterer positiver Ausschlag. Dieser ist nach 530 bis 800 ms zu beobachten (Rombaix et al., 2006). Das OEP endet häufig mit einem dritten positiven P3-Ausschlag. P2 und P3 bilden oftmals einen Komplex.

2.8 Fragestellung und Hypothesen

Die wiederholte Präsentation eines Duftstoffes über einen längeren Zeitraum auf die Riechschleimhaut führt zu einer Habituation und Absenkung der Wahrnehmung, die sich in einer nachlassenden Reizantwort zeigt. Dies geschieht, wenn der Reiz keine Folgen oder Konsequenzen für den Menschen hat (Schandry, 1998).

Ziel dieser Studie war es, herauszufinden, ob es durch eine zusätzliche Reizung des trigeminalen Systems mit CO₂ oder „Coolact P“ zu einer Dishabituation kommt, nachdem ein Gewöhnungseffekt durch wiederholte Reizung des olfaktorischen Systems mit Orange hervorgerufen wurde.

Eine weitere Intention war es, zu untersuchen, ob die Darbietung eines Duftgemisches, das sowohl das olfaktorische als auch das trigeminale System reizt, die Dishabituation positiv oder negativ beeinflusst, wenn den Probanden dieser Reiz schon aus dem Alltag bekannt ist. Dazu wurden einerseits die direkten Intensitätsbewertungen nach jedem Reiz durch den Probanden

und andererseits die olfaktorisch ereigniskorrelierten Potentiale aus dem EEG herangezogen. Unsere Studie basierte auf der Annahme, dass die wiederholte Reizung mit Orange zu einer Habituation führt. Wir stützten uns auf die oben genannten Untersuchungen und nahmen an, dass es durch die zusätzliche Reizung des trigeminalen Systems zu einer Dishabituation kommt, da dieses System Empfindungen wie Stechen, Kribbeln und Brennen auslöst. Diese Empfindungen dienen als Warnsignal und erhöhen dementsprechend die Aufmerksamkeit, was dann in der Steigerung der Reizantwort zu sehen ist.

3 Material und Methoden

Die vorliegende Studie „Dishabituation des Riechsystems durch olfaktorisch-trigeminale Mischreize“ wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus, Dresden (EK-Nr. 408122012), genehmigt und gemäß der Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki: „Ethische Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen“ durchgeführt. Alle Probanden hatten sich freiwillig für diese Studie zur Verfügung gestellt. Sie wurden im Vorfeld ausführlich in einem Gespräch mit Hilfe von Informationsmaterialien über die Ziele und den gesamten Ablauf sowie den Teilnehmer- und Datenschutzbedingungen der Studie aufgeklärt. Die Einwilligung für die Teilnahme und das Einverständnis erfolgte schriftlich. Sie wurden ebenfalls darüber informiert, dass sie die einmal gegebene Einwilligung jederzeit, auch ohne Angabe von Gründen, widerrufen können.

3.1 Probandenkollektiv

An der Studie nahmen insgesamt 25 gesunde und normosmische Probanden teil. Dieses Probandenkollektiv setzte sich aus 11 Männern und 14 Frauen im Alter zwischen 21 und 35 Jahren zusammen. Das durchschnittliche Alter betrug dabei 27 Jahre. Die Altersgruppe zwischen 18 und 35 Jahren wurde für diese Studie ausgewählt, da Personen in diesem Alter eine normale olfaktorische Funktion besitzen, wohingegen viele Menschen mit steigendem Alter an krankheitsbedingter Anosmie leiden (Hummel et al., 2007).

Die Ergebnisse von zwei weiblichen Probandinnen konnten nicht in die Auswertung der Studie einbezogen werden, da ihnen die dargebotenen Duftstoffe und die trigeminale Reizung durch das CO₂ zu stark waren. Dadurch kam es aufgrund des ständigen Augenzwinkerns zu massiven Störungen im EEG.

Die folgenden Personengruppen wurden von vornherein von der Studie ausgeschlossen: Personen unter 18 Jahren; Schwangere; Personen mit gesundheitlichen Problemen, die das Riechvermögen stören können; Personen mit akuten oder chronischen Entzündungen der Nase oder Nasennebenhöhlen; Personen mit relevanten Erkrankungen im HNO-Bereich und Raucher. Alle Probanden wurden für die Teilnahme angemessen vergütet.

3.2 Studienablauf

Aufgrund der hohen Komplexität des gesamten Versuches und aus zeitlichen Gründen wurden die Voruntersuchung und der eigentliche Versuch an zwei aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Die Voruntersuchung dauerte mit Aufklärung ca. eine Stunde. Nach der

Aufklärung wurden die Probanden gebeten einige Fragebögen über ihren Gesundheitszustand und ihre Händigkeit auszufüllen. Diese sollten zusammen mit einem Riechtest zur Abklärung der Studientauglichkeit dienen. Im Anschluss wurde mit ihnen das für den Versuch wichtige velopharyngeale Atmen geübt.

Im zweiten Teil der Vorbereitungsphase, der ca. 45 min dauerte, wurden die Probanden mit der Untersuchungsumgebung und ihren Aufgaben während des Versuchs vertraut gemacht. Darauf folgte ein Probedurchlauf am Olfaktometer, damit der Versuch am folgenden Tag ohne Probleme stattfinden konnte.

In Abbildung 5 ist der chronologische Ablauf des gesamten Versuchs dargestellt.



Abbildung 5: Chronologische Darstellung des Versuchsablaufes.

Aufteilung der unterschiedlichen Versuchsphasen auf zwei aufeinander folgende Tage. Am ersten Tag fanden die Aufklärung, die Anamnese/das Riechscreening und ein Probedurchlauf am Olfaktometer statt. Am zweiten Tag wurde der Versuch komplett durchgeführt.

3.2.1 Voruntersuchungen

Zunächst füllte jeder Proband einen Anamnesebogen aus, in dem Fragen zur allgemeinen Gesundheit (Allergien, Vorerkrankung in der Familie etc.) gestellt wurden (siehe Anhang). Außerdem wurde mit Hilfe eines Händigkeitsfragebogens namens „Edinburgh Handedness Inventory“ von Oldfield (1971) die Händigkeit der Probanden bei unterschiedlichen Tätigkeiten festgestellt. Insgesamt beinhaltete dieser Fragebogen zehn Fragen wie z. B. „Mit welcher Hand malen Sie?“ oder „Mit welcher Hand schneiden Sie ein Blatt Papier?“. Zu den einzelnen Fragen gab es fünf identische Antwortmöglichkeiten wie „stets die linke“, „meistens die linke“,

„manchmal die linke oder die rechte“, „meistens die rechte“ und „stets die rechte“. Jede Antwortmöglichkeit hatte einen bestimmten Punktwert, der am Ende einen Gesamtwert ergab. In den Studien von Hummel et al. wurde gezeigt, dass die Händigkeit Einfluss auf die Lateralisation bei der Diskrimination von Düften hat (Hummel et al., 1998). Um diesen Einfluss in der Studie auszuschließen, durften nur Probanden teilnehmen, die Rechtshänder sind. Im Anschluss des Vorgesprächs und der Auswertung des Anamnesebogens wurde mit den Probanden die olfaktorische Testung durchgeführt, die dazu diente, die Probanden auf die Tauglichkeit für diesen Versuch zu testen.

3.2.2 Olfaktorische Testung: „SNIFFIN` STICKS“-TEST

Die olfaktorische Testbatterie „Sniffin` Sticks“ umfasst neben einem Screening-Test die Schwellenbestimmung für Phenylethylalkohol, einen Diskriminationstest und einen Identifikationstest und dient heute als Instrument zur Überprüfung des Geruchsvermögens im klinischen Alltag (Schnieper und Wolfensberger, 1999). Für unsere Studie führten wir nur den Riechscreeningtest durch, da es hierbei ausreichte, zu wissen, dass der Proband riechen kann. Die Evaluierung des Riechvermögens wurde mit den 16 „Sniffin` Sticks“ der Firma Burghart, Wedel, Deutschland durchgeführt (Hummel et al., 1997). Dieser Riechscreeningtest diente dazu, Probanden mit Riechstörungen, z. B. infolge von Allergien oder Schnupfen, zu erkennen. Für unseren Versuch benötigten wir Probanden mit einem normalen Riechvermögen. Die 16 Riechstifte (siehe Abbildung 6) erinnern an herkömmliche Filzstifte. Sie sind in überschweelliger Konzentration mit künstlich hergestellten Alltagsgerüchen wie z. B. Anis, Knoblauch oder Schuhleder befüllt. Zur visuellen Abschirmung wurde dem Probanden eine Augenmaske aufgesetzt. Für die Untersuchung wurde die Verschlusskappe für kurze Zeit entfernt und die Spitze der Riechstifte 2 cm unter den Nasenöffnungen präsentiert. Danach wurde die Augenmaske entfernt und ihnen wurden vier Möglichkeiten in Form von Bildern der nach dem Duft riechenden Gegenstände (siehe Abbildung 6) vorgelegt. Davon mussten sich die Probanden unter Zeitdruck für einen der abgebildeten Gegenstände entscheiden (forced choice). Die Antwort des Probanden wurde in einer Liste mit vier Begriffen (siehe Tabelle 1), wobei die richtige Antwort jeweils fett gedruckt ist, eingetragen und ausgewertet. Ab 12 oder mehr richtig erkannten Duftstoffen wird ein normales Riechvermögen angenommen (Schnieper und Wolfensberger, 1999).



Abbildung 6: Testbatterie für die Identifikationstestung „Sniffin’ Sticks“ der Firma Burghart und die Karten mit den Abbildungen der Auswahlmöglichkeiten.

Nr., „Sniffi n` Sticks“	Antwort- möglichkeit 1	Antwort- möglichkeit 2	Antwort- möglichkeit 3	Antwort- möglichkeit 4
1	Orange	Brombeere	Erdbeere	Ananas
2	Rauch	Schuhleder	Klebstoff	Gras
3	Honig	Vanille	Zimt	Schokolade
4	Schnittlauch	Zwiebel	Fichte	Pfefferminz
5	Kokos	Kirsche	Walnuss	Banane
6	Pfirsich	Apfel	Zitrone	Grapefruit
7	Gummibär	Lakritz	Kaugummi	Kekse
8	Terpentin	Gummi	Menthol	Senf
9	Knoblauch	Zwiebel	Sauerkraut	Möhren
10	Zigarette	Kaffee	Wein	Kerzenrauch
11	Melone	Pfirsich	Apfel	Orange
12	Senf	Pfeffer	Zimt	Gewürznelke
13	Birne	Pflaume	Pfirsich	Ananas
14	Kamille	Himbeere	Rose	Kirsche
15	Rum	Anis	Honig	Fichte
16	Fisch	Brot	Käse	Schinken

Tabelle 1: Antwortmöglichkeiten des Identifikationstests.

Ausgewählt wird von der Untersuchungsperson jeweils eine der vier Antwortmöglichkeiten. Die fettgedruckten und farblich markierten Begriffe sind die richtigen Antworten.

3.2.3 Atemtechnik (velopharyngeale Atmung)

Um ein aktives Atmen durch die Nase während der Reizung mit dem Olfaktometer zu vermeiden, war das velopharyngeale Atmen für unsere Studie von großer Bedeutung. So wurde gesichert, dass der applizierte Duft in einer hohen Konzentration bei den Riechrezeptoren ankommt. Bei dieser Atemtechnik wird der Nasenraum über das Gaumensegel verschlossen, wodurch die aktive Atmung auf den Mund beschränkt wird.

Dieser Mechanismus wurde dem Probanden mit einem Thermistor verdeutlicht.

Ein Thermistor misst mit Hilfe von Biofeedback den nasalen Luftstrom. Dieser wird auf einem Oszilloskop visualisiert. Das Ziel dieser Übung ist erreicht, wenn das Oszilloskop keinen nasalen Luftstrom anzeigt. Diese Methoden sind sehr einfach, so dass die korrekte Atemtechnik von fast allen Probanden innerhalb weniger Minuten erlernt werden konnte.

Im Anschluss wurde mit den Probanden ein kurzer Probedurchlauf am Olfaktometer vorgenommen, um sie mit der Umgebung und ihren Aufgaben während des Versuchs vertraut zu machen. Um einer Desensibilisierung des chemosensorischen Systems vorzubeugen, wurden die Probanden darüber informiert, dass sie eine Stunde vor dem Versuch am folgenden Tag nichts essen und trinken sollten.

3.2.4 EEG-Ableitung

Neben der objektiven Bewertung der Reize nach der Intensität durch den Probanden wurde während des gesamten Versuchs ein EEG aufgezeichnet. Nachdem sich die Probanden gemütlich hingesetzt hatten, wurde ihnen das EEG angelegt. Dabei wurden die Oberflächenelektroden (0,2 bis 30 Hz Bandpass) an fünf unterschiedlichen Stellen (Fz, Cz, Pz, C3, C4) nach dem 10/20-System positioniert. Das internationale 10/20-System beschreibt die Verteilung der Elektroden auf dem Kopf des Probanden, wobei der Abstand der einzelnen Elektroden jeweils 10 oder 20 % der Gesamtlänge einer von Nasion zu Inion und zwischen beiden präaurikulär gedachten Linien beträgt. Dazu wurde bei jedem Probanden die Länge vom Nasion zum Inion (siehe Abbildung 7) gemessen. Somit sind die jeweiligen Punktabstände von der individuellen Kopflänge abhängig. Die Ohrläppchen-Elektroden (A1 + A2) dienten als Referenzpunkt für die Ableitung. Zwei zusätzlich am Mastoid angebrachte Elektroden (Erdungselektroden) wurden angebracht. Die vertikalen Augenbewegungen wurden von der Position Fp2 registriert. Das EEG wurde diskontinuierlich reizsynchron mit Hilfe der Software OM6b4.2.5 (Burghart Messtechnik GmbH, Wedel, Deutschland) aufgezeichnet. Als Verstärker diente ein 16-Kanal-EEG-Verstärker (Schabert, Röttenbach, Deutschland).

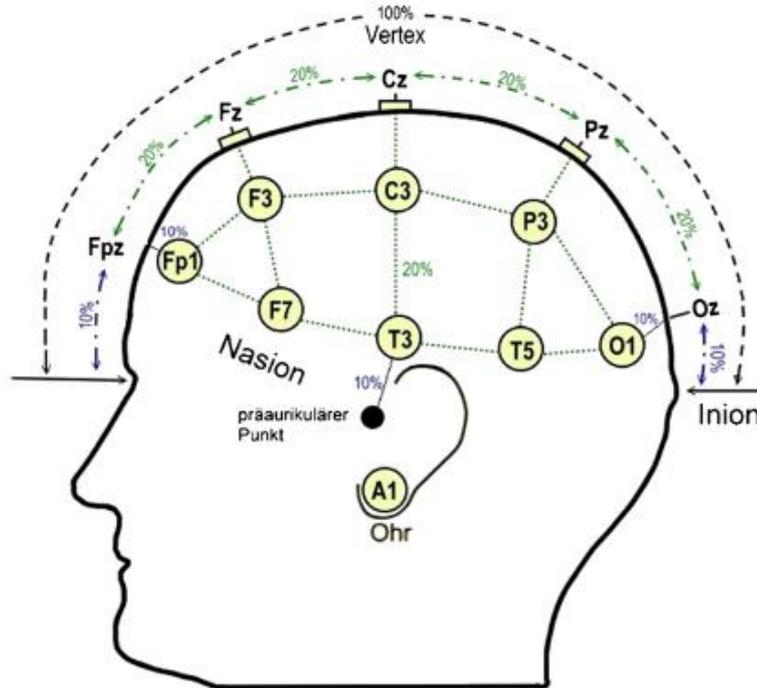


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Ableitpositionen FZ, CZ, PZ, C3 und C4 auf der Schädeloberfläche nach dem 10/20-System nach Milnik, 2009.

Fp2 über der rechten Augenbraue dient zur Detektion von Zinkerartefakten. A1 und A2 am rechten und linken Ohrläppchen sind Referenzelektroden.

Übersicht der Elektrodenpositionen	
F	frontal
Fp	frontopolar
C	zentral
P	parietal
O	okzipital
T	temporal
Z	(zero) Mittellinie

Tabelle 2: Übersicht der Elektrodenpositionen, gerade Zahlen: rechte Hemisphäre; ungerade Zahlen: linke Hemisphäre nach Milnik, 2009.

3.3 Versuchsdesign

3.3.1 Arbeitsplatz und der Olfaktometer

Der Versuch fand in einem ruhigen kühlen Raum statt. Für den Versuch verwendeten wir das Olfaktometer (OM6b, Firma Burghart, Wendel). Mit diesem war es möglich, dem Probanden die für diesen Versuch notwendigen chemischen Reize steuerbar und reproduzierbar darzubieten. Das Olfaktometer besteht aus einem System von zugehenden und absaugenden Schläuchen, die alle in einem Nasenstück münden. Aus dem Nasenstück entspringt ein austauschbares Teflon-Röhrchen mit einem Durchmesser von 4 mm. Dieses wurde dem Probanden für den Versuch ca. 1,5 cm in die Nasenhöhle geschoben.

Um einen bestimmten Reiz und somit eine bestimmte Antwort, die durch den Reiz entsteht, filtern zu können, mussten einige Voraussetzungen erfüllt sein, die mit diesem Olfaktometer realisierbar waren. Ausgangssituation bei dem Versuch war immer der kontinuierliche geruchlose Luftstrom mit einer Flussrate von 7 l/min. Dieser Luftstrom sollte eine Luftfeuchte von 70 bis 80 % haben und ca. 36 bis 38 °C warm sein. Diese Bedingungen wurden durch die Erwärmung von destilliertem Wasser in einem Wassertank erreicht, das anschließend durch das Schlauchsystem gepumpt wurde. Der konstante Luftstrom wurde zur olfaktorischen Reizung mit den Duftstoffen unterbrochen und der Duft in einer bestimmten Konzentration mit der geruchlosen Luft angeboten. Am Ende betrug die Flussrate wieder 7 bis 8 l/min. Dies hat den Vorteil, dass die in die Nase geleitete Luft kein unangenehmes Gefühl bei den Probanden auslöst und keine Thermo- und Schmerzrezeptoren gleichzeitig mit der Duftdarbietung erregt werden (Hummel und Kobal, 2002). Das Olfaktometer wurde über einen Computer mit der Software (OM6b 4.5.2) der Firma Burghart Messtechnik, Wedel, gesteuert. Diese ermöglichte es uns, die unterschiedlichen Konzentrationen, eine definierte Reizdauer und auch die ISI-Zeiten einstellen zu können. Die Reizdarbietung lief dabei automatisch ab. Als interstimulus Intervall (ISI) wird das Zeitintervall zwischen dem Auftreten zweier Reize bezeichnet. In dieser Studie betrug das ISI 4 s.

3.3.2 Verwendete Geruchsstoffe und Gase

In unserem Versuch wurde neben dem olfaktorischen System auch das trigeminale System untersucht. Da es sich dabei um zwei unterschiedliche Nervenkomponenten und Qualitäten handelt (siehe oben), benötigten wir für deren Reizung unterschiedliche Gase und Duftstoffe.

Kohlenstoffdioxid (CO₂) ist ein geruch- und farbloses Gas aus der Verbindung von Kohlenstoff und Sauerstoff und diente im vorliegenden Fall zur Reizung des trigeminalen Systems. Dabei tritt das typische Kribbeln, wie z. B. beim Trinken von Mineralwasser, auf.

Als rein olfaktorisch stimulierende Substanz nutzten wir das Orangeduftgemisch „DGFLO813G“ der Firma Takasago (Paris, Frankreich). Dieser Stoff fungierte in unserem Versuch als Grundduftstoff und wurde mit jedem dabei verwendeten Duft und Gas kombiniert. Die Darbietung dieses Orangeduftes in kurzen aufeinanderfolgenden Reizen sollte eine Habituation hervorrufen. Als trigeminal stimulierende Substanz diente das „Isopulegol „Coolact P“ 003185“, welches ebenfalls von der Firma Takasago stammte.

Bei „Coolact P“ handelt es sich um eine farblose Flüssigkeit, die einen minzigen Geruch hat. Diesen Inhaltsstoff findet man häufig in Lippenpflegestiften, Rasiergels und Bodylotions. „Coolact P“ stimuliert direkt die Rezeptoren an den Nervenenden der Haut, um ein kühlendes Gefühl zu erzeugen. Dabei werden Neurotransmitter freigesetzt, die ein Signal an das Gehirn senden, was zu einem wahrgenommenen Kühleffekt führt. In unserem Versuch wird „Coolact P“ in die Nase appliziert. Diesen Effekt nehmen die Probanden als einen leicht stechenden Schmerz wahr (trigeminal Reizung), vergleichbar mit dem Gefühl beim Lutschen eines Eukalyptusbombons.

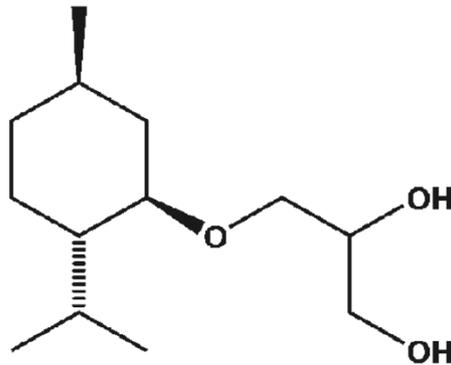


Abbildung 8: Strukturformel von „Coolact P“ (Isopulegol) nach der Firma Takasago

Für den Versuch verwendeten wir für jede Bedingung eine identische Konzentration an Orange. Die Konzentration von CO₂ und „Coolact P“ wurde danach ausgewählt, dass der Proband diesen Duft wahrnimmt, aber dabei keine Schmerzen empfindet.

Abbildung 9 gibt eine Übersicht der verwendeten Konzentrationen der einzelnen Duft- und Gasgemische.

Orange: Flow: 7 l/min	Orange + CO ₂ : Flow: 7 l/min	Orange + Coolact P: Flow: 7 l/min
40 % Orange* = 2,8 l/min  60 % Dilution** = 4,2 l/min	40 % Orange* = 2,8 l/min  20 % CO ₂ = 1,4 l/min 40 % Dilution = 2,8 l/min	40 % Orange* = 2,8 l/min  30 % Coolact*** = 2,1 l/min 30 % Dilution** = 2,1 l/min
* Orangenduft DGFL0813G ** Dilution=frische Luft *** COOLACT P 003185, CO ₂ = Kohlendioxid		

Abbildung 9: Detailansicht über die verwendeten Duftgemische und ihrer Konzentration

3.3.3 Dishabituationsuntersuchung

Die Dishabituationsuntersuchung fand ca. 24 Stunden nach der Voruntersuchung statt. Dies war notwendig, um sicherzustellen, dass der Versuch reibungslos ablaufen konnte, da noch alle Informationen vom Vortag beim Probanden präsent waren. In diesem Versuch sollte herausgefunden werden, ob und bei welchem Duft-Gas-Gemisch es nach einer Habituation zu einer Dishabituation des Geruchssystems kommt.

Der Versuch dauerte insgesamt 70 Minuten. Während der gesamten Zeit saßen die Probanden aufrecht und entspannt vor einem Bildschirm und mussten ein einfaches und die Vigilanz stabilisierendes Computerspiel spielen, wobei sie durch Mausbewegung ein Symbol (Viereck), das sich zufällig am Bildschirm bewegt, verfolgen sollten. Zur akustischen Abschirmung gegen Umgebungsgeräusche wurde dem Probanden über Kopfhörer eine monotone Geräuschkulisse eingespielt. Dies diente dazu, mögliche Signalstörungen zu minimieren. Bevor der Versuch starten konnte, wurden dem Probanden die EEG-Elektroden angelegt, wofür ca. 20 min eingeplant waren. Die unterschiedlichen Duftreize wurden dem Probanden über ein Teflonröhrchen, das ca. 1,5 cm tief im rechten Naseneingang positioniert wurde, dargeboten. Dieses Teflonröhrchen ist mit einem Schlauchsystem verbunden, das zum Olfaktometer führt (siehe Abbildung 10).

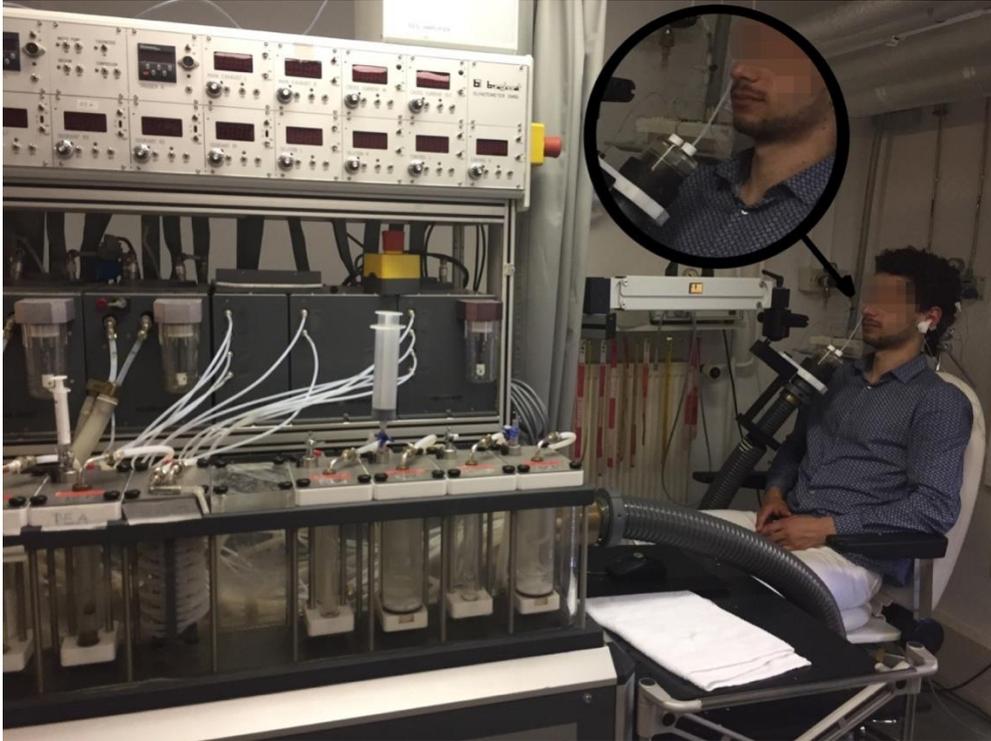


Abbildung 10: Proband bei der Dishabituationsuntersuchung

Hier ist der gesamte Versuchsaufbau abgebildet. Der Proband sitzt aufrecht und in einer gemütlichen Position. Am Kopf sind die Elektroden aufgeklebt und während des Versuchs wird ein EEG aufgezeichnet. Auch das Olfaktometer, welches die Reize sendet, ist gut zu erkennen. Das Teflonröhrchen, wodurch der Proband die Reize erhält, wurde diesem ca. 1,5 cm weit in die Nase geschoben.

Das Olfaktometer wurde so programmiert, dass dem Probanden 90 Stimulationsblöcke in einer Serie von 5 Reizen angeboten wurden. Außerdem wurden drei unterschiedliche Klassen getestet. Jede dieser drei Klassen wurde in einer randomisierten Reihenfolge 30-mal dargeboten. In Abbildung 11 sind die unterschiedlichen drei Klassen dargestellt.

Klasse	H ₁	H ₂	H ₃	DH	D
1	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange
2	Orange	Orange	Orange	Orange + CO ₂	Orange
3	Orange	Orange	Orange	Orange + Coolact P	Orange

Abbildung 11: Darstellung der unterschiedlichen Klassen

Klasse 1: 5 Reize Orangenduft; Klasse 2: Mischreiz aus Orange und einer kongruenten trigeminalen Komponente, hier CO₂ (erinnert an Orangenlimonade und führt zu Dishabituation); Klasse 3: Mischreiz aus Orange und einer nicht kongruenten Komponente, hier „Coolact P“ (löst eine kühlende Empfindung aus), führt zu einer Dishabituation.

In allen drei Klassen waren die ersten drei Reize immer Orangenduft. Dieser sollte bei dem Probanden eine Habituation (Reiz H) bewirken. Der vierte Reiz war der dishabituierende Reiz (Reiz DH) und in den einzelnen Klassen unterschiedlich. In der Klasse 1 war der Reiz DH Orangenduft. In der Klasse 2 wurde ein Mischreiz aus Orange und einer kongruenten trigeminalen Komponente, hier CO₂ (löst eine prickelnde Empfindung aus und erinnert an Orangenlimonade), angeboten. Hier sollte es bei dem Probanden zu einer Dishabituation kommen. In der letzten und dritten Klasse wurde den Probanden ein Mischreiz aus Orangenduft und einer nicht kongruenten Komponente, hier „Coolact P“ (löst eine kühlende Empfindung aus), dargeboten, welche ebenfalls zu einer Dishabituation führen sollte.

Der fünfte und letzte Reiz war der dishabituierende Reiz (D) und ebenfalls immer Orange, wie die habituierenden ersten drei Reize (H).

Die Abbildung 12 zeigt einen einzelnen Stimulationsblock. Die Reizdauer betrug 250 ms, zwischen den einzelnen Reizen lag jeweils eine Pause von 4 s (ISI). Somit betrug eine Serie insgesamt 17 s.

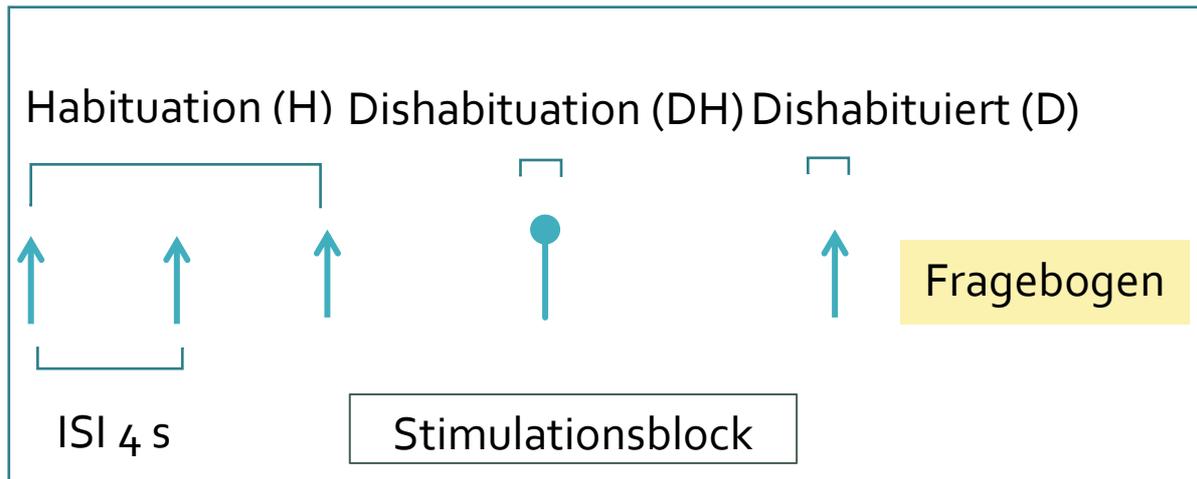


Abbildung 12: Stimulationsblockdesign

Nach den fünf direkt aufeinander folgenden Reizen wurde eine visuelle Analogskala (durchgezogene Linie ohne Unterteilung) auf dem Bildschirm des Computers eingeblendet und jeder Reiz musste einzeln nach Intensität bewertet werden. Die Intensitätsskala war am Ende der linken Seite mit 0 für „sehr schwach“ und am Ende der rechten Seite mit 100 für „sehr stark“ gekennzeichnet. Die Probanden konnten mit der Mausanzeige auf die Stelle klicken, welche der von ihnen wahrgenommenen Intensität entsprach. Nach der Bewertung des ersten Reizes sprang die Skala zur Bewertung des zweiten Reizes über und so weiter. Nach Abschluss des Versuches wurden die Probanden gebeten noch einen letzten Fragebogen zu beantworten (Fragebogen siehe Anhang).

In diesem Fragebogen ging es darum, zu erfassen, inwieweit die dargebotenen Düfte/Gase dem Probanden aus dem Alltag bekannt sind. So sollte geprüft werden, ob es einen Zusammenhang zwischen der Bekanntheit des Duftgemisches und der Intensitätsbewertung und Dishabituation gibt. Bevor die Probanden den Bogen ausgefüllt haben, wurden ihnen nochmals die Duftgasgemischungen Stoff 1 Orangenduft + CO₂ und für Stoff 2 Orangenduft + „Coolact P“ einzeln präsentiert.

Folgende Fragen sollten von dem Probanden nach wiederholter Präsentation von Duft 1 (Orange+CO₂) und Duft 2 (Orange+ „Coolact P“) beantwortet werden (siehe Anhang):

- Verändert der Zusatz von Stoff 1 Ihre Wahrnehmung von Orangenduft?
- Wenn ja, was war am ehesten der Grund dafür?
- Neun Antwortmöglichkeiten: z.B. Der Orangenduft war besser bewusst wahrzunehmen oder der Orangenduft war schlechter spürbar.
- Haben Sie zuvor jemals etwas Vergleichbares gerochen?
- Wenn ja, an was erinnert Sie der Geruch?

Dieselben Fragen stellten wir auch für den zweiten Duft.

3.4 Methoden der statistischen Auswertung

Die Auswertung wurde nach beendeter Versuchssitzung durchgeführt. Die Bearbeitung der EEGs erfolgte mit der Software „EPEvaluate“ (Kobal, Erlangen, Germany) und wurde mit dem Programm „LABUMM4“ (Lötsch, Frankfurt/M, Deutschland) exportiert. Als erstes wurden die gewonnenen Daten mit einem zusätzlichen Bandpass-Filter (FFT) zwischen 0,3 und 15 Hz gefiltert, außerdem wurde eine Baseline-Korrektur mit einem Referenzintervall von 500 ms vor dem Stimulus angewendet. Nach diesen ersten Bearbeitungsschritten wurden die aufgenommenen EEG-Epochen eines Probanden auf Artefakte, wie z. B. Zwinkerartefakte, welche außerhalb eines Bereichs von -50/50 μ V lagen, überprüft und manuell gelöscht. Zufällig auftretende Augenbewegungen zeigen zweigipflige Amplitudenmaxima und können so von Epochen ohne Artefakte unterschieden werden (Kobal, 1981). Anschließend folgte die Verarbeitung der Daten für jede Elektrode und jede Klasse. Dazu wurde die Spitze-Spitze-Amplitude von N1/P2 ausgemessen. Die Mittelung der Latenzzeiten und die Intensitätsbewertungen wurden für jeden Block einzeln ermittelt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Softwareprogramm „SPSS 21.0“ (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Mittels multifaktorieller Varianzanalysen („ANOVA“) wurden die Stichproben mit der Elektrodenposition als Innersubjektfaktoren und dem Stimulus als Zwischensubjektfaktoren untersucht. Dies beinhaltete den F-Test und den t-Test. Mit dem

F-Test lässt sich ermitteln, inwiefern sich zwei Stichproben hinsichtlich ihrer Varianz unterscheiden. Ist ein Zusammenhang zwischen den Stichproben gegeben, wird mit Hilfe des t-Tests jede unabhängige Variable auf Signifikanz geprüft. Das Signifikanzniveau wurde mit $p \leq 0.05$ festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der subjektive Intensitätsbewertungen und der OEPs für alle drei Klassen

Wie oben bereits beschrieben, mussten die Probanden jeden einzelnen der fünf aufeinander folgenden Reize anhand einer auf dem Bildschirm auftauchenden Skala von 0 bis 100 nach ihrer Intensität bewerten. Des Weiteren wurden die mit Hilfe eines EEG aufgezeichneten olfaktorisch ereigniskorrelierten Potentiale analysiert und ausgewertet.

Aufgrund der Ergebnisse lässt sich zeigen, dass es einen signifikanten Unterschied in der Intensitätsbewertung zwischen den drei Klassen (siehe Abb. 13) gibt. Mit der Varianzanalyse (ANOVA) der Messwiederholungen konnte festgestellt werden, dass der größte signifikante Unterschied in der Klasse 3 (Reizung mit Orangenduft und „Coolact P“), also bei dem inkongruenten Reiz, zu erkennen ist (siehe Tabelle 3).

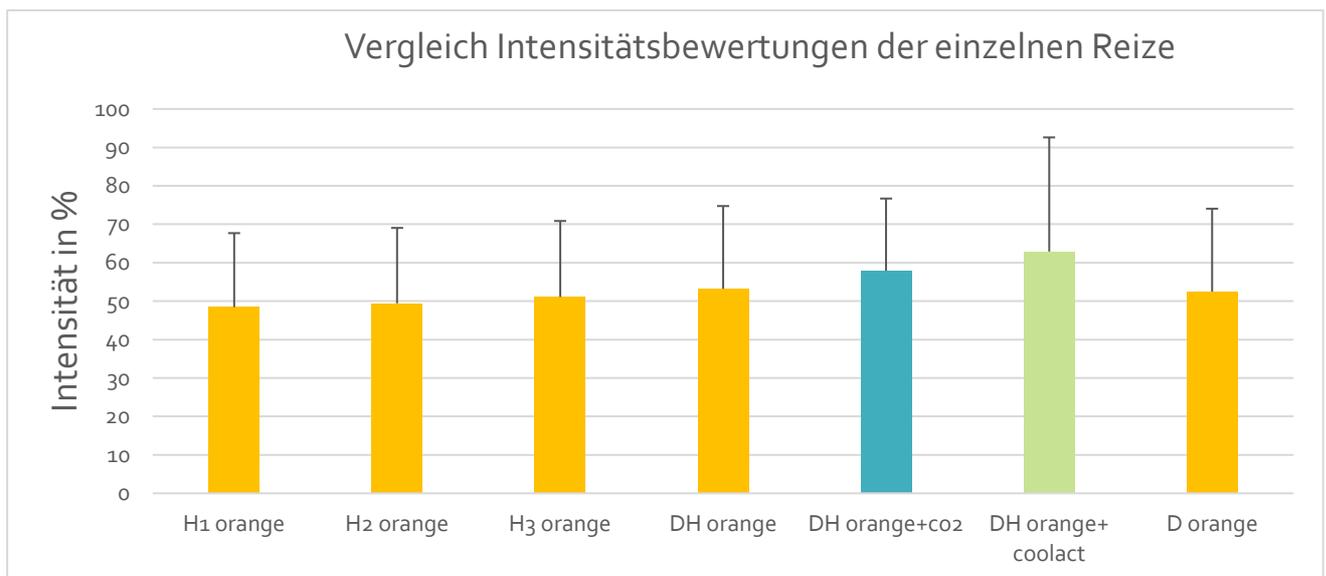


Abbildung 13: Vergleich der Intensitätsbewertungen der einzelnen Reize in den KlassenMan erkennt deutlich, dass die Probanden die Klasse 3 – Stimulation mit Orange und „Coolact P“ als am intensivsten bewertet haben.

Positionen	subjektive Intensitätsbewertung		
	M	SD	N
H1 orange	48,4	19,3	722
H1 orange + CO ₂	49,0	19,2	735
H1 orange + Coolact P	48,5	19,3	737
H2 orange	49,4	19,6	720
H2 orange + CO ₂	50,2	19,8	735
H2 orange + Coolact P	50,1	19,8	737
H3 orange	51,1	19,8	721
H3 orange + CO ₂	51,9	18,8	697
H3 orange + Coolact P	52,0	22,1	737
DH orange	53,2	21,6	721
DH orange + CO ₂	57,9	18,8	697
DH orange + Coolact P	62,9	29,7	737
D orange	52,5	21,6	721
D orange + CO ₂	54,1	21,3	735
D orange + Coolact P	56,9	25,4	737

Tabelle 3: Zeigt die Mittelwerte (M), Standardabweichung (SD) und Anzahl (N) der subjektiven Intensitätsbewertungen der 5 präsentierten Reize H1-D in den drei unterschiedlichen Klassen.

4.1.1 Ergebnisse der OEPs und der Intensitätsbewertungen für die Klasse 1 mit dem Reiz DH = Orangenduft

In Bezug auf die aufgezeichneten OEPs zeigten die Antwortamplituden des fünften Stimulus keine signifikanten Unterschiede für diese Testbedingung (siehe Tabelle 4).

Eine leichte Habituation war bei Reiz H1 bis Reiz H3 zu erkennen (Abbildung 14, Tabelle 5).

	p Wert		
	Kontroll Testbedingung	Kongruente Testbedingung	Inkongruente Testbedingung
N1 Amplitude	F(4;76) = 0.13; p = 0.97	F(4;76) = 0.13; p = 0.97	F(4;76) = 1.22; p = 0.31
Spitze-zu-Spitze Amplitude N1P2	F(4;76) = 1.32; p = 0.27	F(4;76) = 1.05; p = 0.39	F(4;76) = 12.4; p < 0.001
P2 Amplitude	F(4;76) = 0.13; p = 0.92	F(4;76) = 0.13; p = 0.90	F(4;76) = 4.54; p = 0.010
Antwortamplitude N1P2 zwischen Reiz H3 und D	p = 1.00	p = 1.00	p = 0.043
Antwortamplitude N1P2 zwischen Reiz H3 und DH	p = 1.00	p = 1.00	p = 0.026
Antwortamplitude N1P2 zwischen Reiz DH und D	p = 1.00	p = 1.00	p = 0.27
Antwortamplitude N1P2 zwischen Reiz H1 und H3	p = 1.00	p = 1.00	p = 0.156

Tabelle 4: Ergebnisse des Vergleichs zwischen den drei Versuchsbedingungen

Position	N1P2 in μV	
	M	SD
H1_n1p2_Cz	4,61	3,16
H1_n1p2_Fz	3,93	2,28
H1_n1p2_Pz	4,44	2,39
H2_n1p2_Cz	4,22	1,89
H2_n1p2_Fz	3,36	2,01
H2_n1p2_Pz	4,46	2,30
H3_n1p2_Cz	3,93	2,26
H3_n1p2_Fz	3,13	2,04
H3_n1p2_Pz	3,79	2,00
DH_n1p2_Cz	4,78	2,33
DH_n1p2_Fz	4,07	2,12
DH_n1p2_Pz	4,49	2,73
D_n1p2_Cz	4,14	2,01
D_n1p2_Fz	3,19	1,67
D_n1p2_Pz	3,44	2,22

Tabelle 5: Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD) der N1P2-Amplituden des DH=Orange. Die Anzahl pro Mittelung (N) betrug 20.

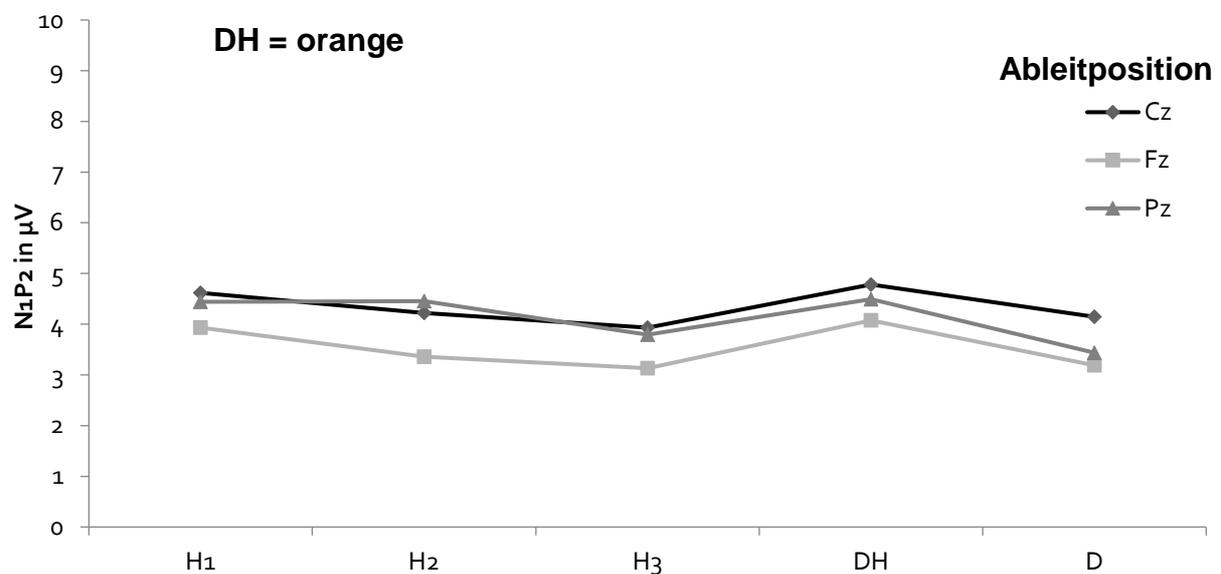


Abbildung 14: Zeigt die Mittelwerte der Spitze-Spitze-Amplituden des N1P2. D und DH unterscheiden sich nicht signifikant von H3.

Der Stimulus H1 wurde im Vergleich zu Stimulus DH ($F [4; 96] = 4.53, p = 0.002$) signifikant intensiver bewertet. Durch die Verwendung des Bonferroni-Tests zum Vergleich der einzelnen Reize untereinander konnte dies nicht mehr bestätigt werden ($p = 0.17$). Weiterhin wurde die Intensität für den Stimulus D in keiner der drei Testbedingungen für H3 ($p = 0.44$)

als signifikant ausgeprägter eingestuft (Abbildung 17). Dies hat sich während der gesamten Sitzung nicht verändert (Abbildung 15, Tabelle 3).

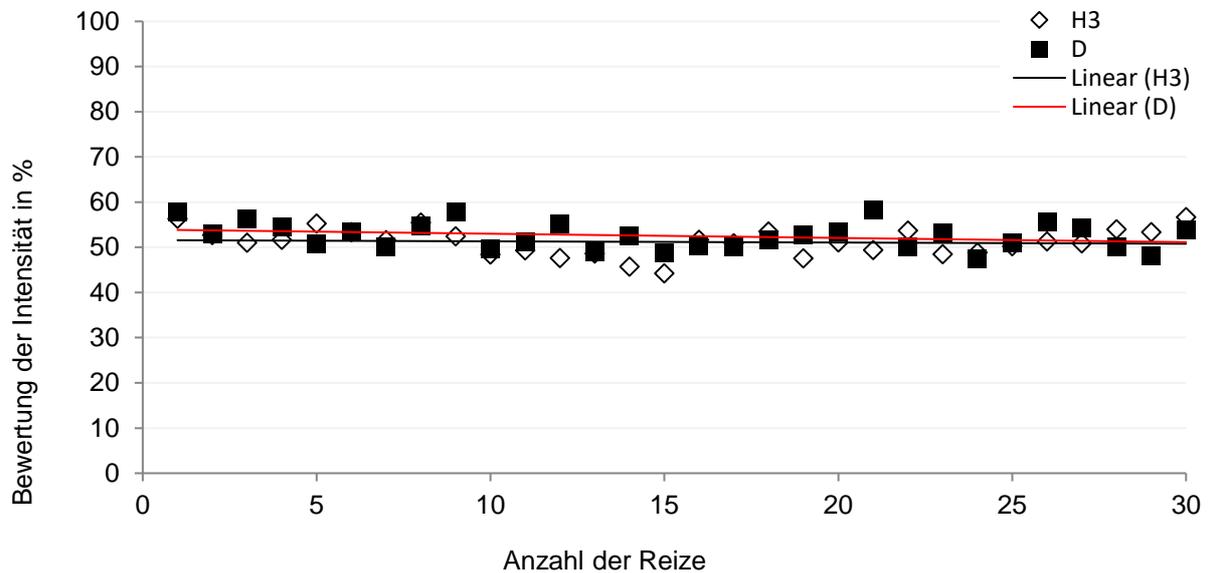


Abbildung 15: Vergleich der Intensitätsbewertung zwischen H3 (Orange) und D (Orange) bei DH (Orange + Orange) für alle 30 Stimulationsblöcke in der Klasse 1. Die Intensitätsbewertungen sind hier nicht signifikant voneinander verschieden.

Die Trendlinien zeigen, dass im Verlauf des Experiments keine wesentlichen Veränderungen zwischen der Intensitätsbewertung vor und nach der Dishabituation festgestellt werden konnten.

4.1.2 Ergebnisse der OEPs und der Intensitätsbewertungen für die Klasse 2 mit dem kongruenten Reiz DH = Orangenduft und CO₂

Auch in der kongruenten Testbedingung (DH-Reiz = Orange+CO₂) ergab die Analyse der OEPs keinen signifikanten Unterschied in den Antwortamplituden (siehe Tabelle 4). Eine Habituation konnte von H1 bis H3 beobachtet werden (Tabelle 6).

Position	N1P2 in μV	
	M	SD
H1_n1p2_Cz	4,86	3,12
H1_n1p2_Fz	3,64	3,20
H1_n1p2_Pz	4,56	3,12
H2_n1p2_Cz	4,51	2,09
H2_n1p2_Fz	3,45	2,57
H2_n1p2_Pz	4,13	2,09
H3_n1p2_Cz	4,79	3,32
H3_n1p2_Fz	3,79	2,72
H3_n1p2_Pz	3,95	3,03
DH_n1p2_Cz	6,19	6,70
DH_n1p2_Fz	4,96	5,68
DH_n1p2_Pz	5,50	5,40
D_n1p2_Cz	4,46	2,40
D_n1p2_Fz	3,47	2,41
D_n1p2_Pz	3,58	2,12

•

Tabelle 6: Zeigt die Mittelwerte (M) und Standardabweichungen (SD) der N1P2-Amplituden des Reizes DH=Orange+CO₂. Die Anzahl (N) betrug 17.

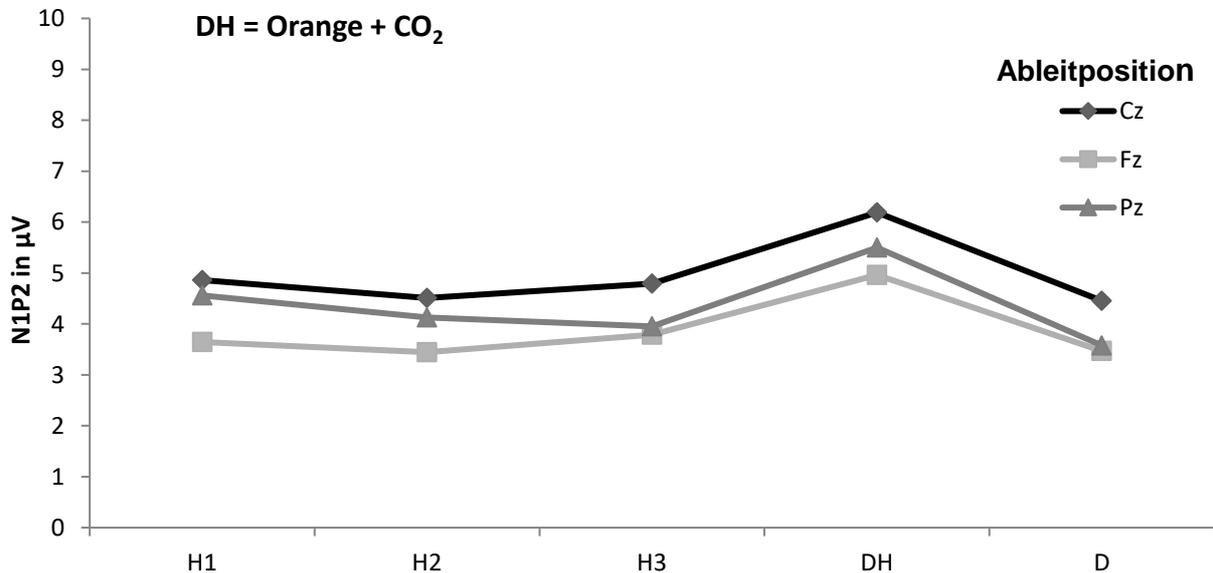


Abbildung 16: Die Mittelwerte der Spitze-Spitze-Amplituden von N1P2 zeigen keinen Effekt für D und DH im Vergleich zu H3

Die Intensität des DH-Stimulus (Orange + CO₂) war signifikant ausgeprägter als die des Reizes H1 ($F [4; 96] = 3.73, p = 0.007$). Bei der Verwendung des Bonferroni-Tests für den Vergleich zwischen den einzelnen Stimuli wurde jedoch kein signifikanter Unterschied mehr festgestellt ($F [4; 96] = 1.17, p = 0.35$). Die Intensitätsbewertung für den Stimulus D (Orange)

war nicht signifikant ausgeprägter als die für den Reiz H3 ($p = 0,70$) (Abbildung 17). Die Trendlinien zeigen, dass sich im Verlauf des Experiments keine wesentlichen Änderungen in der Intensitätsbewertung vor und nach der Dishabituation ergeben haben (siehe Abbildung 15, Tabelle 3)

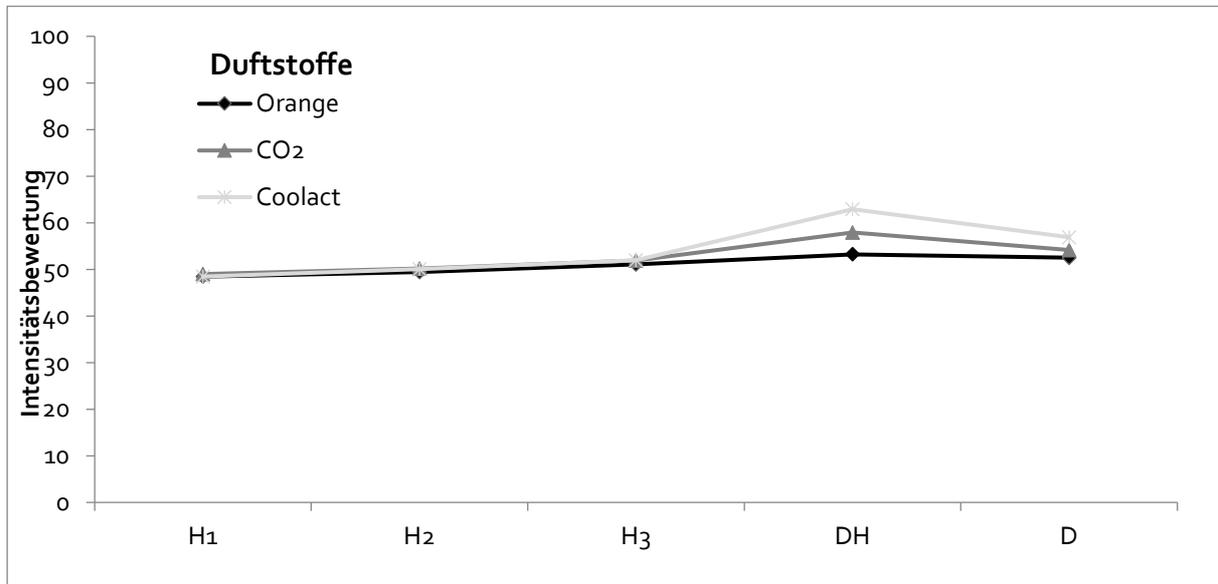


Abbildung 17: Vergleich der Intensitätsbewertungen in den drei unterschiedlichen Klassen

4.1.3 Ergebnisse der OEPs und der Intensitätsbewertungen für die Klasse 3 mit dem inkongruenten Reiz DH = Orangenduft und „Coolact P“

Für die N1-Amplitude erreichte der Haupteffekt „Stimulus“ ($F [4; 76] = 1.22; p = 0.31$) keine Signifikanz (siehe Tabelle 4).

Die Spitze-zu-Spitze-Amplituden der OEPs bei N1P2, die an der Position Cz, Fz und Pz für die einzelnen 5 Reize der Konditionen 1 (Orange), 2 (Orange und CO₂) CO₂ ($F (4;76) = 1.05, p = 0.39$) und 3 (Orange + 'Coolact P'), $F \{4; 76\} = 12.4, P < 0,001$) gemessen wurden, zeigten nur in der Klasse 3 signifikante Unterschiede (Abbildung 18).

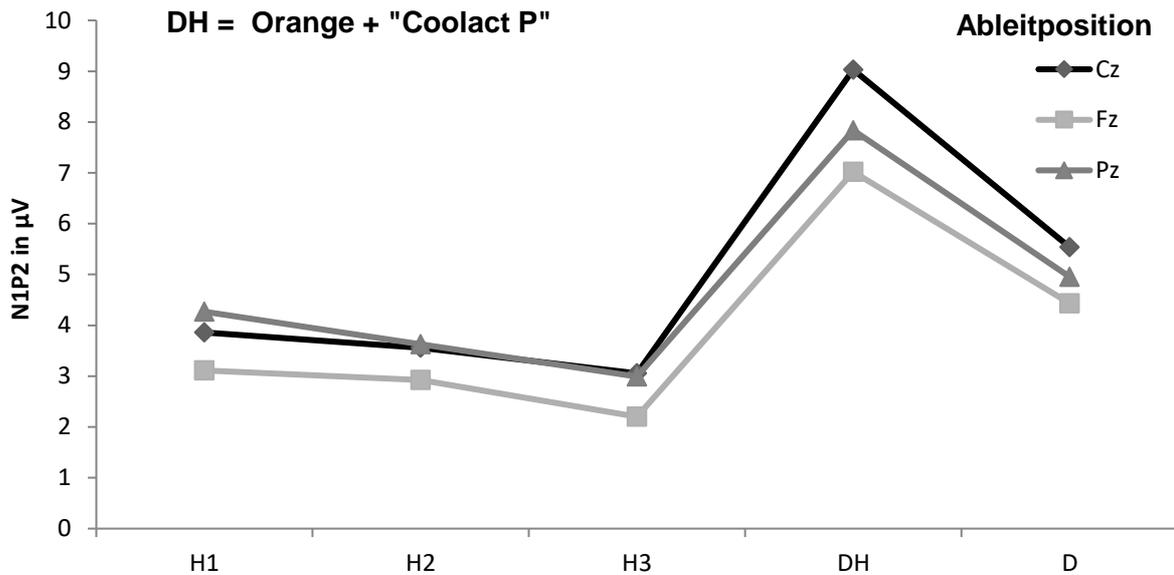


Abbildung 18: Zeigt die Mittelwerte der Spitze-Spitze- Amplituden von N1P2. D.- DH ist signifikant höher als H3

Es zeigten sich signifikante Unterschiede bezüglich der P2-Amplitude für den „Stimulus“ ($F [4; 76] = 4,54; p = 0,01$).

Die Antwortamplitude von N1P2 zwischen den Stimuli H3 und D ergab nur in der Klasse 3 (Orange + „Coolact P“) einen signifikanten Unterschied ($p = 0,043$) (Abbildung 18).

Die Antwortamplitude zwischen H3 und DH ergab nur einen signifikanten Unterschied für die Klasse 3, in der „Coolact P“ als dishabituierender Reiz genutzt wurde ($p = 0,001$). Dasselbe wurde auch für die P2-Amplitude gefunden ($p = 0,026$).

Für die Antwortamplituden von N1P2 zwischen Stimuli H1 und H3 wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt ($p = 0,156$). Das Muster der topografischen OEP-Verteilung in der Testbedingung drei in der Mischung Orange + „Coolact P“ für den DH-Stimulus zeigte, dass die Amplituden N1P2 bei der Mittellinienaufzeichnung unterschiedlich waren ($F [2; 42] = 3,98; p = 0,03$) (Tabelle 7). Die stärkste Antwort gab es an der Position Cz (Cz vs. Fz: $p = 0,01$; Cz vs. Pz $p = 0,048$).

Position	N1P2 in μV		
	M	SD	N
H1_n1p2_Cz	3,9	2,1	20,0
H1_n1p2_Fz	3,1	1,8	20,0
H1_n1p2_Pz	4,3	2,5	20,0
H2_n1p2_Cz	3,6	1,5	20,0
H2_n1p2_Fz	2,9	1,9	20,0
H2_n1p2_Pz	3,6	1,7	20,0
H3_n1p2_Cz	3,1	2,0	20,0
H3_n1p2_Fz	2,2	1,5	20,0
H3_n1p2_Pz	3,0	2,0	20,0
DH_n1p2_Cz	9,0	5,1	20,0
DH_n1p2_Fz	7,0	4,9	20,0
DH_n1p2_Pz	7,8	5,6	20,0
D_n1p2_Cz	5,5	3,3	20,0
D_n1p2_Fz	4,4	3,0	20,0
D_n1p2_Pz	5,0	2,9	20,0

Tabelle 7: Zeigt die Mittelwerte (M) und Standardabweichungen (SD) der N1P2-Amplituden des Reizes DH= „Coolact P“. Die Anzahl (N) beträgt 20.

Für den H3-Stimulus war der Haupteffekt „Position“ auch signifikant ($F [2; 42] = 4.73$; $p = 0.014$). Bei dem paarweisen Vergleich der Amplituden zwischen N1P2 an den Positionen Fz und Cz ($p = 0.007$) gab es einen signifikanten Unterschied. Dieser konnte jedoch nicht zwischen den Positionen Cz und Pz gefunden werden.

Für den D-Stimulus wurde kein signifikanter Effekt bei dem Faktor „Position“ gefunden. Somit zeigt sich, dass der DH-Reiz ein Trigeminus-Aktivierungsmuster erzeugte, wohingegen die Reize H3 und D ein olfaktorisches Aktivierungsmuster hervorrief. Bei den Latenzen von N1 oder P2 gab es keinen signifikanten Zusammenhang und Abweichung von N1 oder P2.

Beim Vergleich der Intensitätsbewertung zwischen H3 (Orange) und dem dishabitierenden Reiz (DH) bei der Mischung Orange und „Coolact P“ ($F [4,96] = 6.06$, $p < 0.001$) sind die Einschätzungen von D (dishabitierter Reiz) immer größer als bei H3, was auf einen starken dishabitierenden Effekt hindeutet. Orange $F [4,96] = 4.58$, $p = 0.002$, Mischung aus Orange und CO_2 $F [4,96] = 3.73$, $p = 0.007$.

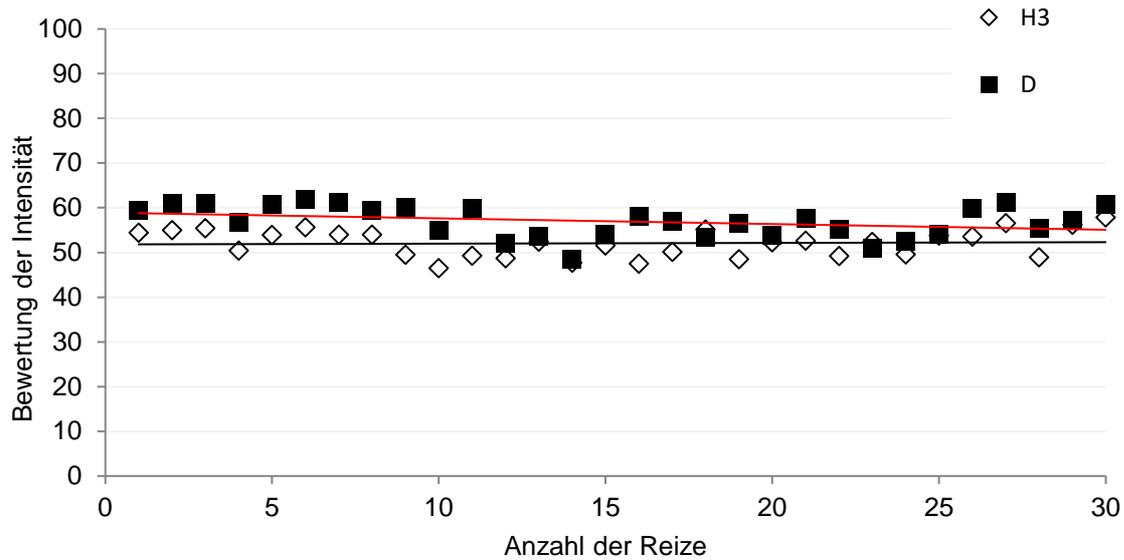


Abbildung 19: Vergleich der Intensitätsbewertungen zwischen H3 (Orange) und D (Orange) bei DH (Orange + „Coolact P“) für alle 3 Stimulationsblöcke. Hier sind die Einschätzungen von D immer größer als bei H3, was auf einen starken dishabituierenden Effekt hindeutet.

Beim paarweisen Vergleich der einzelnen Reize untereinander durch die Anwendung der Bonferroni T-Tests konnte nur ein tendenzieller Unterschied zwischen dem DH-Stimulus (Orange + „Coolact P“) und dem Reiz H1 (Orange) ($p = 0,09$) gezeigt werden.

Die Intensitätsbewertung für den Stimulus D (dishabituierter Reiz) war nicht signifikant größer als die für den Stimulus H3 ($p = 0,16$) (Abbildung 20).

Die Trendlinien zeigen, dass sich im Verlauf des Experiments keine wesentlichen Veränderungen in der Bewertung der Intensität vor und nach der Dishabituation ergaben (Abbildung 15; Tabelle 4). 23 der 25 Teilnehmer (93 %) fühlten, dass sich der Orangenduft veränderte, wenn diesem „Coolact P“ als DH-Stimulus hinzugefügt wurde (siehe Abbildung 17).

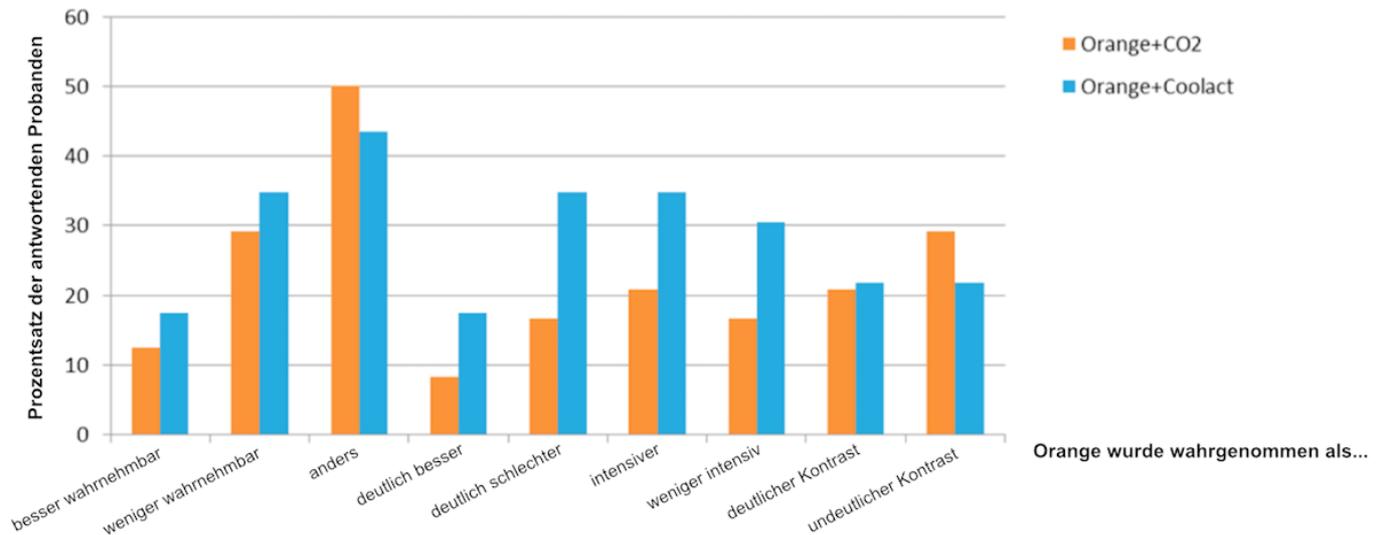


Abbildung 20: Prozentuale Darstellung des von den Probanden evaluierten Duftes

Auf die Frage, ob die Teilnehmer etwas Vergleichbares wie den wahrgenommenen Geruch aus dem Alltag zuvor gerochen hatten, antworteten 20/25 (80 %) mit Ja. Der Vergleich zwischen den Bewertungen von CO₂ und „Coolact P“-Gemisch ergab keinen signifikanten Unterschied (χ^2 -Test).

4.2 Bewertung der Reizqualität

Zu der Frage im Zusammenhang mit der Bewertung der Reizqualität, gaben 24/25 (96 %) der Teilnehmer an, dass die zugesetzte Komponente (CO₂) ihre Wahrnehmung des Orangenduftes verändert habe (Abbildung 20; Tabelle 3). Auf die Frage, ob die Teilnehmer zuvor schon einmal etwas Ähnliches gerochen hätten, antworteten 10/25 (40 %) mit Ja. Auf diejenige, um was es sich bei diesem Geruch handeln könnte, gaben 2/25 (8 %) an, sie würden sich bei Orange + CO₂ an Orangenlimonade (Fanta) erinnern, ein Getränk, das beide Komponenten, Orange und auch CO₂, enthält (Tabelle 8).

Orange + CO ₂		Orange + Coolact P	
wahrgenommener Duft	N = Teilnehmer	wahrgenommener Duft	N = Teilnehmer
Fanta	2	Menthol	8
Geschirrspülmittel	2	Minze	4
Orange	2	Pfefferminze	2
Zitrone	1	Eucalyptus	2
Frucht	1	Kaugummi	1
Gemüse	1	Mundwasser	1
Ammoniak	1	Orange	1

Tabelle 8: Anzahl der Probanden, welche die präsentierten Düfte aus ihrem Alltag kennen und definieren konnten.

Beim Vergleich der Intensitätsbewertungen zwischen H3 (Orange) und dem dishabitierenden Reiz (DH) die Mischung aus Orange und „Coolact P“ ($F [4,96] = 6.06$, $p < 0.001$) sind die Einschätzungen von D (dishabitierter Reiz) immer größer als bei H3, was auf einen starken dishabitierenden Effekt hindeutet. Orange $F [4,96] = 4.58$, $p = 0.002$, Mischung aus Orange und CO₂ $F [4,96] = 3.73$, $p = 0.007$.

Beim paarweisen Vergleich der einzelnen 5 Reize untereinander durch die Anwendung der Bonferroni T-Tests, konnte nur ein tendenzieller Unterschied zwischen DH Stimulus (Orange + „Coolact P“) und dem Reiz H1 (Orange) ($p = 0.09$) gezeigt werden.

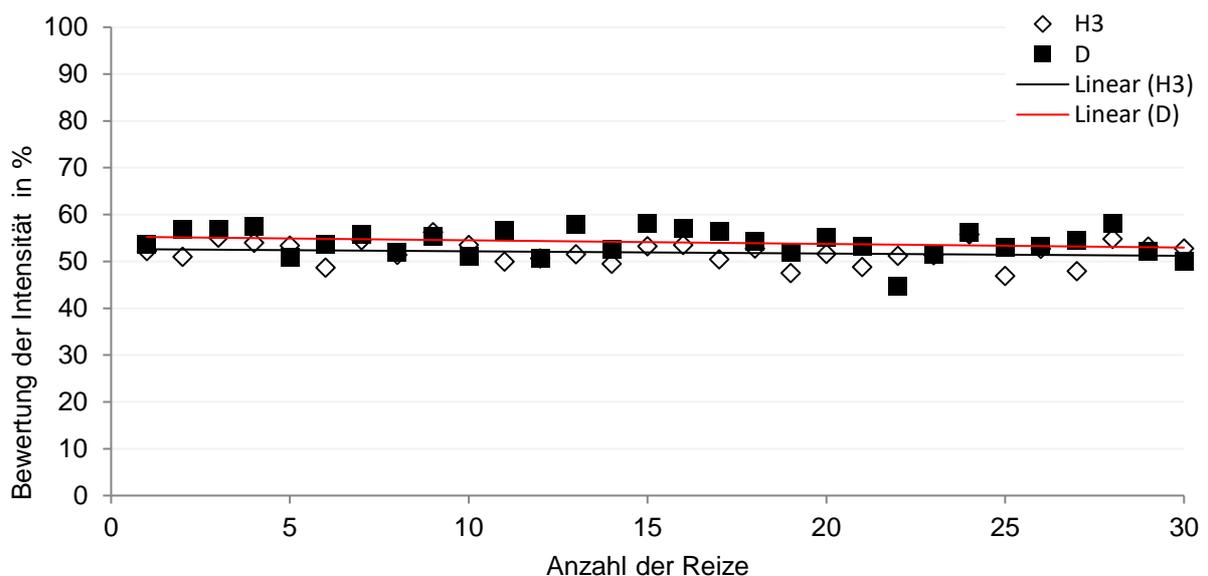


Abbildung 21: Vergleich der Intensitätsbewertungen zwischen H3 (Orange) und D(Orange) bei DH (Orange +CO₂) für alle drei Klassen. Bei der Bedingung DH (Orange +“Coolact P“) sind die Bewertungen von D häufig größer als H3

4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

- Die aufeinander folgende wiederholte olfaktorische Reizung der Nasenschleimhaut mit Orange führte zu einer Habituation.
- Starker dishabituierender Effekt in der Klasse 3, in der die Co-Stimulation des olfaktorischen und des trigeminalen Systems mit „Coolact P“ und Orange stattfand.
- Die gleichzeitige Stimulation des trigeminalen Systems mit CO₂ oder „Coolact P“ führte zu einer Veränderung der Geruchswahrnehmung des olfaktorischen Reizes Orange.
- Bei den Amplituden der OEPs konnte eine signifikante Steigerung der Reizantwort nur nach der Stimulation mit Orange + „Coolact P“ gezeigt werden.
- Die erhaltenen größeren Amplituden beim Vergleich der Reize D und H3 zeigten, dass es nach einer trigeminalen Co-Stimulation mit Orange + „Coolact P“ zu einer Dishabituation kam.
- Stärkere Dishabituation für die Klasse 3 mit „Coolact P“ als inkongruentes Stimulans, jedoch nur mit der Tendenz für das kongruentere Stimulans CO₂, das üblicherweise in Limonaden wie Fanta oder Orangina, also zusammen mit Orangendüften, vorkommt.

5 Diskussion

Habituation und Dishabituation sind Schlüsselprozesse des olfaktorischen Systems. Durch die Habituation ist der Mensch in der Lage, neue Gerüche oder Geruchsveränderungen in einer bereits duftenden Umgebung wahrzunehmen. Dieser Mechanismus scheint besonders schnell bei unangenehmen Gerüchen zu funktionieren, der zum Beispiel hilft, rechtzeitig eine Gefahrenquelle wie einen Brand oder verdorbene Lebensmittel zu detektieren (Jacob, 2003; Stuck et al., 2014). Gerüche, die als gefährlich eingestuft werden, werden intensiver wahrgenommen, was diesen Warnmechanismus unterstützt (Kobayashi, 2007; Jacob, 2003). Darüber hinaus konnten sie zeigen, dass die Geruchssensitivität bei angenehmen Gerüchen schneller abnimmt als bei schlechten. Bei Änderung der Stimulation durch unangenehme Gerüche werden Letztere jedoch stärker wahrgenommen (Kobayashi, 2007; Jacob, 2003). In der von mir vorgelegten Studie konnte durch die erhobenen Untersuchungsergebnisse gezeigt werden, dass die Reizantwort nach der wiederholten Präsentation eines Duftes, wodurch es zu einer Habituation kommt, infolge der anschließenden Gabe eines olfaktorisch-trigeminal gemischten Stimulans gesteigert werden kann. Dies traf insbesondere für die inkongruente Testbedingung mit dem dishabituierenden Stimulus aus Orangenduft + „Coolact P“ zu. Somit wird die Theorie von Spencer und Thompson zur Dishabituation bestätigt, dass es bei der Präsentation eines stärkeren Reizes, nach einer Habituation, wieder zu einem Anstieg der Reaktion zum originalen Reiz kommt (Spencer und Thompson, 1966). Interessanterweise ergab die Zugabe von CO₂ zum Orangenduft (kongruente Testbedingung) keinen signifikanten Unterschied, obwohl eine Tendenz zur Gewöhnung erkennbar war. Ein Grund dafür könnte in der interindividuellen Variation liegen, die zu hohen Standardabweichungen der Mittelwerte geführt hat.

In der Studie von Markus, Nolen et al. (1988) wird behauptet, dass ein leichter Elektroschock eine bessere Dishabituation auslöst als ein starker. Auf unsere Studie übertragen, bedeutet dies, dass das „Coolact P“ bei den Probanden eine Irritation auslöst, wodurch der Körper in Alarmbereitschaft versetzt und deshalb aufmerksamer wurde. Bei unseren Untersuchungen verwendeten wir als Dishabituationsreize CO₂ mit 20 % und „Coolact P“ mit 40 % Konzentration. Aus unseren Ergebnissen geht hervor, dass der Reiz mit „Coolact P“ 40 % eine Dishabituation bewirkt. Somit können wir die Aussage von Markus et al. nicht bestätigen. Es lässt sich vermuten, dass die Konzentration von „Coolact P“ vielleicht zu hoch gewählt wurde. In unserer Studie gingen wir davon aus, dass es durch die wiederholte Stimulation von drei gleichen aufeinander folgenden Reizen mit Orangenduft zu einer Habituation kommen würde. Tatsächlich führte dies aber nur zu einer geringfügigen Habituation, es kam also zu keiner signifikanten Abnahme der Intensitätsbewertungen. An dieser Stelle muss man besonders

betonen, dass dies möglicherweise auf die relativ geringe Anzahl von Stimuli zurückzuführen ist, die zur Erzeugung der Habituation verwendet wurden. Beispielsweise hätte die Präsentation von zehn identischen Stimuli statt der in dem Versuch verwendeten drei, deutlichere Ergebnisse gebracht. Es ist auch überraschend zu sehen, dass der dishabituierende Stimulus eine Reaktion hervorrief, die viel intensiver als die Antwort auf den Anfangsstimulus der Sequenz war. Dies kann sogar als „hypersensibilisierender“ Effekt der Stimulationssequenz angesehen werden, der nicht mit der ursprünglichen Hypothese übereinstimmt. Zukünftige Studien sind erforderlich, um dieses Phänomen zu erforschen.

Inwieweit eine Co-Stimulation mit „Coolact P“ + Orange des *N. olfactorius* für die Dishabituation notwendig ist oder ob eine reine trigeminale Stimulation mit „Coolact P“ ausreicht, geht aus unserer Studie nicht eindeutig hervor, da hier beide den Trigeminus aktivierenden Stoffe mit einem auch den *N. olfactorius* stimulierenden Stoff gemischt wurden. Man könnte in einer weiteren Studie das „Coolact P“, welches in der vorliegenden Untersuchung eine Dishabituation auslöst, durch einen rein den *N. trigeminus* aktivierenden Reiz ersetzen, um zu prüfen, ob es ebenfalls zu einer Dishabituation kommt.

Das „Coolact P“ erinnert bei der Empfindung an Menthol. Es riecht minzig und löst ein kühlendes Gefühl auf der Haut oder Schleimhaut aus. Einige Studien haben gezeigt, dass Menthol seine Wirkung auf die Wahrnehmung von Kälte und Wärme ausübt, denn es aktiviert TRPM8-Rezeptoren (Schaefer et al., 1991). Darüber hinaus konnten wir nach der Stimulation mit Orangenduft zusammen mit „Coolact P“ eine signifikante Erhöhung der OEP-Amplituden nachweisen. Dieser Effekt wurde bei der elektrophysiologischen Messung deutlich, bei den psychophysischen Messungen jedoch nicht. Dies korrespondiert mit der Vorstellung, dass elektrophysiologische Messungen sensitiver sind als psychophysische Intensitätsbewertungen, zumindest für bestimmte Effekte. Sie haben eine hohe zeitliche Auflösung im Bereich von Mikrosekunden, ermöglichen die Untersuchung der sequentiellen Verarbeitung sensorischer Informationen und können weitgehend unabhängig von der Antwortverzerrung des Probanden erhalten werden. OEP-Peaks können in relativ frühe „exogene“ Komponenten, die bis zu einem gewissen Grad durch Eigenschaften des Stimulus wie Intensität oder Qualität bestimmt werden, und in relativ späte „endogene“ Komponenten, die eher die subjektive Bedeutung des Stimulus widerspiegeln, unterschieden werden (Chen et al., 1979). Natürlich weisen alle OEP-Komponenten auf kognitive Prozesse hin (Pause und Krauel, 2000). Das OEP muss aus der Hintergrund-EEG-Aktivität extrahiert werden. Die Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses (SNR) wird typischerweise mit einer Mittelung des Individuums durchgeführt (Hummel und Frasnelli, 2007). Der Mittelungsprozess erfordert auch eine Wiederholung des Stimulus, was wiederum Probleme wie Änderungen der Wachsamkeit der Probanden während relativ langer Experimente und Anpassungsphänomene mit sich bringt. Das beste SNR wird erreicht, wenn 60 bis 80

Antworten gemittelt werden (Boesveldt et al., 2007). Die Änderung der Wachsamkeit der Probanden während des Versuches ist auch der Grund, weshalb elektrophysiologische Messungen sensitiver sind als psychologische Intensitätsbewertungen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie könnten zum Teil auf einen dishabituierenden Effekt zurückzuführen sein, obwohl es anders als erwartet zu keiner starken Habituation durch drei gleiche, aufeinander folgenden Stimuli kam. Das Vorliegen einer Dishabituation wurde zumindest für die Testkondition Orangenduft mit „Coolact P“-Stimulus durch die größeren Antwortamplituden auf D im Vergleich zu H3 gezeigt. Interessanterweise war die Erhöhung der Antwortamplituden auf den D-Stimulus für „Coolact P“ als kontextuell inkongruentes Stimulans am ausgeprägtesten, aber nur im Vergleich zum kongruenteren Stimulans CO₂, welches bei den Probanden dasselbe Empfinden wie das Trinken einer Limonade (Fanta oder Orangina) hervorruft. Die stärkere Reaktion auf einen inkongruenten Stimulus wird in einer Reihe von Studien nachgewiesen. Dabei lösen aversive Reize eine stärkere Reaktion aus als nicht-aversive (Royet, 2000). Die gesteigerte Reaktion auf einen inkongruenten Stimulus spiegelt sich in stärkeren FMRI-Aktivierungen, in höheren Intensitätsbewertungen, die unmittelbar nach dem Reiz vom Probanden abgegeben wurden, oder in größeren Antwortamplituden der während der Untersuchung aufgezeichneten OEPs wider (Bulsing, 2007). Der frühe N1-Peak des ERP belegt die Intensität und Qualität des Reizes, denn eine höhere Spitzenamplitude zeigt mehr aktivierte oder synchronisierte Neuronen an, während die späte Positivität „P2-Peak“ mit kognitiveren Wahrnehmungsaspekten wie der Salienz eines Reizes oder inkongruenten Reizen assoziiert ist (Pause und Krauel, 2000) und Änderungen der Latenzen mit der Verarbeitungsgeschwindigkeit verbunden sind; verkürzte Latenzen beziehen sich auf eine schnellere Verarbeitung (Hummel und Kobal, 2002). Bei der Bewertung des hinzugefügten DH-Stimulus von Orangenduft + CO₂ kam es bei den Probanden zu einer Veränderung der Geruchswahrnehmung; 96 % der Teilnehmer empfanden, dass die Wahrnehmung des Orangenduftes verändert wurde. Auf die Frage, an was sie der dargebotene Duft erinnere, wurde die fruchtige Note der Orange genannt, einige Antworten waren Fanta, Spülmittel und Zitrone (siehe Tabelle 8). Die Analyse der Veränderungen der Geruchswahrnehmung bei „Coolact P“ als DH-Stimulus ergab, dass 93 % der Teilnehmer der Ansicht waren, dass sich auch hier ihre Wahrnehmung des Orangenduftes verändert habe. Auf die Frage, an was sie der neue Duft erinnerte, wurde hauptsächlich die „Coolact P“-Note, wie z. B. Menthol, Mundspüllösung und Kaugummi, erwähnt. Den meisten Probanden kam der Stoff „Coolact P“ sehr bekannt vor und fast jeder konnte ein ihm vertrautes Produkt benennen, welches dasselbe Empfinden auslöste wie der Reiz in unserer Studie. Der Orangenduft in dem Duftstoffgemisch Orange und „Coolact P“ war den Probanden kaum aufgefallen, da der trigeminale Reiz die olfaktorische Komponente offenbar überlagert hat. Dies zeigt auch die Untersuchung von Kobal und Hummel (1991). Ziel deren Studie war es, die topografische

Verteilung chemosensorischer ereignisbezogener Potentiale in Bezug auf die Stimulation mit Nikotin zu analysieren. Nikotin löst je nach Konzentration die drei unterschiedlichen Empfindungen Duft, Brennen und Stechen aus. Nach dem Applizieren der unterschiedlichen Konzentrationen knapp über der Schwelle bewerteten die Probanden die oben genannten Empfindungen, außerdem wurde der zeitliche Verlauf dieser Empfindungen verfolgt. Es zeigte sich, dass die Intensitätsbewertungen von Brennen und Stechen mit steigender Reizkonzentration zunahm, die Geruchsempfindung jedoch bei der mittleren Konzentration am intensivsten war und mit einer weiteren Erhöhung der Reizkonzentration wieder abnahm, d. h., die Intensität der Geruchsempfindung ist nicht linear an die Konzentration gebunden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass das Geruchsempfinden durch das trigeminale System bei der höchsten Reizkonzentration unterdrückt wurde (Kobal und Hummel, 1991). Im Gegensatz dazu wurde nachgewiesen, dass auch trigeminale Stimulanzen durch olfaktorische stark unterdrückt werden können. So z. B. wird Propionsäure (stechender Geruch) durch Carvon dominiert (Laing und Wilcox, 1987). Auf unsere Studie übertragen bedeutet dies, dass in der Duftstoffmischung „Coolact P“ + Orangenduft der Orangenduft, also das olfaktorische System, durch das trigeminale System unterdrückt, wohingegen in der Duftmischung CO₂ + Orangenduft das trigeminale System dominiert wurde. Dies ist ein weiterer Hinweis, dass das CO₂ in unserer Studie wahrscheinlich eine zu geringe Konzentration hatte. In der Untersuchung von Stuck et al. (2007) zur Beurteilung der intranasalen chemischen Trigeminalverarbeitung wurde den Probanden im Schlaf CO₂ in einer Konzentration von 40 % verabreicht, was zuverlässig eine Erregungsreaktion auslöste, aber immer noch tolerierbar war und nur gelegentlich ein vollständiges Erwachen hervorrief (Stuck et al., 2007). In unserer Studie betrug die Konzentration von CO₂ nur 20 %, deshalb ist es fraglich, ob diese Konzentration ausgereicht hat, um eine adäquate Reaktion, die für den vorliegenden Fall sinnvoll ist, auszulösen. Es wird deutlich, dass die Wechselwirkung zwischen dem Riech- und dem Trigeminal-System nicht einfach ist und dass sowohl die Qualität als auch die Konzentration der einzelnen Stimulanzen eine zentrale Rolle spielen.

Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse, dass ein inkongruent trigeminal-olfaktorisches Stimulans eine Zunahme der Reaktion auf den nachfolgenden Stimulus hervorruft. Nun stellt sich die Frage, wie wir die Erkenntnis aus unserer Studie in das praktische Leben integrieren können. Dazu werde ich auf drei unterschiedliche Bereiche des Alltags eingehen. Als Erstes soll sich der Frage gewidmet werden, ob man Parfüm intensiver macht. Viele Menschen berichten darüber, dass ihr Parfüm nach dem Auftragen sehr schnell verfliegt und nicht mehr so intensiv riecht wie unmittelbar danach. Sie denken, dass die Intensität abnimmt, weil sie zu wenig aufgetragen haben, und machen den Fehler, dass sie gleich mehrere Sprühstöße verwenden, was für andere Menschen sehr störend sein kann. Was viele nicht wissen, ist, dass der Grund für die rasche Abnahme der Intensität die Habituation ihres eigenen

olfaktorischen Systems ist. Für uns als Träger des Parfüms hat dieser Duft keine lebensbedrohliche Konsequenz, so dass unser Gehirn sich an diesen Reiz habituiert und wir ihn schließlich nicht mehr wahrnehmen. Ganz anders verhält es sich, wenn eine andere Person an uns vorbeigeht. Sie nimmt unseren Duft mit der gleichen Intensität wahr wie wir unmittelbar nach dem Auftragen, da dieser für sie in dem Moment ein neuer und interessanter Reiz ist.

Wie kann man nun bewirken, dass man selbst den Duft länger wahrnehmen kann? In Hinblick auf diese Studie könnte man darauf schließen, dass die Habituation an das eigene Parfüm durch einen trigeminalen Reiz unterbrochen werden kann. Eine Möglichkeit wäre, sich für einen kurzen Augenblick einem erneuten starken trigeminalen Reiz auszusetzen, um die Habituation zu unterbrechen, eine andere, ein Menthol-Bonbon zu lutschen, um das Parfüm wieder wahrnehmen zu können oder diesem eine den Trigemini aktivierende Komponente hinzuzufügen.

Aktuell stark in den Medien vertreten ist die air-up®-Trinkflasche – „Geschmack nur durch Luft“ (Air-up, 2020). Dabei machen die Hersteller von der Fähigkeit des retronasalen Riechens Gebrauch. Beim retronasalen Riechen wird der Geruch eines Lebensmittels über den Rachenraum zum Riechzentrum in der Nase transportiert und die entstandene Aktivierung anschließend ans Gehirn weitergeleitet, wo der Geschmack wahrgenommen wird. Die air-up®-Flasche wird mit Wasser aufgefüllt und der Duft-Pod darauf gesteckt. Beim Trinken riechen wir an dem Duft-Pod und es entsteht das Gefühl, dass das Wasser einen Geschmack hat. Da 80 % des Geschmacks über das Riechsystem wahrgenommen werden, liegt es nahe, den Geschmack eines Lebensmittels über die Nase zu verstärken. Dies könnte für Patienten mit Geschmacksstörungen sehr sinnvoll sein. Aus unserer Studie geht hervor, dass die Co-Stimulation des olfaktorischen Systems mit einem trigeminalen Reiz die Intensitätsbewertungen beim Probanden erhöht. Möglich wäre es, den Lebensmitteln eine zusätzliche trigeminusaktivierende Komponente hinzuzufügen, die zu einer Verstärkung des Geschmacks führen könnte. Eine mögliche Studie könnte darin bestehen, zu testen, ob das Genießen eines Gerichts in Kombination mit Mineralwasser zu einem intensiveren Geschmack führt als mit stillem Wasser. Gibt es die Möglichkeit, Autofahrer mit Beduftung wachzuhalten? Viele Menschen müssen auch nach einem langen Arbeitstag eine weite Fahrt mit dem Auto in Kauf nehmen, um nach Hause zu kommen. So besteht die Gefahr, in einen Sekundenschlaf zu verfallen, der zu gefährlichen Unfällen führen kann. In vielen Studien wurde gezeigt, dass ein olfaktorisch-trigeminaler Reiz eine Steigerung der Aufmerksamkeit bewirkt. Es ist bekannt, dass gewisse ätherische Öle die Konzentration steigern, wie etwa Eukalyptus und Menthol. Im Handel gibt es bereits z. B. den „Wick Inhalierstift N – gegen eine verstopfte Nase“. Das Menthol aktiviert den N. trigeminus, wodurch je nach Konzentration ein Kühlen, Stechen, Brennen oder Kribbeln ausgelöst wird. Diese Empfindungen signalisieren dem Gehirn, dass

eine Gefahrenquelle vorhanden ist, was automatisch dazu führt, dass die Aufmerksamkeit steigt. Man könnte einen Duftapplikator in Autos installieren und Düfte, welche die Aufmerksamkeit steigern, darüber applizieren, um die Autofahrer vor einem Sekundenschlaf zu schützen.

6 Zusammenfassung

Das menschliche Geruchssystem wird durch zwei unabhängige neuronale Systeme vermittelt. Das olfaktorische System dient der Wahrnehmung eines Duftstoffes und wird selektiv nur durch wenige chemosensorische Stimulanzen wie z. B. Vanillin und Decansäure angeregt (Doty, 1978). Das trigeminale System hingegen vermittelt die Empfindungen Stechen, Brennen und Kribbeln, weshalb diese auch von anosmischen Personen wahrgenommen werden können. Die primäre Funktion des trigeminalen Systems besteht darin, die Inspiration von potentiell lebensbedrohlichen Substanzen zu unterbrechen, indem es Reflexe wie Husten und Niesen auslöst (Silver, 1991).

Ziel der Studie war es, herauszufinden, ob die wiederholte olfaktorische Reizung mit Orangenduft zu einer Habituation führt und diese Habituation im Anschluss durch eine Co-Stimulation des olfaktorischen und trigeminalen Systems mit „Coolact P“ (L-Isopulegol) + Orangenduft oder CO₂ + Orangenduft in Form einer Dishabituation unterbrochen werden kann. Des Weiteren galt es, die Frage zu klären, ob die Darbietung eines kongruenten Duftgemisches, hier CO₂ und Orangenduft oder eines inkongruenten Duftgemisches „Coolact P“ und Orangenduft, die Dishabituation positiv oder negativ beeinflusst. An der Studie nahmen insgesamt 25 gesunde und normosmische Probanden teil. Das durchschnittliche Alter betrug dabei 27 Jahre.

In unserer Studie verwendeten wir für die olfaktorisch-trigeminale Co-Stimulation die Substanzen CO₂ und das „Coolact P“ zur Reizung des N. trigeminus. Orangenduft diente der olfaktorischen Reizung und sollte die Habituation hervorrufen. Beide Substanzen wurden dem Probanden als ein Duftstoffgemisch dargeboten.

Die zu untersuchenden Variablen waren zum einen die subjektive Intensitätsbewertung jedes einzelnen Reizes durch den Probanden und zum anderen die Amplituden und Latenzen der olfaktorisch ereigniskorrelierten Potentiale (OEP). Die aufeinander folgende wiederholte olfaktorische Reizung der Nasenschleimhaut mit Orange führte zu einer Habituation. Bei den Amplituden der OEPs konnte eine signifikante Steigerung der Antwortamplitude nach der Stimulation mit Orange + „Coolact P“ gezeigt werden. Dieser Effekt konnte sowohl bei den elektrophysiologischen Messungen als auch bei den subjektiven Intensitätsbewertungen durch den Probanden deutlich nachgewiesen werden. Dies korrespondiert auch mit der Vorstellung, dass elektrophysiologische Messungen in Form einer EEG-Ableitung sensibler sind als psychophysische Messungen. Die erhaltenen größeren Amplituden beim Vergleich der Reize D und H3 zeigten, dass es nach einer trigeminalen Co-Stimulation mit Orange+„Coolact P“ zu einer Dishabituation kam. Interessanterweise war die Dishabituation für „Coolact P“ als inkongruentes Stimulans am ausgeprägtesten, jedoch nur mit der Tendenz

für das kongruentere Stimulans CO₂, das üblicherweise in Limonaden wie Fanta oder Orangina, also in Kombination mit Orangenduft vorkommt. Die stärkere Dishabituation durch die Substanz „Coolact P“ lag wahrscheinlich daran, dass der inkongruente Stimulus die Aufmerksamkeit des Probanden steigerte, um ihn auf eine potentielle Gefahr hinzuweisen, da dieser Reiz mit „Coolact P“ eine stärkere Empfindung bei dem Probanden auslöste, als der Reiz mit CO₂ und Orange, was an den höheren Intensitätsbewertungen zu sehen ist.

Zusammenfassend kann man festhalten, dass die in der Studie gewonnenen Ergebnisse unsere Hypothese, die Habituation könne durch olfaktorisch-trigeminaler Co-Stimulation unterbrochen werden, bestätigen. Des Weiteren lösen inkongruente Reize eine stärkere Dishabituation aus als kongruente Reize.

7 Summary

The human olfactory system is mediated by two independent neural systems.

The olfactory system has the function to perceive fragrances and is selectively stimulated only by a few chemosensory stimulants such as Vanillin and decanoic acid (Doty, 1978). The trigeminal system, on the other hand, conveys the sensations of stinging, burning and tingling, which can also be felt by anosmic people. The primary function of the trigeminal system is to interrupt the inspiration of potentially life-threatening substances by triggering reflexes such as coughing and sneezing (Silver, 1991).

The aim of the study was to find out whether the repeated olfactory stimulation with orange fragrance leads to a habituation and if this habituation can be stopped afterwards by co-stimulating the olfactory and trigeminal system with "Coolact P" (L-isopulegol) + orange fragrance or CO₂ + orange fragrance can be interrupted in the form of a dishabituation. It was also necessary to clarify the question of whether the presentation of a congruent fragrance mixture, here CO₂ and orange fragrance or an incongruent fragrance mixture "Coolact P" and orange fragrance had a positive or negative effect on the dishabituation. A total of 25 healthy and normosmic subjects took part in the study. The average age was 27 years.

In our study, we used the substances CO₂ and "Coolact P" to stimulate the trigeminal nerve as the olfactory-trigeminal co-stimulation. Orange fragrance was used for olfactory irritation and was supposed to cause the habituation. Both substances were presented to the test person as a mixture of fragrances.

The variables to be examined were, on the one hand, the subjective intensity assessments of each individual stimulus by the test subject and, on the other hand, the amplitudes and latencies of the olfactory event-related potentials (OEP). The successive repeated olfactory irritation of the nasal mucosa with orange led to a habituation. The amplitudes of the OEPs showed a significant increase in the response amplitude after stimulation with Orange + "Coolact P". This effect could be clearly demonstrated by both the electrophysiological measurements and the subjective intensity assessments by the test subject. This also corresponds to the idea that electrophysiological measurements in the form of an EEG lead are more sensitive than psychophysical measurements. The larger amplitudes obtained when comparing stimuli D and H3 showed that after a trigeminal co-stimulation with Orange + "Coolact P" there was a dishabituation. Interestingly, the dishabituation was most pronounced for "Coolact P" as an incongruent stimulant, but only with the tendency for the congruent stimulant CO₂, which usually occurs in lemonades such as Fanta or Orangina, i.e. in combination with orange fragrance. The stronger dishabituation due to the substance "Coolact P" was probably due to the fact that the incongruent stimulus increased the subject's attention

to indicate a potential danger, since this stimulus with "Coolact P" triggered a stronger sensation in the subject than the stimulation with CO₂ and orange, which can be seen from the higher intensity ratings.

In summary, it can be stated that the results obtained in the study confirm our hypothesis that the habituation can be interrupted by olfactory-trigeminal co-stimulation. Furthermore, incongruent stimuli trigger a stronger dishabituation than congruent stimuli.

8 Verzeichnisse

8.1 Literaturverzeichnis

Albrecht J, Wiesmann M, (2006): Das olfaktorische System des Menschen – Anatomie und Physiologie. *Nervenarzt*. 77:931-939.

Aumüller, G., Aust, G., Doll, A. (2010): *Duale Reihe Anatomie*. Georg Thieme Verlag.

Bettina M. Pause, Bernfried Sojka and Roman Ferstl (1996): Central Processing of Odor Concentration is a Temporal Phenomenon as Revealed by Chemosensory Event-Related Potentials (CSERP), Institute of Psychology, Christian-Albrechts-Universität, Kiel, Germany *Senses* 22:9-26.

Bevan S, Forbes CA, Winter J (1993): Protons and capsaicin activate the same ion channels in rat isolated ganglion neurones. *Journal of Physiology* 459:401

Bevan, Yeats (1991): Protons activate a cation conductance in a subpopulation of rat dorsal root ganglion neurones. *The Journal of Physiology*, 433:145-161.

Cain WS (1976): Olfaction and the common chemical sense: some psychophysical contrasts. *Sens Process* 1:57-67.

Cain WS, Murphy CL (1980): Interaction between chemoreceptive modalities of odor and irritation. *Nature* 284:255-257.

Cometto-Muniz JE, Cain WS, Hudnell HK (1997): Agonistic effects of airborne chemicals in mixtures: odor, nasal pungency and eye irritation. *Perception and Psychophysik*; 59:665-674.

Dalton P (2000): Psychophysical and behavioral characteristics of olfactory adaptation. *Chemical Senses* 25:487-92.

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

Elsberg CA, Levy I, Brewer ED (1935): The sense of smell VI. The trigeminal effects of odorous substances. Bull Neurology Institute N Y, 4:270-285.

Evans J et al. (1993): Short communication Suggestions for collection and reporting of chemosensory (olfactory) event-related potentials, Chemical Senses 6:751-756.

Finger TE, Getchell ML, Getchell TV, Kinnamon JC (1990): Afferent and efferent functions of peptidergic innervation of the nasal cavity. In: Green BG, Mason JR, Kare MR (Hrsg.) Chemical Senses, 2: Irritation. Marcel Dekker, New York:1-20.

Finkenzeller P (1966): Kurzmitteilungen und Methodisch gemittelte EEG-Potentiale bei olfaktorischer Reizung, Physiologisches Institut der Universität Erlangen, Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere 292:76-80.

Frasnelli, Schuster, Hummel T (2007): Interactions between Olfaction and the Trigeminal System: What Can Be Learned from Olfactory Loss. Cerebral Cortex, 17: 2268-2275.

Gottfried JA (2006): Smell: Central Nervous Processing. In: Hummel T, Welge-Lüssen A, Hrsg. Advances in Oto-Rhino-Laryngology, Basel: KARGER:44-69.

Gudziol H, Gramowski KH (1987): Respirations-Olfaktometrie – eine objektivierende Methode zur quantitativen Bewertung einer Hyposmie. Laryngologie rhinologie otologie, 66:570-572.

Hoshino T, Usui N (1987): Objective olfactometry by the method of recordings of respiratory resistances. Jibiinkoka 90:516-522.

Hummel T (1998): Trigeminal chemosensory function in patients with olfactory disorders. International Journal of Psychophysiology 30: 36

Hummel T (2000): Assessment of intranasal trigeminal function. International Journal of Psychophysiology 36:147-155.

Hummel T, Barz S, Pauli E, Kobal G (1998a): Chemosensory event-related potentials change with age. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, 108:208-217.

Hummel T, Klimek L, Welge-Lüssen A, Wolfensberger M, Gudziol H, Renner B et al. (2000): Chemosensorisch evozierte Potentiale zur klinischen Diagnostik von Riechstörungen. HNO; 48:481-485.

Hummel T, Livermore A (2002): Intranasal chemosensory function of the trigeminal nerve and aspects of its relation to olfaction. International Archives of Occupational and Environmental Health 75:305-313.

Hummel T, Schiessl C, Wendler J, Kobal G (1996): Peripheral electrophysiological responses decrease in response to repetitive painful stimulation of the human nasal mucosa. Neuroscience Letters, 212:37-40.

Hummel T, Welge-Lüssen A (2008b): Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie und therapeutische Ansätze. Georg Thieme Verlag.

Humphrey G (1933): The nature of learning in its relation to the living system. Harcourt, Brace; New York

Huttunen P & Meriläinen J. (1986): Applications of multivariate techniques to infer limnological conditions from diatom assemblages. In: Smol JP, Battarbee RW, Davis R.B. & Meriläinen J. (eds.), Diatoms and lake acidity, Dr W. Junk Publishers, Dordrecht, pp. 201-211.

Inokuchi A, Kimmelman CP, Snow JB (1993): Convergence of olfactory and nasotrigeminal inputs on possible trigeminal contributions to olfactory responses in rat thalamus. Eur. Arch. Otorhinolaryngol. 249:473, /477

Jacob TJ (2003): Psychophysical evaluation of responses to pleasant and mal – odor stimulation in human subjects; adaptation, dose response and gender differences. International journal of Psychophysiology:68-80.

Jean-Proyet et al. (2000): Emotional Responses to Pleasant and Unpleasant Olfactory, Visual, and Auditory Stimuli: a Positron Emission Tomography Study, Journal of Neuroscience 20:7752-7759.

Kendall-Reed M, Walker JC (1996): Human respiratory responses to odorants. Chemical Senses, 21:486.

Kettenmann B, Jousmaki V, Portin K, Salmelin R, Kobal G, Hari R (1996): Odorants activate the human superior temporal sulcus. *Neurosci. Lett.* 203:143-145.

Kirk-Smith MD, Booth DA (1987): Chemoreception in human behaviour: an experimental analysis of the social effects of fragrances. *Chemical Senses*, 12: 159–166.

Kobal G, Hummel C (1988): Cerebral chemosensory evoked potentials elicited by chemical stimulation of the human olfactory and respiratory nasal mucosa. *Electroencephalography and clinical Neurophysiology* 71:241-250.

Kobal und Hummel (1991): Chemosensory event-related potentials in man: relation to olfactory and painful sensations elicited by nicotine, *Department of Pharmacology and Toxicology*, 84:192-195.

Kobayashi T, Sakai N, Kobayakawa T, Akiyama S, Toda H, Saito S (2007): Effects of Cognitive Factors on Perceived Odor Intensity in Adaptation/Habituation Processes: from 2 Different Odor Presentation Methods. *Chemical Senses* 33:163-171.

Komai, Bryant (1993): Acetazolamide specifically inhibits lingual trigeminal nerve responses to carbon dioxide. *Brain Res*, 612:122-129.

Krauel K, Pause BM, Sojka B, Schott P, Ferstl R (1998): Attentional modulation of central odor processing. *Chemical Senses* 23:423-432

Laing DG, Willcox ME (1987): An investigation of the mechanisms of odor suppression using physical and dichorhnic mixtures. *Behavioural Brain Research*, 26:79-87.

Lippert H (2003): *Lehrbuch Anatomie*. München: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH: p. 896.

Lötsch J, Marchl R, Kobal G (1997): The influence of stimulus duration on the reliability of pain ratings after nociceptive stimulation of the nasal mucosa with CO₂. *Eur J Pain*, 1:207-213.

Mackenzie RA, Burke D, Skuse NF, Lethlean AK (1975): Fiber function and perception during cutaneous nerve block. *Journal of Neurologie, Neurosurgery Psychiatry*, 38:865-873.

Mark S Wuttke & Laurie Tompkins (2000): Olfactory Adaptation in Drosophila Larvae, *Journal of Neurogenetics* 14:43-62.

McNamara AM, Magidson PD, Linster C, Wilson DA, Cleland TA (2008): Distinct neural mechanisms mediate olfactory memory formation at different timescales. *Learning and Memory* 15:117-125.

Meisami E, Mikhail L, Baim D, Bhatnagar KP (1998): Human Olfactory Bulb: Aging of Glomeruli and Mitral Cells and a Search for the Accessory Olfactory Bulba. *Annals of the New York Academy of Sciences* 855:708-715.

Milnik V (2009): Anleitung zur Elektrodenplatzierung des internationalen 10-20-Systems, Neurologische Klinik, St.-Augustinus-Krankenhaus. *Das Neurophysiologie Labor* 31:1-35.

Mücke W, Lemmen C (2010): Duft und Geruch: Wirkung und gesundheitliche Bedeutung von Geruchsstoffen, ecomed Medizin, Heidelberg, München, Landsberg, Frechen, Hamburg, S. 33-35.

Müller W, Frings S, & Möhrle F (2015): Tier- und Humanphysiologie. Berlin: Springer Verlag. S. 526, 538

Oldfield RC (1971): The assessment and analysis of handedness: The Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 9:97-113.

Patricia J Bulsing et al. (2007): Influence of chemosensory pain-expectancy on olfactory event-related potentials, *NeuroImage* 38:164-170.

Rankin, Abrams, & Barry (2008): Habituation revisited: An updated and revised description of the behavioral characteristics of habituation. *Neurobiology of Learning and Memory* 92:135-138.

Ranking H et al. (1988): Behavioral dissociation of dishabituation, sensitization and inhibition in *Aplysia*, *Science*, 241:210-213.

Reed RR (1992): Signaling pathways in odorant detection. *Neuron* 8:205-209.

Schäfer K, Braun HA, Rempe L (1991): Discharge pattern analysis suggests existence of a low-threshold calcium channel in cold receptors. *Experientia* 47:47-50.

Schandry R (1998): Habituation. In: Schandry R (Hrsg.): Lehrbuch Psychophysiologie. Psychologie Verlags Union, Weinheim, S. 60-70.

Schnieper I & Wolfensberger M (1999): Sniffin' Sticks®: Ein neues Instrument zur Geruchsprüfung im klinischen Alltag, HNO, 47:629-636.

Schünke, Schulte, Schumacher (2014): Prometheus, Kopf, Hals und Neuroanatomie, Thieme Verlag.

Silver WL (1991): Physiological factors in nasal trigeminal chemoreception. In: Green BG, Mason JR, Kare MR (Hrsg.): Chemical Senses, 2, Irritation. Marcel Dekker, New York:21-37.

Steen KH, Reeh PW, Anton F, Handwerker HO (1992): Protons selectively induce lasting excitation and sensitization of nociceptors in rat skin. Journal of Neuroscience, 12:86-95.

Takasago Co. (1993): Material safety data sheet for coolant agent
<https://www.vantagegrp.com/en-US/Product/Page/76f480d6-703b-4f49-91d9-c7c1b22ecc9b/Coolact-P>, Sensates, Heat it up & cool it down:1-4

Thompson (2009): Habituation: A history. Neurobiology of Learning and Memory, 92:127-134.

Thompson RF & Spencer WA (1966): Habituation: A model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior. Psychological Review 73:16-43.

Trepel, M (1999): Neuroanatomie, Struktur und Funktion (2. Auflage). Urban & Fischer Verlag, Kapitel 2.3.1, 2.3.6. 13.3.

Vaupel, Schaible, Mutschler (2015): Anatomie und Physiologie, Pathophysiologie des Menschen, 7. Auflage.

Weise, Stefanie (2007): Untersuchung olfaktorischer Informationsverarbeitung mittels Zeit-Frequenz-Analyse: S. 15

Weismann M, Yousry I, Heuberger E, Nolte A, Ilmberger J, Kobal G, Yousry TA, Kettenmann B, Naidich TP (2001): Functional magnetic resonance imaging of human olfaction. Neuroimaging Clinics of North America 11:237-250, VIII.

Wilson DA (2009): Olfaction as a model system for the neurobiology of mammalian short-term habituation. *Neurobiology of Learning and Memory* 92:199–205.

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anatomie der knöchernen lateralen Wand der rechten Nasenhöhle nach	6
Abbildung 2: Darstellung der unterschiedlichen Ebenen der Duftwahrnehmung von der Nase über die Rezeptoren bis zum Bulbus olfactorius	7
Abbildung 3: Ablauf der Signaltransduktion in der Zellmembran der ORN-Zilien auf molekularer Ebene.....	8
Abbildung 4: Schematische Darstellung eines OEP modifiziert nach Stefanie Weise, 2017	18
Abbildung 5: Chronologische Darstellung des Versuchsablaufes.	21
Abbildung 6: Testbatterie für die Identifikationstestung „Sniffin' Sticks“ der Firma Burghart und die Karten mit den Abbildungen der Auswahlmöglichkeiten.....	23
Abbildung 7: Schematische Darstellung der Ableitpositionen FZ, CZ, PZ, C3 und C4 auf der Schädeloberfläche nach dem 10/20-System	26
Abbildung 8: Strukturformel von „Coolact P“(Isopulegol) nach der Firma Takasago	28
Abbildung 9: Detailansicht über die verwendeten Duftgemische und ihrer Konzentration	29
Abbildung 10: Proband bei der Dishabituationsuntersuchung.....	30
Abbildung 11: Darstellung der unterschiedlichen Klassen	31
Abbildung 12: Stimulationsblockdesign	32
Abbildung 13: Vergleich der Intensitätsbewertungen der einzelnen Reize in den Klassen...	35
Abbildung 14: Zeigt die Mittelwerte der Spitze-Spitze-Amplituden des N1P2. D und DH unterscheiden sich nicht signifikant von H3.	37
Abbildung 15: Vergleich der Intensitätsbewertung zwischen H3 (Orange) und D (Orange) bei DH (Orange + Orange) für alle 30 Stimulationsblöcke in der Klasse 1.....	38

Abbildung 16: Die Mittelwerte der Spitze-Spitze-Amplituden von N1P2 zeigen keinen Effekt für D und DH im Vergleich zu H3.....	39
Abbildung 17: Vergleich der Intensitätsbewertungen in den drei unterschiedlichen Klassen	40
Abbildung 18: Zeigt die Mittelwerte der Spitze-Spitze- Amplituden von N1P2. D.- DH ist signifikant höher als H3	41
Abbildung 19: Vergleich der Intensitätsbewertungen zwischen H3 (Orange) und D (Orange) bei DH (Orange + „Coolact P“) für alle 3 Stimulationsblöcke.	43
Abbildung 20: Prozentuale Darstellung des von den Probanden evaluierten Duftes.....	44
Abbildung 21: Vergleich der Intensitätsbewertungen zwischen H3 (Orange) und D(Orange) bei DH (Orange +CO ₂) für alle drei Klassen.	45

8.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Antwortmöglichkeiten des Identifikationstests..	24
Tabelle 2:Übersicht der Elektrodenpositionen, gerade Zahlen: rechte Hemisphäre; ungerade Zahlen: linke Hemisphäre	26
Tabelle 3: Zeigt die Mittelwerte (M), Standardabweichung (SD) und Anzahl (N) der subjektiven Intensitätsbewertungen der 5 präsentierten Reize H1-D in den drei Klassen.....	36
Tabelle 4: Ergebnisse des Vergleichs zwischen den drei Versuchsbedingungen	36
Tabelle 5: Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD) der N1P2-Amplituden des DH=Orange. Die Anzahl pro Mittelung (N) betrug 20.....	37
Tabelle 6: Zeigt die Mittelwerte (M) und Standardabweichungen (SD) der N1P2-Amplituden des Reizes DH=Orange+CO ₂ . Die Anzahl (N) betrug 17.....	39
Tabelle 7: Zeigt die Mittelwerte (M) und Standardabweichungen (SD) der N1P2-Amplituden des ReizesDH= „Coolact P“. Die Anzahl (N) beträgt 20.....	42
Tabelle 8: Anzahl der Probanden, welche die präsentierten Düfte aus ihrem Alltag kennen und definieren konnten.....	45