

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

**Riechgeschwindigkeit – Untersuchung der temporalen und zentralen Verarbeitung
olfaktorischer Reizpaare mit kurzem Interstimulusintervall**

Dissertationsschrift
zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)
vorgelegt
der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus
der Technischen Universität Dresden
von

Sandra Wernecke
aus Berlin

Dresden, 2016

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	4
<hr/>	
1. EINLEITUNG	6
1.1. DAS OLFAKTORISCHE SYSTEM	7
1.1.1. ANATOMIE UND PHYSIOLOGIE DES OLFAKTORISCHEN SYSTEMS	7
1.2. TRIGEMINALES SYSTEM	11
1.3. LATERALISATION	12
1.4. OLFAKTORISCH EVOZIERTE POTENTIALE (OERP)	12
1.5. AUFGABENSTELLUNG	14
<hr/>	
2. MATERIAL UND METHODEN	15
2.1. STUDIENDESIGN	15
2.2. PROBANDENKOLLEKTIV UND AUSWAHLKRITERIEN	16
2.3. DUFTSTOFFE	17
2.4. SCREENINGTEST	17
2.4.1. „SNIFFIN‘ STICKS“	17
2.4.2. LATERALISATIONSTEST	18
2.5. OLFAKTOMETER - AUFBAU	20
2.6. ERSTE VERSUCHSREIHE	22
2.6.1. EINSTELLUNGEN AM OLFAKTOMETER	23
2.6.2. VELOPHARYNGEALER VERSCHLUSS	24
2.6.3. VERSUCHSABLAUF	25
2.7. ZWEITE VERSUCHSREIHE – ABLEITUNG OERP BEI REIZPAAREN MIT KURZEN ISI	26
2.8. EEG - DATENANALYSE	28
2.9. STATISTISCHE AUSWERTUNG	29
<hr/>	
3. ERGEBNISSE	31
3.1. PROBANDENKOLLEKTIV	31
3.2. „SNIFFIN‘ STICKS“ UND LATERALISATIONSTEST	31
3.3. INTENSITÄTBEWERTUNG	32
3.4. INTERAKTION VON GESCHLECHT UND INTERSTIMULUSINTERVALL AUF DIE WAHRNEHMUNG VON REIZPAAREN	33
3.5. EINFLUSS UNTERSCHIEDLICHER DUFTSTOFFKONZENTRATION UND ISI AUF DIE TEMPORALE WAHRNEHMUNG VON REIZPAAREN	33
3.6. ZWEITER VERSUCHSABSCHNITT	35
3.7. ERSTER REIZ (ALLE) VS. ZWEITER REIZ (ALLE)	36
3.8. ERSTER REIZ (50% DER REIZE) VS. ZWEITER REIZ (WAHRGENOMMEN)	38
3.9. ERSTER REIZ (50% DER REIZE) VS. ZWEITER REIZ (NICHT WAHRGENOMMEN)	41
3.10. ZWEITER REIZ (WAHRGENOMMEN) VS. ZWEITER REIZ (NICHT WAHRGENOMMEN)	45
<hr/>	
4. DISKUSSION	51
4.1. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	51
4.1.1. EINFLUSS VON DUFTSTOFFKONZENTRATION UND ISI AUF OLFAKTORISCHE REIZPAARE	51
4.1.2. ABLEITUNG OERP BEI OLFAKTORISCHEN REIZPAAREN	52
4.1.2.1. OERP – LATENZVERÄNDERUNGEN FÜR N1 UND LP	55
4.1.2.2. OERP – AMPLITUDENVERÄNDERUNGEN FÜR N1 UND LP	56

4.2. DISKUSSION DER METHODEN	57
5. ZUSAMMENFASSUNG/SUMMARY	59
5.1. DEUTSCH	59
5.2. ENGLISCH	60
6. VERZEICHNISSE	62
6.1. LITERATURVERZEICHNIS	62
6.2. ABBILDUNGSVERZEICHNIS	72
6.3. TABELLENVERZEICHNIS	73
7. ANHANG	74
7.1. EINWILLIGUNGSERKLÄRUNG	FEHLER! TEXTMARKE NICHT DEFINIERT.
7.2. SNIFFIN' STICKS – IDENTIFIKATIONSTEST	74
7.3. DANKSAGUNG	FEHLER! TEXTMARKE NICHT DEFINIERT.
7.4. LEBENSLAUF	FEHLER! TEXTMARKE NICHT DEFINIERT.
7.5. EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG	FEHLER! TEXTMARKE NICHT DEFINIERT.

Abkürzungsverzeichnis

A

Abb. Abbildung

B

bzgl. bezüglich

C

C Control

CO₂ Kohlenstoffdioxid

CSERP Chemosensorisch evozierte Potentiale

D

D Dilution

E

EEG Elektroenzephalogramm

EOG Elektro-Olfaktogramm

H

H₂S Schwefelwasserstoff

G

GLMM Generalized linear mixed model

I

ISI Inter - Stimulus - Intervall

ITI Inter - Trial - Interval

M

ME Main Exhaust

ms Millisekunden

N

N Nervus

ns nicht signifikant

O

OERP	Olfaktorisch evoziertes Potential
O	Odorant
ORN	Olfaktorische Rezeptorneurone

P

PEA	Phenylethylalkohol
-----	--------------------

S

s	Sekunde
s.	siehe
SD	Standardabweichung

T

Tab.	Tabelle
------	---------

Z

ZNS	Zentralnervensystem
-----	---------------------

1. Einleitung

„Nichts ist im Bewusstsein, was nicht die Sinne durchlebt hat“ (Aristoteles). Wie viele Sinne wir Menschen eigentlich haben, wird auch in der modernen Sinnesphysiologie eine Interpretationsfrage bleiben (Schmidt et al., 1976). Unumstritten zählen zu den klassischen fünf Sinnesmodalitäten das Sehen, das Hören, das Schmecken, das Tasten und nicht zu vergessen das Riechen.

Viele Jahre wurde der Geruchssinn im Zentrum der Forschung vernachlässigt, da man ihm zunächst nur eine rudimentäre Rolle zusprach (Lorig, 2000). Doch diesem Stellenwert wird der Geruchssinn nicht gerecht, wenn man bedenkt, dass sein Verlust oder partielle Ausfälle mit Depression, Essstörung oder Störung der sexuellen Appetenz einhergehen können (Costanzo et al., 1995; Damm et al., 2004; Hummel et Nordin, 2005). Betrachtet man schwerwiegende Krankheitsbilder wie das idiopathische Parkinson-Syndrom (IPS), so tritt bei mehr als 96% der Patienten ein Verlust der Riechleistung ein (Haehner et al., 2009b). Zudem konnte eine amerikanische Studie den Zusammenhang zwischen nachlassendem Riechvermögen und einer erhöhten Sterblichkeitswahrscheinlichkeit im 5-Jahreszeitraum aufzeigen (Pinto et al., 2014).

Kurz gesagt, Riechstörungen sind häufig, und deren Auswirkungen können fatal sein. So geht man davon aus, dass in der deutschen und schwedischen Allgemeinbevölkerung zu etwa 20% Riechstörungen auftreten (Brämerson et al., 2004; Vennemann et al., 2008). Gleichzeitig suchen in Deutschland circa 79 000 Patienten mit Riechstörungen ärztlichen Rat (Damm et al., 2004).

Dennoch wird in der klinischen Diagnostik die Prüfung des Geruchssinns oft vernachlässigt bzw. nur eingeschränkt untersucht. Ein Grund liegt hier in der Schwierigkeit der Durchführung einer zuverlässigen und aussagekräftigen, objektivierenden Untersuchung, da der Geruchssinn einer Vielzahl von exogenen und endogenen Einflussfaktoren unterliegt (Doty et Hummel, 1995).

Während Mitte der 70er Jahre die physikalischen Eigenschaften der adäquaten Reizdarbietung für die erstgenannten Sinnesmodalitäten weitestgehend definiert waren (Autrum et Spreng, 1966), gab es für den Geruchssinn lediglich einzelne tabellarische Zusammenfassungen und bis dato kein objektives Verfahren zur Erfassung qualitativer und quantitativer Geruchsleistung (Herberhold, 1973).

Neben psychophysischen Verfahren, wie den „Sniffin‘ Sticks“ (Hummel et al., 1997) und dem „University of Pennsylvania Smell Identification Test – UPSIT“ (Doty et. al, 1978) können objektive Testverfahren zur Ableitung von olfaktorisch evozierten Potentialen (OERP) Abhilfe schaffen (Hummel et al., 2000).

Die ersten experimentellen und diagnostischen Versuche zur Ableitung eines OERP nach Geruchsreizung, beschrieben Finkenzeller (1966) sowie Allison und Golf (1967), Mrowinski (1970) und Herberhold (1972, 1973), wobei es ihnen nicht möglich war, einen determinierten, exakt reproduzierbaren Geruchsreiz darzubieten.

Diesbezüglich setzten Kobal und Plattig 1978 einen Meilenstein, indem sie eine Reizapparatur entwickelten, mit der es möglich war, schnelle, zeitlich definierte und artefaktfreie Geruchsreize, ohne Mitaktivierung einer anderen Sinnesmodalität zu erzeugen. Vergleichsweise zu anderen Sinnesmodalitäten, wie z.B. dem Sehen, können olfaktorische Reize nur sehr langsam verarbeitet werden (Cain, 1976).

Wenn dem Auge beispielsweise Lichtreize mit langen Pausen präsentiert werden, so wird jeder Lichtblitz zunächst separat wahrgenommen. Mit steigender Frequenz geht dieser Eindruck verloren, und der einzelne Lichtreiz wird als Flackern und schließlich als Flimmern wahrgenommen. Man spricht auch von der Flimmerverschmelzungsfrequenz. Das Auge kann die Reize nicht mehr getrennt voneinander wahrnehmen, sondern hat den Eindruck eines Dauerlichtes (Kleberger, 1960; Keidel, 1971). Die Grenze liegt für das skotopische Sehen zwischen 22 bis 25 Hz und für das photopische Sehen sogar bei maximal 90 Hz (Schmidt et Lang, 2007).

Im Vergleich benötigt unser Geruchssinn ein Interstimulusinterval (ISI) von mindestens 2000 bis 2500 ms für die Verarbeitung von Reizpaaren gleichen Reizes, damit sie als zwei separat wahrgenommen werden können (Wang et al., 2002; Croy et al., 2014a).

In den letzten Jahren wurde viel zum Thema olfaktorische Reizverarbeitung untersucht. Nichtsdestotrotz ergeben sich weiterhin offene Fragen zum Thema der temporalen Verarbeitung olfaktorischer Reizpaare unter dem Einfluss der Länge des ISI. Die vorliegende Arbeit hat sich diesem Thema angenommen und versucht mithilfe des Olfaktometers und Elektroenzephalogramms (EEG) weitere Erkenntnisse zu gewinnen.

1.1. Das olfaktorische System

1.1.1. Anatomie und Physiologie des olfaktorischen Systems

Das Grundgerüst der Nase wird durch den knöchernen Anteil des Os nasale, dem Processus frontalis der Maxilla, sowie den paarig angelegten Cartilago alares majores,- minores und Cartilago nasi lateralis gebildet. Die Nasenflügel sind aus einem Knorpelgerüst zusammengesetzt, dem sogenannten Crus mediale und Crus laterale, die die Form und Stabilität der Nasenlöcher und - spitze bestimmen. Das Septum nasi, mit seinem vorderen knorpeligen und hinteren knöchernen Abschnitt, teilt die Nasen in zwei Haupthöhlen. Der mediale Wandanteil der Nasenhaupthöhle ist glatt begrenzt, wohingegen der laterale Anteil

durch die der Muscheln (Conchae nasales superior, media, inferior) geteilt wird. Die Choanen bilden die hintere Begrenzung der Nasenhöhle, mit Verbindung in den Nasopharynx (Schünke et al., 2006; Probst et al., 2008). Die laterale Nasenwand setzt sich aus dem Os ethmoidale, der Maxilla, dem hinteren Abschnitt des Os palatinum und dem Processus pterygoideus zusammen (Probst et al., 2008).

Die Riechschleimhaut (Regio olfactoria) ist mit einer Fläche von circa 6 cm² im vorderen Nasendach und der gegenüberliegenden Nasenscheidewand lokalisiert, bestehend aus der Lamina propria und einem mehrreihigen hochprismatischen Epithel mit vier Zelltypen: den Sinnes-, Basal-, Stütz- und Mikrovillizellen (Leopold et al., 2000; Trepel, 2011). Die Schleimhaut beherbergt die meisten Geruchsrezeptoren, die für die Geruchswahrnehmung wichtig sind. Im Bereich des Nasenseptums, den Nasenseitenwänden und den Conchae nasales befindet sich die sogenannte Regio respiratoria mit der Funktion, die eingeatmete Luft zu erwärmen und zu befeuchten (Asan, 2004; Schünke et al., 2006). Auf der Epitheloberfläche befinden sich sogenannte Bowmandrüsen. Diese kugeligen, serösen Drüsen produzieren einen Schleim, der spezielle Proteine enthält, die es möglich machen, Duftstoffe reversibel zu binden (Hummel et Welge-Lüssen, 2008a; 2008b). Die sensible Versorgung der Riechschleimhaut erfolgt über zwei Äste des Nervus (N.) trigeminus, der N. ophthalmicus und N. maxillaris.

Insgesamt enthält das Epithel neben Blutgefäßen und Bindegewebe die:

- Olfaktorischen Rezeptorneurone (ORN)
- Basalzellen
- Stützzellen
- Mikrovillizellen (Lüllmann-Rauch et al., 2003).

Die wichtigsten Zelltypen sind neben den ORN die Basalzellen. Es handelt sich hier um die Stammzellen, aus denen sich die ORN alle 30 bis 60 Tage neu entwickeln (Trepel, 2011). Stützzellen haben die Funktion, die Dendriten der ORN von äußeren Einwirkungen zu isolieren, Duftstoffe zu deaktivieren und Zellreste zu eliminieren (Asan, 2004). Für die Wahrnehmung von Gerüchen bedarf es einer Vielzahl chemischer Eigenschaften. So sollten die einzelnen Duftmoleküle nicht nur eine hohe Oberflächenaktivität haben, sondern flüchtig, wasser- und lipidlöslich sein sowie ein niedriges Molekulargewicht haben (Firestein, 2001). Bei einem Geruch handelt es sich in der Regel um eine Kombination aus verschiedenen Duftstoffen (Amoore, 1970; Malnic et al., 1999).

Abb.1) Schematischer Aufbau des Riechepithels (mod. nach Lüllmann-Rauch, 2006)

Die Duftmoleküle werden ortho- sowie retronasal zum Riechepithel geleitet und absorbiert. Das Riechepithel besteht aus einem mehrreihigen, hochprismatischen Epithel mit den Sinnes-, Stütz- und Basalzellen. Am apikalen Ende der ORN befinden sich Kinozilien. An diese feinen Riechhärchen binden sich die Duftmoleküle und lösen eine Signaltransduktion aus. D.h. der biochemische Impuls wird in ein elektrochemisches Signal umgewandelt (Hahn et al., 2003; Lüllmann-Rauch, 2006, Trepel, 2011).

Mit jedem Atemzug nehmen wir ortho- und retronasal Duftmoleküle auf, welche zum Riechepithel geleitet und in der Riechschleimhaut absorbiert werden (Hahn et al., 1993). Über sogenannte „odorant binding proteins“ (OBP) werden die Duftstoffe gebunden und zum entsprechenden Rezeptor transportiert (Tegoni et al., 2000). Die Geruchsrezeptoren sind nicht gleichmäßig in der Nasenschleimhaut verteilt, sondern vor allem im hinteren Nasendach der Regio olfactoria lokalisiert (Asan, 2004). Am apikalen Ende der ORN haben sich dendritische Kolben mit 20 unterschiedlich langen unbeweglichen Kinozilien ausgebildet, die das Riechepithel überragen. In ihrer Zellmembran sind die Rezeptorproteine lokalisiert. Über diese Härchen binden sich nun Liganden an Chemorezeptoren und vermitteln eine Signaltransduktion (Lüllmann-Rauch et al., 2006). Insgesamt sind in der Riechschleimhaut circa 6 bis 30 Millionen Sinneszellen lokalisiert, die spezialisierte Rezeptorproteine besitzen, an die sich die Duftmoleküle binden können (Schünke et al., 2006). Nach der Bindung des Duftstoffes muss der biochemische Impuls in ein elektrophysiologisches Signal umgewandelt werden. Es kommt nach Bindung des Moleküls zu einer Aktivierung eines spezifischen G-Proteins, welches wiederum die Adenylatzyklase

stimuliert. Nach der Umwandlung von ATP zu cAMP öffnen sich Kationen- (Ca^{2+} , Na^+) und Chloridkanäle, die zu einer Depolarisation führen und ein Aktionspotential auslösen, welches sich bis in den Bulbus olfactorius ausbreitet (Hummel et Welge-Lüssen, 2008a; 2008b). Dabei reichen oft schon kleinste Konzentrationen aus, um ein Potential auszulösen (Hatt, 1991). Albrecht und Wiesmann (2006) beschreiben in ihrer Übersicht, dass das Aktivierungsmuster der Rezeptoren und somit auch die Stärke des Aktionspotentials entscheidend von der Duftstoffkonzentration geprägt wird. Es werden bei niedrigen Duftstoffkonzentrationen nur Duftmoleküle gebunden, die eine hohe Affinität zum Rezeptor haben.

*Abb.2) Signaltransduktion (mod. nach Berg et al.,2002)
Umwandlung eines biochemischen Impulses in ein elektrophysiologisches*

Das Membranrezeptorpotential wird nun über das erste Neuron der Riechbahn, das sogenannte ORN, geleitet (Asan, 2004). Hierbei handelt es sich um bipolare Sinneszellen, deren Axone über die Lamina cribrosa, durch das Siebbein, in die vordere Schädelgrube zum Bulbus olfactorius ziehen. Der paarig angelegte Bulbus olfactorius, eine Ausstülpung des Telencephalon, gehört zum Paläokortex und entspricht dem primär olfaktorischen Cortex (Albrecht et Wiesmann, 2006). In der Summe bilden die zentral ausgerichteten Filae olfactoriae den N. olfactorius (Wiesmann et al., 2001; Trepel, 2011; Probst et al., 2008). Der N. olfactorius enthält circa 10 Millionen solcher Filae (Pritzel et al., 2003). Im Bulbus olfactorius werden die Geruchsinformationen auf die Glomeruli umgeschaltet. Die Glomeruli bilden mit den Dendriten der Mitralzellen Synapsen (Schmidt et al., 2007). Geruchsinformationen werden hier bereits konvergiert und über Projektionen aus dem zentralen Nervensystem und kontralateralen Bulbus olfactorius gehemmt oder verstärkt weitergeleitet (Firestein, 2001; Weismann et al., 2001; Schünke et al., 2006; Albrecht et Wiesmann, 2006).

Die Axone der Mitralzellen bilden das zweite Neuron, den Tractus olfactorius, mit seinen drei Striae:

- Striae olfactoriae lateralis
- Striae olfactoriae intermedialis
- Striae olfactoriae medialis.

Die Fasern des lateralen Stranges erreichen den temperobasalen Kortex, Gebiete des sekundär olfaktorischen Kortex, wie den Nucleus olfactorius anterior, das Tuberculum olfactorium, die Amygdala, den piriformen Cortex, den Cortex entorhinalis und die periamygdaläre Region. Diese hat wiederum Verbindungen mit tertiären Arealen wie dem Hypothalamus, Thalamus und Epithalamus. Über den Thalamus können die Geruchsinformationen in den orbitofrontalen Kortex projiziert und so bewusst wahrgenommen werden (Wiesmann et al., 2004; Pritzel et al., 2003). Außerdem laufen Bahnen ohne Umschaltung im Thalamus in das limbische System und ermöglichen somit, dass Geruchsempfindungen auch ohne bewusste Wahrnehmung verarbeitet werden können (Albrecht et Wiesmann, 2006; Bommas-Ebert et al., 2006; Pritzel et al., 2009). Sowohl die Striae olfactoriae intermedialis und -medialis sind beim Menschen nur sehr spärlich ausgeprägt. Die Striae olfactoriae intermedialis enden im Tuberculum olfactorium (Wiesmann

et al., 2004).

Der größte Teil der olfaktorischen Fasern projiziert direkt ungekreuzt auf die ipsilateralen Hirnareale. Die Fasern des medialen Stranges ziehen bis in die Area septalis und Commissura anterior. Hier können Geruchsinformationen auch zur kontralateralen Hemisphäre und dem limbischen System geleitet werden (Cleland et Lister, 2003; Bähr et Frotscher, 2009). Damit Erinnerungen und Ereignisse, die an bestimmte Gerüche gebunden sind, vergegenwärtigt werden können, steht der Bulbus olfactorius über die Area praepiriformis mit dem Hippocampus in Verbindung (Schünke et al., 2006). Die Identifikation und Diskriminierung von Gerüchen erfolgt über der orbitofrontalen Kortex, der wiederum mit weiteren Assoziationsarealen anderer Sinnesqualitäten verknüpft ist (Takagi, 1984).

*Abb. 3) Übersicht - kortikale Interaktionen der olfaktorischen Reizverarbeitung
(mod. nach Albrecht et Wiesmann, 2006)*

1.2. Trigeminales System

Das olfaktorische und trigeminale System stehen in einer engen Beziehung zueinander. Die meisten Duftstoffe stimulieren neben dem N. olfactorius auch den N. trigeminus (Doty ,1975; Doty et al., 1978). Der N. trigeminus ist der fünfte Hirnnerv mit sensiblen und motorischen Anteilen. Er vermittelt im Kopfbereich die Somatosensorik (Schmidt et al., 2007). Ausgehend vom Ganglion trigeminale teilt er sich in die peripheren Fortsätze mit Durchtritt aus der mittleren Schädelgrube. Der N. ophthalmicus (V1) tritt durch die Fissura orbitalis superior in die Orbita und teilt sich in den N. nasolacrimalis, N. frontalis und N. lacrimalis. Der N. maxillaris (V2) zieht durch das Foramen rotundum in die Fossa pterygopalatina und spaltet sich auf in den Ramus ganglionares, N. zygomaticus und N. infraorbitalis.

Der N. mandibularis (V3) führt durch das Foramen ovale an die Unterseite der Schädelbasis. Der besitzt nicht nur sensible Fasern, sondern auch motorische Anteile für die Kaumuskulatur (Schünke et al., 2006; Trepel, 2011, Bähr et Frotscher, 2009).

Empfindungen wie brennen, stechen, jucken, Wärme und Kälte werden von den meisten Gerüchen ausgelöst und über afferente chemosensitive Nervenfasern im respiratorischen Epithel geleitet. Zwei Fasersysteme sind hier von besonderer Bedeutung, die unmyelinisierten C-Fasern und die myelinisierten A_{delta} – Fasern (Anton et Peppel, 1991; Sekizawa et Tsubone, 1994). Die C-Fasern vermitteln vor allem schmerzhafte und

brennende Empfindungen und die A_{delta} -Fasern hingegen scharfe und stechende

Wahrnehmungen (Sinclair et Hinshaw, 1950; Mackenzie et al., 1975; Torebjörk et Hallin, 1975). Die zentralen Fortsätze enden im Nucleus sensorius principalis n. trigemini (Berührung und Diskrimination). Die Nervenfasern für Schmerz- und Temperaturempfindung verlaufen als Tractus trigemini kaudalwärts und enden im Nucleus spinalis n. trigemini (Bähr et Frotscher, 2009). Von dort werden die Informationen zum kontralateralen somatosensorischen Thalamus in den Nucleus ventralis posterior medialis (VPM) projiziert. Zusätzlich erhält die Formatio reticularis Projektionen vom spinalen Trigeminskern. Das 4. Neuron endet im weitesten lateral gelegenen Gyrus postcentralis der Großhirnrinde (Schmidt et al., 2007).

1.3. Lateralisation

Was wir Menschen als Geruch wahrnehmen, ist oft eine Kombination aus Aktivierung unterschiedlicher Sinnesmodalitäten. Die Riechschleimhaut beherbergt nicht nur Riechrezeptoren, sondern verarbeitet auch nozizeptive, thermale und taktile Reize, die über den N. trigeminus vermittelt werden (Albrecht et al., 2006; Yousem et al., 1997; Zald et al., 2000; Kleemann et al., 2009). Lateralisation beschreibt die Fähigkeit, Düfte bei seitengetrennter Applikation, in dem jeweiligen gereizten Nasenloch zu lokalisieren. Ursächlich dafür ist die Stimulation des N. trigeminus, welcher somatosensorische Informationen verarbeitet (Kobal et al., 1989; Frasnelli et al., 2011). Bereits Doty et al. (1978) haben gezeigt, dass die meisten Düfte den N. trigeminus aktivieren, sodass sogar Anosmiker fähig sind, trigeminal vermittelte Düfte wahrzunehmen (Laska et al., 1997). Dabei hängt das Vermögen der Lateralisierung von verschiedenen Variablen wie der Duftkonzentration, dem Stimulusvolumen, der Applikationsform (passive oder aktive Stimulation), der Duftzusammensetzung und dem Alter ab (Hummel et al., 2003; Frasnelli et al., 2011). Nur sehr wenige Menschen sind fähig, rein olfaktorische Geruchsstoffe zu lokalisieren (Kleemann et al., 2009). Hingegen ist es uns möglich, olfaktorisch-trigeminal Düfte wie z.B. Menthol exakt zu detektieren (Kobal et al., 1989; Frasnelli et al., 2009; Schneider et Schmidt, 1967). Mit steigendem Stimulusvolumen und einer zunehmenden Duftkonzentration wird hier sowohl der N. olfactorius und der N. trigeminus aktiviert (Doty et al., 1978; Kobal et al., 1989; Frasnelli et al., 2011). In einer Studie von Kleemann et al. wurden die Probanden passiv mit H₂S stimuliert, einem rein olfaktorischen Duftstoff. Es wurden zwei unterschiedliche Konzentrationen (2 ppm und 8 ppm) verwendet. Eine genaue Lokalisierung des Stimulus war auch bei steigender Konzentration nicht möglich (Kleemann et al., 2009).

1.4. Olfaktorisch evozierte Potentiale (OERP)

Alle evozierten Potentiale, die durch einen chemischen Reiz ausgelöst werden, bezeichnet man als chemosensorisch evozierte Potentiale (CSERP) und können mittels EEG abgeleitet werden (Kobal et Hummel, 1988). Bei OERP handelt es sich um eine polyphasische Antwort neuronaler Strukturen auf Olfaktoriustoffe, die zu keiner trigeminalen Erregung führen (Hummel et al., 2000). Von chemosomatorisch evozierten Potentialen spricht man, wenn zusätzlich Fasern des N. trigeminus z.B. bei Menthol stimuliert werden (Kobal et Hummel, 1988).

OERP haben eine typische Form seit Berger 1929 in Jena zum ersten Mal EEGs beim Menschen abgeleitet hat. Nach internationalen Richtlinien werden die Potentialgipfel mit einer negativen Polarität nach oben und die mit einer positiven Polarität nach unten dargestellt. Jede Komponente wird mit einer fortlaufenden Nummer versehen (Buchner et al., 2014).

Der erste große negative Ausschlag eines OERP (Negativ 1: N1) erscheint typischerweise mit einer Latenz von mehr als 200 bis 700 ms. Es folgt ein später positiver Komplex (LP). LP ist mit einer Latenz von 300 bis 800 ms zu erwarten (Hummel et al., 2000). Manche Studien teilen diesen Komplex in P2 und P3 (Pause et Krauel, 2000). In unserer Studie haben wir keine derartige Differenzierung vorgenommen und diese Komponente als späten positiven Komplex (LP) zusammengefasst.

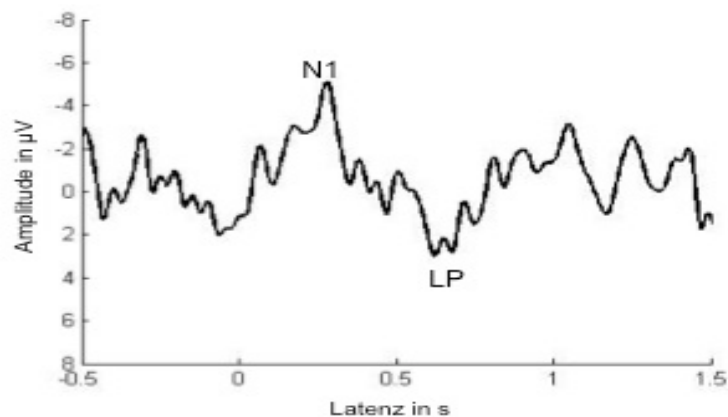


Abb. 4) Nomenklatur – OERP

N1 entspricht dem ersten negativen Ausschlag und erscheint mit einer Latenz zwischen 200 bis 700 ms. LP entspricht dem späten positiven Komplex und erscheint mit einer Latenz von 300 bis 800 ms (Hummel et al., 2000).

Die Morphologie der Potenziale hängt entscheidend von exogenen und endogenen

Stimulusvariablen ab. Dabei repräsentiert N1 vorwiegend die exogenen Reizanteile, z.B. Reizqualität und -intensität (Pause et al., 1996). Die Komponente P2 spiegelt die endogene Reizverarbeitung, wie Vertrautheit, Verfassung und Motivation des Probanden (Pause et al., 1996). Die Ableitung von OERP sollte, standardisiert nach dem 10-20 System, mindestens über die drei Oberflächenelektroden Fz, Cz und Pz gegen die Referenzelektroden A1/2 an den Ohrläppchen abgeleitet werden (Hummel et al., 2000). Die zentrale Verarbeitung olfaktorischer Stimuli findet vorrangig in den anterozentralen Inselanteilen, im präinsulären Kortex und im Sulcus temporalis superior statt (Wiesmann et Albrecht, 2006).

1.5. Aufgabenstellung

Das ISI beschreibt einen Zeitabschnitt zwischen zwei Reizen, der nötig ist, damit wir beide Reize als getrennt von einander wahrnehmen. Wang (2002) und Croy et al. (2014a) beschreiben beide, dass ein ISI von mindestens 2000 bis 2500 ms nötig ist, um Reizpaare als separaten Duftreiz unterscheiden zu können.

Die hier vorliegende Arbeit ist eine Weiterführung, die auf den Versuchsergebnissen von Frenzel et al. aufbaut und Bestandteil einer dreiteiligen, in Zusammenarbeit mit ihr, erschienenen Publikation zum Thema „Olfactory speed - Temporal odor processing of paired stimuli“ (Schriever et al., 2015) ist. Dennoch ist zu betonen, dass die hier dargestellten Versuchsergebnisse (Versuch II und III in der Veröffentlichung) Teil einer individuell durchgeführten Studie und Dissertationsschrift sind. Zum besseren Verständnis wurde insbesondere im Diskussionsteil auf Frenzels et al. Untersuchungsergebnisse Bezug genommen.

In der ersten Versuchsreihe von Frenzel et al. wurde der Einfluss der ISI-Länge untersucht, die benötigt wird, damit man bei einem Stimuluspaar beide Reize als getrennt voneinander wahrnimmt. Unter Verwendung von olfaktorischen und trigeminalen Reizen wurden drei verschiedene Geruchsstoffe untersucht: PEA, CO₂ und H₂S. Das ISI variierte innerhalb der Reizpaare zwischen 2000 bis 9000 ms. Den Probanden wurden in randomisierter Reihenfolge jeweils 40 Reizpaare (insgesamt 120 Reize) für jeden Duftstoff präsentiert. Über ein spezielles Computerprogramm waren die Teilnehmer aufgefordert, die Taste der Computermaus zu drücken, sobald sie einen Reiz wahrgenommen haben. Je länger das ISI wurde, desto mehr Reizpaare konnten als zwei separate Reize identifiziert werden. Dabei ließ sich ein signifikanter Anstieg bis zu einem ISI von 4000 ms beobachten. Danach kam es nur noch zu einem leichten Anstieg bzw. wurde ein Plateau erreicht. Bei 9000 ms wurden $76 \pm 26.7\%$ der Reizpaare als zwei separate Reize wahrgenommen.

Zudem konnten H₂S Stimuluspaare (71.2%) wesentlich häufiger als zwei getrennte Reize

diskriminiert werden, als die PEA- (65.4%) und CO₂ -Stimuluspaare (65.4%), wenn alle ISI eingeschlossen wurden. Das Geschlecht hatte keinen Einfluss auf die temporale Verarbeitung der Reizpaare.

Die vorliegende Arbeit widmet sich folgenden Fragestellungen:

1. Welchen Einfluss haben unterschiedliche Duftstoffkonzentrationen auf die temporale Wahrnehmungs- bzw. Diskriminierungsfähigkeit von Reizpaaren? Können Reizpaare bei höheren Duftstoffkonzentrationen schneller, d.h. in Form eines kürzer werdenden ISI erfasst werden?
2. Werden Reizpaare mit kurzen ISI, die nicht bewusst wahrgenommen werden zentralnervös verarbeitet? Lassen sich hier OERP ableiten?
3. Sind die OERP für die frühe N1- und späte LP- Komponenten in ihrer Latenz und/oder Amplitude verändert wenn Reizpaare nicht bewusst als zwei separate Reize wahrgenommen werden?

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign

Die Durchführung der Studie erfolgte nach den Prinzipien der Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki. Zunächst wurde die Studie bei der zuständigen Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden eingereicht (EK 434112013). Nach entsprechender Genehmigung erfolgte die Testung im Zeitraum zwischen November 2013 und Mai 2014. Alle Probanden wurden sowohl in mündlicher als auch schriftlicher Form über die Studie aufgeklärt. Die Teilnahme war freiwillig und konnte jederzeit ohne Begründung von den Teilnehmern abgebrochen werden. Jeder Teilnehmer musste vor Studienbeginn eine entsprechende Einwilligungserklärung unterschreiben. Die Studie gliederte sich in zwei Versuchsabschnitte. Beim ersten Versuch wurde der Einfluss unterschiedlicher Duftstoffkonzentrationen und ISI auf die temporale Wahrnehmung von Reizpaaren untersucht. Ziel des zweiten Abschnittes war es, Reizpaare mit einem kurzen ISI zu präsentieren, während OERP mittels EEG abgeleitet wurden, um zu untersuchen inwieweit eine zentralnervöse Verarbeitung stattfindet, wenn Reize nicht bewusst wahrgenommen werden.

2.2. Probandenkollektiv und Auswahlkriterien

Die Studie setzte sich aus zwei Versuchen zusammen. Am ersten Studienabschnitt nahmen insgesamt 42 gesunde Probanden teil. Die Probandenzahl setzte sich aus 24 Frauen und 18 Männern im Alter zwischen 18 und 35 Jahren zusammen. Das Durchschnittsalter lag bei $24,1 \pm 3,3$ Jahren.

Am zweiten Teil der Studie beteiligten sich 20 Probanden, die bereits beim ersten Versuch mitgemacht haben. Die Probanden gliederten sich in 11 Frauen und 9 Männer, die im Durchschnitt $22,8 \pm 2,4$ Jahre alt waren (Spannweite: 19 bis 29 Jahre). Die Teilnehmer wurden über Aushänge und persönliche Kontakte rekrutiert. Voraussetzung für die Teilnahme war neben dem Alter ein normales Riechvermögen. Raucher wurden gebeten, zwei Stunden vor Teilnahme nicht mehr zu rauchen.

Folgende Ein- und Ausschlusskriterien wurden formuliert:

Einschlusskriterien:

- Alter zwischen 18 und 35 Jahre
- normales Riechvermögen

Ausschlusskriterien:

- wesentliche gesundheitliche Beeinträchtigung (z.B. Diabetes mellitus, M. Parkinson, Niereninsuffizienz)
- Personen mit akuten oder ausgeprägten chronischen Entzündungen der Nase und Nasennebenhöhlen
- Personen mit relevanten Vor- bzw. Begleiterkrankungen im HNO-Bereich
- Besonders empfindliche Nasenschleimhaut, Blutungsneigung

2.3. Duftstoffe

Für unsere Versuchsreihen verwendeten wir als Duftstoff Orange von der Firma Frey & Lau aus Henstedt-Ulzburg (Deutschland). Bei der Auswahl des Duftstoffes war es wichtig, dass es sich um einen rein olfaktorischen Geruchsstoff handelt, da wir in unserer Studie die temporale Verarbeitung von Reizpaaren rein olfaktorischen Ursprungs genauer untersuchen wollten. Wir verwendeten zwei unterschiedliche Duftstoffkonzentrationen (5 % und 50 %). Der Duftstoff konnte sowohl in niedriger als auch in hoher Konzentration, von den Probanden nicht lateralisiert werden.

2.4. Screeningtest

2.4.1. „Sniffin‘ Sticks“

Im Vorfeld wurde die individuelle Riechfunktion mittels sogenannter „Sniffin‘ Sticks“ getestet (Hummel, Sekinger et al., 1997; Kobal et al., 2000). Insbesondere im Klinikalltag hat sich dieser Screeningtest fest etabliert, da er schnell durchführbar ist und eine grobe Einschätzung über das individuelle Riechvermögen ermöglicht. Der Test umfasst 16 Riechstifte (Burghart Messtechnik GmbH, Wedel, Deutschland) mit unterschiedlichen Duftstoffen, die vom Probanden namentlich benannt werden mussten. Die Stifte wurden dem Probanden jeweils drei Sekunden vor beiden Nasenlöchern präsentiert. Als Hilfestellung bekam der Teilnehmer pro Stift jeweils eine Multiple-Choice Vorlage mit vier Antwortmöglichkeiten. Die Probanden mussten mindestens 12 der 16 Duftstoffe richtig

identifizieren. Wurden Werte über 12 erreicht, entspricht dies einem normosmischen Riechvermögen (Hummel, Sekinger et al., 1997).

2.4.2. Lateralisationstest

Ziel der Studie war es, die temporale Wahrnehmung von olfaktorischen Reizpaaren mit kurzen ISI zu untersuchen. Wir wollten also einen Duftstoff verwenden, der zu keiner trigeminalen Erregung führt. Problematischerweise aktivieren die meisten Duftstoffe ab einer bestimmten Geruchskonzentration sowohl das olfaktorische als auch das trigeminale Reizsystem. Dadurch ist es uns möglich, Gerüche zu lokalisieren (Kobal et al., 1989; Frasnelli et al., 2011). Frasnelli et al. (2011) beschrieben in ihrer Studie, bezogen auf das trigeminale System, dass bei Veränderung von Konzentration oder Reizdauer sich gleichzeitig auch Veränderungen in den elektrischen Potentialen zeigen. Um auszuschließen, dass der von uns verwendete Duftstoff nicht den N. trigeminus aktiviert, führten wir vorab den sogenannten Lateralisationstest (Frasnelli et al., 2011) durch.

Das Lateralisierungsgerät besteht aus zwei elastischen Polypropylenflaschen. Eine Flasche war mit einer geruchsneutralen Kontrolllösung und die andere Flasche mit dem zu testenden Duftstoff (Orange 50%) gefüllt. Die Flaschen wurden mit einem definierten Volumen von 11 ml pro Hub befüllt (Frasnelli et al., 2011). Zusätzlich wurden die Augen des Probanden mithilfe einer Schlafbrille verdeckt. Die Teilnehmer wurden passiv stimuliert und zusätzlich instruiert, während der Reizung nicht zu atmen (Hummel et al., 2003). Insgesamt wurden 40 Stimuli, in randomisierter Reihenfolge und einem ISI von 30 s, verabreicht. Die Reizabgabe erfolgte manuell über das kräftige und schnelle Zusammendrücken der äußeren Plastikverkleidung. Nach jedem Stimulus wurden die Probanden aufgefordert, die Seite zu benennen, die den Duft präsentiert bekommen hat (Kobal et al., 1989; Hummel et al., 2003). Bei einer Trefferquote von $\geq 75\%$ konnte von einer Lateralisierungsfähigkeit ausgegangen werden (Frasnelli et al., 2009).



Abb.5) links: Lateralisationsgerät; rechts: Identifikationstest mittels Sniffin' Sticks

Über den Lateralisationstest kann erfasst werden, ob der verwendete Duftstoff zu einer trigeminalen Miterregung führt. Bei einer Trefferquote von $\geq 75\%$ kann von einer Lateralisierungsfähigkeit ausgegangen werden (Frasnelli et al., 2009).

Der Identifikationstest gibt eine grobe Einschätzung über das individuelle Riechvermögen. Man kann von einem normalen Riechvermögen ausgehen (Normosmie), wenn ≥ 12 Stifte richtig identifiziert werden (Hummel et al., 1997).

2.5. Olfaktometer - Aufbau

1978 entwickelten Kobal und Plattig eine Reizapparatur, das sogenannte Olfaktometer, mit dem man Duftstoffe artefaktfrei präsentieren und OERP ableiten konnte. Obwohl diese Untersuchungsverfahren mit einem hohen technischen und zeitlichen Aufwand verbunden sind, finden sie in mehreren Kliniken mittlerweile routinemäßig Anwendung (Hummel et al., 2000; Welge-Lüssen et al., 1999).

Heutzutage wird im Klinikalltag das Forschungsolfaktometer OM6/b von der Firma Burghart Messtechnik aus Wedel in Deutschland verwendet.

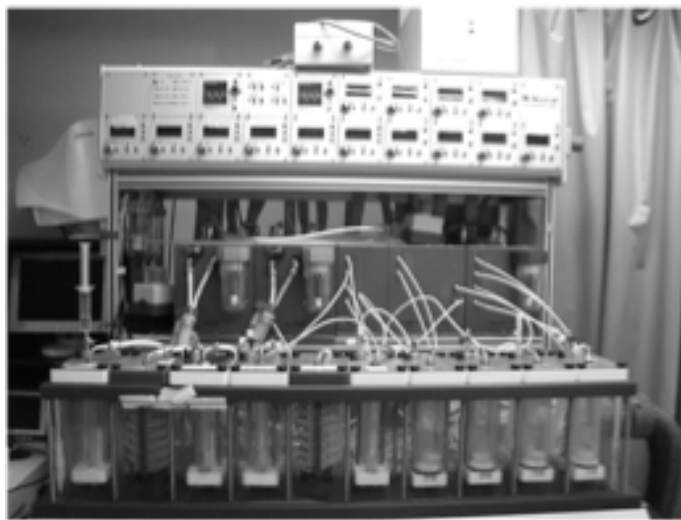


Abb. 6) Forschungsolfaktometer OM6/b von der Firma Burghart Messtechnik aus Wedel in Deutschland

Dieses Messgerät macht es möglich, Gerüche in einer definierten Konzentration und Reizdauer dem Probanden artefaktfrei zu präsentieren und OERP mittels Elektroenzephalografie (EEG) abzuleiten. Insbesondere die Möglichkeit der passiven Reizdarbietung verhindert eine reizsynchrone zentrale Erregung durch nicht olfaktorische Reizung (Kobal, 1981).

Als Trägergas wird Luft verwendet. Das Olfaktometer erzeugt am Nasenausgang einen kontinuierlichen Luftstrom von 7 l/min. Die geruchslose Luft wird über einen Kompressor (Druck von 1,5 bar) erzeugt, und durch einen Aktivkohlefilter gereinigt und über ein Teflonschlauchsystem zum Masse-Fluss-Regler geleitet. Von hier aus gelangen die Trägergase zu speziellen Gaswaschflaschen, in denen die entweder mit dem Duftstoff oder mit Wasserdampf angereichert werden (Kobal et al., 1989). Ein im Olfaktometer befindlicher Wassertank wird über ein Thermostat kontinuierlich auf etwa 41,5°C erwärmt.

Das erwärmte Wasser zirkuliert in den Kammern der Befeuchtungsmodule und dem Schlauchsystem, welches die Luftkanäle umgibt. So wird die ausströmende Luft stets auf ca. 36,5°C erwärmt und befeuchtet (80 % Luftfeuchtigkeit). Dadurch können Schleimhautirritationen und eine vorzeitige, entzündungsbedingte Aktivierung von Schmerzbahnen des somatosensorischen Systems verhindert werden (Kobal et al., 1989; Mohammedian et al., 1997). Dies würde zu erheblichen Messfehlern führen, da eine somatosensorische Antwort bei der Aufzeichnung der OERP sich visuell nicht von den olfaktorischen Reizantworten unterscheiden lässt (Hummel et al., 1991). Zudem sollte innerhalb von 20ms $\frac{2}{3}$ der angestrebten Reizkonzentration erreicht sein, um OERP ableiten zu können und nicht nur späte Potenzialanteile zu erhalten (Hummel et al., 2000).

Die Gasströme werden nun über 3m lange Teflonschläuche und einem ventillosen Plastikschauch circa 1cm intranasal positioniert (Kobal et al., 1989). Durch die schnelle Umschalttechnik und Flussrate zwischen den Reizen wird eine taktile Reizung verhindert (Kobal et al., 1989).

Control	(C)	Kontrollfluss, d.h. ein kontinuierlicher Reinluftfluss, der während des reizfreien Zustandes erzeugt wird.
Dilution	(D)	Verdünnung, d.h. Reinluft, die zum Verdünnen des Duftstoffes dient, um die entsprechende Geruchskonzentration zu erzeugen.
Main Exhaust	(ME)	Absaugvorrichtung, um entsprechend den Kontroll- oder Duftstofffluss abzusaugen.
Odorant	(O)	Duftstoff (Orange 5% und 50%)

Tab.1) Definition der Flussvolumina am Olfaktometer

In den sogenannten Befeuchtungsmodulen befindet sich destilliertes Wasser oder der zu testende Duftstoff, welcher bei Durchströmung von Luft verdampft wird. Die entsprechenden Befeuchtungsmodule müssen vor Beginn der Testung befüllt werden. Dazu wird eine Spritze in den Befüllungshahn gesteckt und das Medium in das Modul gespritzt. Für unsere Versuchsreihen benutzten wir das Duftmodul OR1, welches mit Orange befüllt wurde. Um auf eine Konzentration von 50% auf 5% zu gelangen, wird die Duftstoffluft mittels Dilutionsluft verdünnt werden. Alle Strömungen, d.h. Control (C), Dilution (D) und Odorant

(OR1), werden zum Schaltstück geleitet. Über eine Vakuum-Strömung wird das Odorant-Dilutionsgemisch während des ISI abgesaugt, sodass nur die Reinluft zur Nase strömt. Soll ein Duftreiz präsentiert werden, schaltet die Absaugung auf den Kontrollfluss um, sodass nun das Odorant-Dilutiongemisch zur Nase geleitet wird. Da sich die Absaugung unmittelbar vor der Nase befindet, sind die Schaltzeiten zwischen Reiz und dem reizfreien Intervall kurz (Kobal et Plattig, 1978; Kobal et al., 1981, Burghart Messtechnik GmbH).

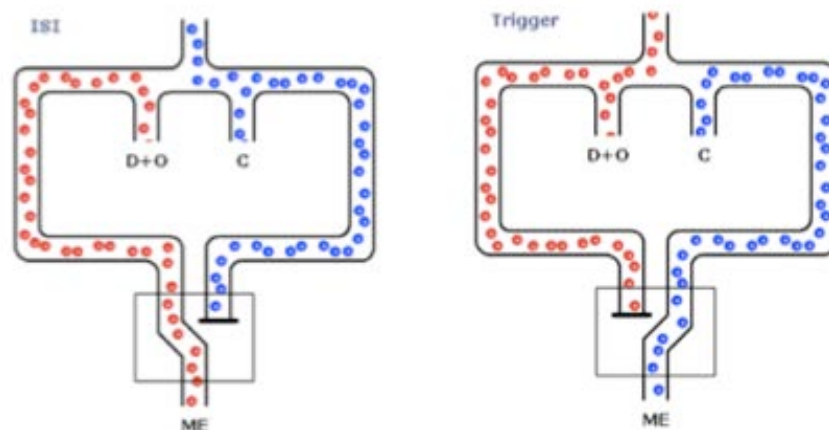


Abb. 7) Schaltprinzip des Olfaktometer (Burghart Messtechnik GmbH, Wedel, Deutschland)

Auf der linken Seite ist die Interstimulusphase dargestellt. Der Main Exhaust (ME) saugt das Odorant-Dilutionsgemisch (D+O; roter Luftstrom) in dieser Phase ab, sodass nur Reinluft (C; blauer Luftstrom) zur Nase geleitet wird. Die Triggerphase ist rechts abgebildet. Der ME saugt C ab und D+O wird zur Nase geleitet.

2.6. Erste Versuchsreihe

Der erste Teil der Studie wurde an zwei Tagen durchgeführt. Beide Termine dauerten etwa 90 Minuten. Zwischen den Sitzungen wurde mindestens ein Kalendertag eingehalten.

Am ersten Versuchstag erfolgte zunächst der Screeningtest mittels „Sniffin‘ Sticks“, gefolgt vom Lateralisationstest. Nach entsprechender Einweisung am Olfaktometer konnten die eigentlichen Versuchsreihen durchgeführt werden. Ziel des ersten Abschnittes war es, den Einfluss verschiedener Duftstoffkonzentrationen (Orange 5% und 50%) auf die temporale Wahrnehmung- bzw. Diskriminierungsfähigkeit von olfaktorischen Stimuluspaaren zu analysieren.

2.6.1. Einstellungen am Olfaktometer

Das Olfaktometer sollte vor Beginn jeder Messung etwa 45 Minuten angeschaltet werden, damit die verwendeten Module erwärmt werden. Die voreingestellten Luftflüsse können sich nach einiger Zeit minimal verändern, deshalb sollten diese vor jeder Messung überprüft und kalibriert werden. Mithilfe eines sogenannten Seifenblasenflussmessers können die genauen Volumenflussraten bestimmt werden.

Das Olfaktometer wird über eine spezielle Software vom Computer aus bedient. Es können nun die gewünschten Klassen und Sequenzen eingestellt werden. In einer Klasse werden die jeweiligen Flussstärken für die Verdünnung (D), den Main Exhaust (ME) und den Duftstoff (O) definiert. Lediglich der Kontrollfluss (C) muss manuell am Olfaktometer eingestellt werden. Neben den Klassen müssen auch die Sequenzen definiert werden. Über eine Sequenz kann man die unterschiedlichen Geruchskonzentrationen, die Reihenfolge der Klassen, die Stimuluszeit, das ISI und Inter-Train-Intervall (ITI) festlegen.

Das ISI beschreibt den zeitlichen Abstand innerhalb eines Reizpaares. Unter dem ITI versteht man die Zeit zwischen zwei Reizpaaren.

Für den ersten Teil der Studie haben wir zwei Klassen definiert. Die Klassen entsprachen den jeweiligen Duftkonzentrationen. Jede Klasse bestand aus acht verschiedenen ISI, die zwischen 800 ms, 1200 ms, 1600 ms, 2000 ms, 3000 ms, 4000 ms, 5000 ms und 6000 ms variiert hat. Längere Reizintervalle sind jedoch nicht sinnvoll, da sie die Vigilanz der Probanden beeinflussen (Kobal, 1981). Gleichzeitig hat die Vorstudie von Cindy Frenzel gezeigt, dass sich ein Wahrnehmungsplateau einstellt und trotz länger werdenden Reizintervalls nicht mehr als 80 % der Reizpaare als zwei separate Reize erkannt werden.

Jedes ISI wurde 10 Mal wiederholt. Dementsprechend wurden dem Teilnehmer pro Klasse 80 Reizpaare präsentiert. Die Stimuluszeit betrug 400 ms. Nach jedem Reizpaar folgte ein ITI zwischen 24 bis 30 s. Es musste ein ausreichend langes ITI gewählt werden, um Desensibilisierungsphänomene zu vermeiden (Kobal, 1981).

	Klasse 1 (Orange 5 %)		Klasse 2 (Orange 50 %)	
<i>Gesamtfluss</i>	7 l/min		7 l/min	
<i>CR</i>	0,4 l/min		4 l/min	
<i>DR</i>	7,6 l/min		4 l/min	
<i>O1R</i>	8 l/min		8 l/min	
<i>ME</i>	angepasst bis Gesamtfluss von 7 l/min erreicht		angepasst bis Gesamtfluss von 7 l/min erreicht	
<i>Stimuluszeit</i>	400 ms		400 ms	
	<i>ISI</i>	<i>ITI</i>	<i>ISI</i>	<i>ITI</i>
	0,8 s	29,2 s	0,8 s	29,2 s
	1,2 s	28,8 s	1,2 s	28,8 s
	1,6 s	28,4 s	1,6 s	28,4 s
	2,0 s	28,0 s	2,0 s	28,0 s
	3,0 s	27,0 s	3,0 s	27,0 s
	4,0 s	26,0 s	4,0 s	26,0 s
	5,0 s	25,0 s	5,0 s	25,0 s
	6,0 s	24,0 s	6,0 s	24,0 s

Tab. 2) Einstellungen der Flussvolumina, Klassen und Sequenzen

Die bereits vorherigen Studien (Hummel et Kopal, 1992) haben gezeigt, dass das Vigilanzverhalten nach etwa 15 Minuten nachlässt. Aus diesem Grund teilten wir die erste Versuchsreihe in sechs Blöcke auf. Ein Block dauerte im Schnitt 15 Minuten und umfasste 26 bis 27 Reizpaare. Die Reize wurden monorhinal präsentiert und nach jedem Block wechselten wir das Nasenloch für die Reizapplikation. Eine fünfminütige Pause wurde nach jedem Block gemacht.

2.6.2. Velopharyngealer Verschluss

Die Probanden mussten für die Versuche eine spezielle Atmungsform erlernen, die sogenannte velopharyngeale Atmung bzw. der - Verschluss. Hier wird lediglich der Mund zum Atmen benutzt und der Nasenrachenraum über das Gaumensegel verschlossen. Diese Art der Atmung macht es möglich, dass Reize während der Applikation nicht durch die Atmung beeinflusst werden. Vor Testbeginn wurde mit den Probanden diese Atmungsform trainiert. Mit Hilfe eines Oszilloskops konnte der Erfolg dieser Übungseinheit visualisiert werden, da dieses Gerät den nasalen Luftstrom misst und darstellt (Kopal, 1981).

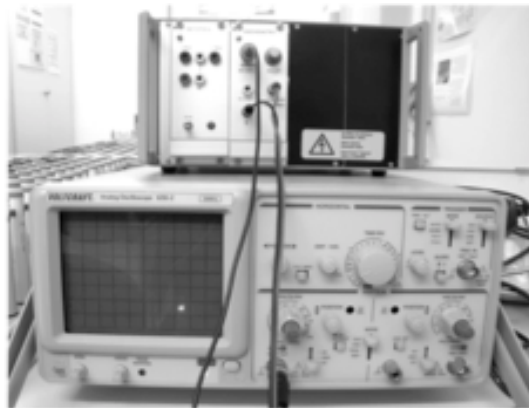


Abb. 8) Oszilloskop

Dieses Gerät dient als Visualisierungshilfe zum Erlernen des velopharyngealen Verschlusses.

2.6.3. Versuchsablauf

Um die Vigilanz der Probanden über den gesamten Versuchsablauf aufrecht zu halten, mussten die Teilnehmer ein Computerspiel spielen (Hummel et Kobal, 1991). Die Probanden wurden sitzend circa 2 m vom Monitor entfernt auf einen Stuhl positioniert. Über die Computermaus konnte der Cursor angesteuert und so ein sich bewegendes kleines Quadrat auf dem Monitor verfolgt werden. Ziel war es, darauf zu achten, dass der Cursor (weißer Punkt) stets in der Mitte des Quadrates blieb.

Zur akustischen Abschirmung der Probanden bekam der Teilnehmer Kopfhörer aufgesetzt, die ein Brownsches Rauschen von circa 60 dB abgegeben haben. Auf diesem Weg wurde verhindert, dass die vom Olfaktometer erzeugten Klickgeräusche von den Probanden wahrgenommen werden konnten. Denn äußere Störfaktoren würden zu einer Verfälschung der Messergebnisse führen. Zusätzlich wurde zur weiteren Reizabschirmung zwischen dem Olfaktometer und den Probanden ein Sichtschutz in Form eines Vorhanges angebracht (Kobal et Hummel, 1989). Am ersten Tag mussten die Probanden zunächst vor dem eigentlichen Hauptversuch die unterschiedlichen Duftstoffkonzentrationen in der Intensität bewerten. In randomisierter Reihenfolge wurden entweder 5 % oder 50 % Orange präsentiert. Insgesamt wurden hier 20 Reize appliziert, d.h. jeweils zehn Reize mit 5 % Orange und zehn Reize mit 50 % Orange. Zwischen den einzelnen Stimuli folgte ein ISI von 30 s. Nachdem der Reiz abgesetzt wurde, erschien auf dem Bildschirm nach 5 s eine visuelle Analogskala von 0 - 100. Die Teilnehmer waren dazu aufgefordert, über die Computermaus eine subjektive Intensitätseinschätzung abzugeben (Aitken, 1969). Die erste Sitzung dauerte circa 10 Minuten. Nach einer fünfminütigen Pause folgte der Hauptversuch.

Der Hauptversuch wurde von uns in sechs Blöcke aufgeteilt, von denen zwei Blöcke noch am ersten Tag absolviert werden mussten. Den Probanden wurden in diesen beiden Blöcken 26 bzw. 27 Stimuluspaare präsentiert, die in ihrem ISI 800 ms, 1200 ms, 1600 ms, 2000 ms, 3000 ms, 4000 ms, 5000 ms und 6000 ms variiert haben. Für jeden einzelnen Block wurde vorher die entsprechende Geruchskonzentration festgelegt. Für drei von insgesamt sechs Blöcken verwendeten wir 5 % Orange. Die restlichen Blöcke wurden mit 50 % Orange präsentiert. Sowohl die Abfolge der ISI innerhalb der Blöcke als auch Abfolge der Blöcke für sich wurden vorher randomisiert. Zudem wechselten wir nach jedem Block das Nasenloch. Die Teilnehmer bekam lediglich die Information, dass in den darauffolgenden Blöcken entweder ein einzelner Reiz oder ein Reizpaar, d.h. bestehend aus zwei Reizen, präsentiert wird. Aufgabe war es sich zu entscheiden, wie viele Reize wahrgenommen wurden. Nach Präsentation des Reizpaares folgte auf dem Bildschirm die Frage „Wie viele Reize haben Sie wahrgenommen?“. Mit einer Computermaus konnte eine „Eins“ oder „Zwei“ angeklickt werden. Ein Block dauerte circa 15 Minuten. Danach folgte eine fünfminütige Pause. Am zweiten Versuchstag folgten die restlichen vier Blöcke mit einer Gesamtuntersuchungsdauer von 60 Minuten.



Abb. 9) Proband am Olfaktometer

2.7. Zweite Versuchsreihe – Ableitung OERP bei Reizpaaren mit kurzen ISI

An dem zweiten Teil der Studie nahmen Probanden teil, die bereits den ersten Versuchsabschnitt absolviert hatten. Ziel dieses Studienabschnittes war es, Reizpaare mit einem kurzen ISI zu präsentieren, während OERP mittels EEG abgeleitet wurden, um zu untersuchen, inwieweit eine zentralnervöse Verarbeitung nicht bewusst wahrgenommener Reize stattfindet. Dazu wurden an den Probanden insgesamt 10 Silber/Silberchlorid - Elektroden angebracht. Die Elektroden wurden gemäß dem internationalen 10-20 System platziert.

Abb. 10) 10-20 System von Herbert Jasper, (1958)

Die anteriore-posteriore Verbindungslinie, die 100 % entspricht, erstreckt sich vom Nasion bis zum Inion und umfasst fünf Messpunkte: Front pole (Fp), Frontal (F), Central (C), Parietal (P) und Occipital (O). Ausgehend vom Nasion geht man 10 % Richtung Inion. Dieser Punkt entspricht Fp. Dann geht man vier weitere 20-Prozentschritte und zum Schluss noch mal einen 10% Schritt. Die laterale Linie erstreckt sich zwischen dem linken und rechten präaurikulären über den zentralen (C) Messpunkt. Die Punkte A1 und A2 befinden sich jeweils am linken und rechten Ohrläppchen und dienen als Referenzpunkte.

Die Elektroden sind über markante knöcherne Bezugspunkte an der Kopfoberfläche genau definiert. Das Ausmessen dieser Punkte erfolgt über vier Bezugspunkte: Nasion (1), Inion (2) und linke/rechte präaurikuläre Punkt (Tragus am Ohr). Mithilfe eines Zentimetermaßbandes können die exakten Positionen auf der Kopfhaut markiert werden. Eine Verbindungslinie zwischen Nasion und Inion, sowie zwischen den beiden präaurikulären Punkten bildet den Schnittpunkt über dem Vertex. Die Messstrecken zwischen den beiden Verbindungslinien werden in 10% und 20% Abschnitte aufgeteilt. Für unsere Studie haben wir folgende Elektrodenpositionen gewählt: Frontal (Fz), Central (C), Parietal (Pz), C3/C4, Referenzelektroden A1 und A2, Erdungselektrode am Mastoid (M1/2) und Frontoparietal (Fp2). Die Elektrode Fp2 diente zum Erfassen von Zwinkerartefakten, die im Rahmen des Lidschlussreflexes zu erwarten waren.

Vorteil des 10-20 Systems ist die Vereinheitlichung, die genaue Definition der Elektrodenposition, die Reproduzierbarkeit und die Vergleichbarkeit im nationalen sowie internationalen Rahmen (Jasper, 1958; Milnik, 2012).

Die Ableitelektroden wurden nun auf die Schädeloberfläche geklebt. Es ist zu beachten, dass zu hohe Übergangswiderstände die Störanfälligkeit und Messfehlerquote erhöht. Deshalb wurde die Kopfhaut zunächst mit einer Peelingpaste (Skin Pure, Nihon Kohden, Tokyo,

Japan) gesäubert und entfettet, um die Leitungsfähigkeit zwischen Elektrode und Kopfoberfläche zu verbessern (Milnik V., 2012). Danach wurden die Ableitelektroden über eine gut leitende Elektrodenplaste (EC2™, Grass Instruments Division, Astro Med Inc., Warwick, RI, USA) an der Kopfhaut fixiert. Die Elektrodenenden wurden mit einem 16 - Kanal - Verstärker verbunden (SIR: Röttenbach, Germany) (Milnik, 2012). Das EEG wurden jeweils 500 ms vor und 1548 ms nach der Reizapplikation aufgezeichnet. Die Aufzeichnungsfrequenz lag bei 250 Hz. Zudem haben wir Filter eingesetzt, deren Aufgabe es war das Signal in einer bestimmten Grenzfrequenz unverzerrt wiederzugeben und störende

Frequenzen abzuschwächen (Milnik, 2012). Der Bandpassfilter wurde zwischen 0,2 und 30 Hz festgelegt. Den Tiefpassfilter stellten wir auf 30 Hz ein. Dieser Filter lässt tiefe Frequenzen durch und filtert hohe Frequenzen, d.h. Frequenzen über 30 Hz werden unterdrückt und Frequenzen unter 30 Hz werden durchgelassen.

Das ISI wurde individuell für jeden Probanden eingestellt. Hierfür verwendeten wir bereits gewonnene Daten aus dem ersten Versuchsabschnitt. Um die erhobenen Messdaten später vergleichen zu können, wählten wir ein ISI, bei dem die Probanden zu annähernd 50% den zweiten Reiz wahrgenommen haben. Für die 20 Teilnehmer wählten wir ein ISI zwischen 2000 bis 3000 ms. Das ITI war dementsprechend 27 bis 28 s lang.

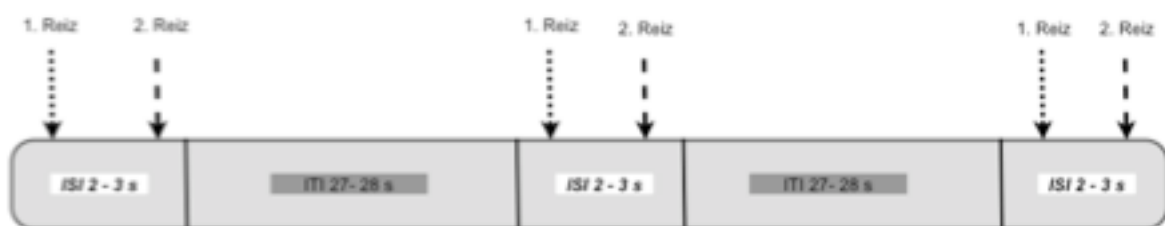


Abb. 11) Schematische Darstellung der zweiten Versuchsreihe

Olfaktorisch identische Reizpaare (Orange 50%) wurden mit kurzem ISI zwischen 2000 bis 3000 ms präsentiert. Es folgte danach ein ITI zwischen 27 bis 28 s.

Insgesamt präsentierten wir 80 Reizpaare, die auf zwei Sitzungen aufgeteilt wurden, d.h. pro Sitzung wurden 40 Reize appliziert. Ein Block dauerte 22 Minuten, gefolgt von einer fünfminütigen Pause. Die Probanden wurden in eine angenehme Sitzposition gebracht und ein langer Teflonschlauch mit Teflonendstück (Lumen $\varnothing=4\text{mm}$) circa 1,5 cm ins Vestibulum nasi eingeführt. Über diesen erfolgte die Reizdarbietung. Auch hier musste das oben beschriebene Computerspiel absolviert werden. Nach der Reizapplikation folgte die Frage: „Wie viele Reize haben Sie wahrgenommen?“. Die Teilnehmer mussten sich entscheiden, ob ein oder zwei Reize wahrgenommen wurden. Die Entscheidung konnte über die

Computermaus festgehalten werden. Um nicht weitere Artefakte durch auditorische Stimuli zu erzeugen, erfolgte wieder eine akustische Abschirmung über das Brownsche Rauschen. Zusätzlich war es wichtig, dass während der Untersuchung versucht wurde, die Augen offen zu behalten, da ein Schließen der Augen mit EEG Veränderungen einhergeht (Sawada et al., 1992; Welge-Lüssen et al., 2002). Nachdem einige Probereize gesetzt wurden, begann die eigentliche Aufzeichnung der OERP. Der gesamte Versuch mit Pausen dauerte circa 90 Minuten.

2.8. EEG - Datenanalyse

Für die Umwandlung und Analyse der Daten verwendeten wir Matlab (Mathworks, Natick, MA, USA) und die Letswave 5 Toolbox (Mouraux, Brüssel, Belgien, <http://nocions.webnode.com/letswave>). Die Daten wurden offline über einen Lowpassfilter (FFT) bis 15 Hz gefiltert. Die Baseline wurde 500 ms vor der Reizdarbietung festgelegt. Der EEG-Abschnitt umfasste 2048 ms. EEG Artefakte, vor allem der Zwinkerreflex, die größer als $-50/50 \mu\text{V}$ waren, wurden eliminiert. So zeigen Augenbewegungen zweigipflige Amplitudenmaxima (Plattig et al., 1979; Kobal, 1981). Das abgeleitete Signal wurde zunächst im Analog-Digital-Wandler in digitale Zahlenwerte umgewandelt. Die elektrische Aktivität eines einzelnen OERP ist sehr klein. Um diese messen zu können, musste das Averaging eingesetzt werden. Die Mittelwertrechnung reduziert die nicht reizgekoppelten Aktivitäten und hebt das reizabhängige Potential von der Gesamtaktivität hervor (Buchner et al., 2014). Für ein suffizientes Ergebnis sollten mindestens neun artefaktfreie OERP aufgezeichnet werden, die am Ende zu einer Reizantwort summiert werden (Hummel et Kobal, 1992). Nun untersuchten wir für jede einzelne Bedingung die Peak-to-Peak Amplitude und Latenz zwischen N1 und LP. Amplitudenmaxima OERP sind in der Regel über Pz zu erwarten und trigeminaler Potentiale hingegen bei Cz. Die hauptsächliche Negativität bei olfaktorischen Stimuli ist nach einer Latenz von 200 bis 700 ms und die hauptsächliche Positivität nach etwa 300 bis 800 ms im EEG zu erwarten. Trigeminaler Potenziale würden sich etwas früher ableiten lassen (Hummel et al., 1992; Hummel et Kobal, 1992). Die OERP des zweiten Reizes wurden zunächst nach zwei Kategorien sortiert: zweiter Reiz wahrgenommen und zweiter Reiz nicht wahrgenommen. Die einzelnen Bedingungen wurden mit den OERP der ersten Reize analysiert. Um auf einem Vergleichsniveau zu arbeiten und Paarvergleiche durchführen zu können, wurden über ein zufälliges Selektionsverfahren 50% der OERP der ersten Reize ausgewählt und jeweils mit den OERP des zweiten Reizes, für die Bedingung „wahrgenommen“ und „nicht wahrgenommen“, verglichen.

2.9. Statistische Auswertung

Die erhobenen Daten wurden mittels SPSS 22.0 ® (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) zusammengefasst und ausgewertet. Neben der deskriptiven Statistik wurden verschiedenste Varianzanalysen (ANOVA) durchgeführt. Für beide Versuchsreihen nutzten wir generalisierte, linear - gemischte Modelle (GLMM). Einflussfaktoren wie das Geschlecht, das ISI und zwei verschiedene Duftstoffkonzentrationen wurden verwendet, um deren Auswirkung auf die temporale Wahrnehmungsfähigkeit olfaktorisch identischer Reitpaare zu untersuchen. Die subjektive Intensitätsbewertung werteten wir mittels t -Test aus, um Post-

hoc Vergleiche, d.h. paarweise Mittelwertvergleiche, durchführen zu können. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt. Die Auswertung der unterschiedlichen Duftstoffkonzentrationen und ISI auf die temporale Diskriminationsfähigkeit der Reizpaare erfolgte mittels F - Wert. Für den zweiten Versuchsabschnitt wendeten wir ebenfalls den t-Test an. Der Chi-Quadrat-Test ermöglichte entsprechende Häufigkeitsverteilungen für den zweiten Versuchsabschnitt zu berechnen. Es konnten Aussagen über den prozentualen Anteil und die Signifikanz gemacht werden, inwieweit sich OERP beim zweiten Reiz für die Bedingungen „wahrgenommen“ und „nicht wahrgenommen“ ableiten konnten. Mithilfe der Bonferroni-Methode wurden die multiplen Paarvergleiche korrigiert.

3. Ergebnisse

3.1. Probandenkollektiv

Beim ersten Studienabschnitt nahmen insgesamt 42 Probanden teil. Zwei Probanden konnten den Duftstoff Orange lateralisieren und mussten deshalb von der Studie ausgeschlossen werden.

Insgesamt bestand das Probandenkollektiv (s.Abb.12) aus 22 Frauen und 18 Männern. Das Durchschnittsalter lag bei $24,1 \pm 3,3$ (zwischen 19 bis 35 Jahre).

Der zweite Versuchsabschnitt umfasste 20 Probanden, die bereits am ersten Versuch teilgenommen haben. Es beteiligten sich hier 11 Frauen und 9 Männer im Alter zwischen 19 und 29 Jahre. Das Durchschnittsalter lag bei $22,8 \pm 2,4$ Jahren.

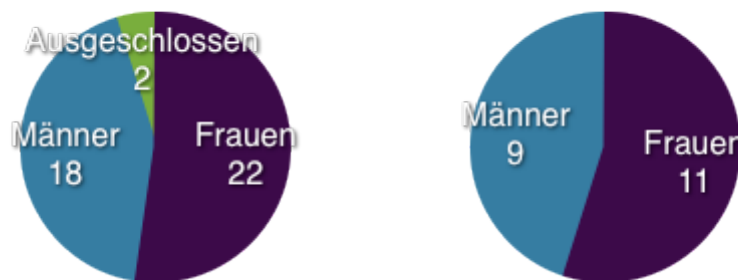


Abb. 12) Probandenkollektiv

Die beiden Kreisdiagramme stellen die Verteilung der Probanden dar. Auf der linken Seite für den ersten und auf der rechten Seite für den zweiten Versuchsabschnitt. Am ersten Versuch beteiligten sich 42 Probanden. Für den zweiten Versuch untersuchten wir 20 Teilnehmer.

3.2. „Sniffin‘ Sticks“ und Lateralisationstest

Der Identifikationstest mit den sogenannten „Sniffin‘ Sticks“ umfasst 16 Riechstifte. Man gilt als Normosmiker, wenn 12 oder mehr von 16 Riechstiften richtig identifiziert werden.

Im Durchschnitt erreichten die Teilnehmer einer Zahl von $14,18 \pm 0,93$ und wurden somit als normosmisch betrachtet.

Im Lateralisationstest konnten die Probanden im Durchschnitt $18,1 \pm 1,4$ (Bandbreite von 15 bis 22) der Reize dem entsprechenden Nasenloch richtig zuzuordnen. Bei einer Trefferquote von $\geq 75\%$ konnten zwei der Teilnehmer den Duftstoff lateralisieren und wurden deshalb von der Studie ausgeschlossen.

3.3. Intensitätsbewertung

Zunächst erfolgte eine subjektive Intensitätsbewertung für die beiden Duftstoffkonzentrationen (Orange 50% und 5%). Die konzentrationschwachen Reize (5%) wurden mit $35,27 \pm 12,29\%$ und die konzentrationsstarken Reize wurde im Durchschnitt mit $55,77 \pm 13,43\%$ von den Probanden auf einer visuellen Analogskala von 0-100 bewertet (s.Abb. 13). Bei einer konstanten Reizdauer von 400 ms wurde der Orangenduftstoff mit einer Konzentration von 50% von den Probanden signifikant intensiver wahrgenommen als mit der Konzentration von 5% ($t=13,160$; $p<0,001$).

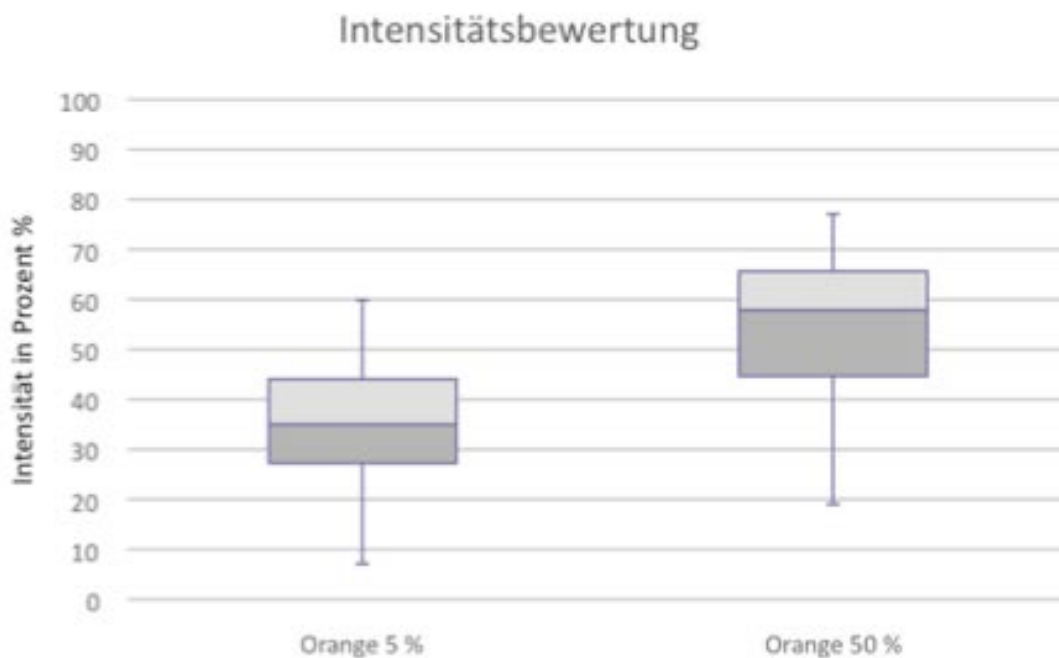


Abb.13) Boxplot-Diagramm: Bewertung der Geruchsintensität

Im Boxplot-Diagramm sind das Minimum, das Maximum, der Median, sowie das erste (25%) und dritte (75%) Quartil dargestellt. Über eine visuelle Analogskala von 0 - 100 % wurden die Intensitäten für 5% und 50% Orange von den Probanden evaluiert. Zwischen den verwendeten Duftstoffkonzentrationen lag ein signifikanter Unterschied vor. Die höhere Duftstoffkonzentration wurde mit einer stärkeren Intensität bewertet.

3.4. Interaktion von Geschlecht und Interstimulusintervall auf die Wahrnehmung von Reizpaaren

Das Geschlecht hat keinen signifikanten Einfluss auf eine bessere bzw. schnellere Wahrnehmungsfähigkeit von zwei Reizen eines Stimuluspaares ($F=1,71$; $p=0,19$). Frauen konnten zu $48,16\pm 10\%$ und Männer zu $46\pm 11\%$ zwei Reize eines Reizpaares als separat voneinander wahrnehmen.

3.5. Einfluss unterschiedlicher Duftstoffkonzentration und ISI auf die temporale Wahrnehmung von Reizpaaren

In diesem Versuchsabschnitt untersuchten wir den Einfluss der unterschiedlichen Duftstoffkonzentrationen auf die temporale Wahrnehmung von Stimuluspaaren, in Form einer Verkürzung des ISI. Bei höheren Duftstoffkonzentrationen (Orange 50%) konnten zu $49,2\pm 35,9\%$ Reizpaare separat voneinander diskriminiert werden. Zu $45,5\pm 34\%$ war dies für niedrige Duftstoffkonzentrationen (Orange 5%) möglich. Somit wurden die beiden Reize eines Stimuluspaares bei höheren Duftstoffkonzentrationen über alle ISI im Durchschnitt signifikant öfter als getrennt voneinander wahrgenommen als bei niedrigen Duftstoffkonzentrationen ($F=5,39$; $p=0,021$). Im Paarvergleich zwischen den beiden Duftstoffkonzentrationen und jedem ISI einzeln betrachtet, zeigten sich keine signifikanten Effekte. Je länger das ISI wurde, desto häufiger konnten die zwei Reize eines Stimuluspaares separat diskriminiert werden ($F=307$; $p<0,001$). Dies wird in Abbildung 14 noch einmal verdeutlicht.

Bei sehr kurzen ISI von 800 ms nahmen die Teilnehmer zunächst zu $6,4\pm 10\%$ zwei Reize als getrennt voneinander wahr. Ab einem ISI von 6000 ms wurde sogar zu $84,3\pm 17,6\%$ zwei Reize eines Reizpaares als separat diskriminiert. Ein deutlicher Umschlagspunkt konnte bei einem ISI zwischen 3000 ms und 4000 ms festgestellt werden. Bereits bei 3000 ms wurden zu $38,0\pm 2,72\%$ der zweite Reiz getrennt vom ersten Reiz diskriminiert. Ab einem ISI von 4000 ms kam es zum deutlichen Anstieg auf $58,7\pm 2,22\%$. Zwischen einem ISI von 2000 ms und 3000 ms lag ein signifikanter Unterschied vor ($t=5,486$; $p<0,001$). Das Gleiche ließ sich zwischen einem ISI von 3000 ms und 4000 ms ($t=3,905$; $p<0,001$) beobachten. Danach kam es nur noch zu einem leichten, aber nicht mehr signifikanten Anstieg. Bei 80% Wahrnehmungsfähigkeit und einem ISI von 6000 ms wurde ein Plateau erreicht.

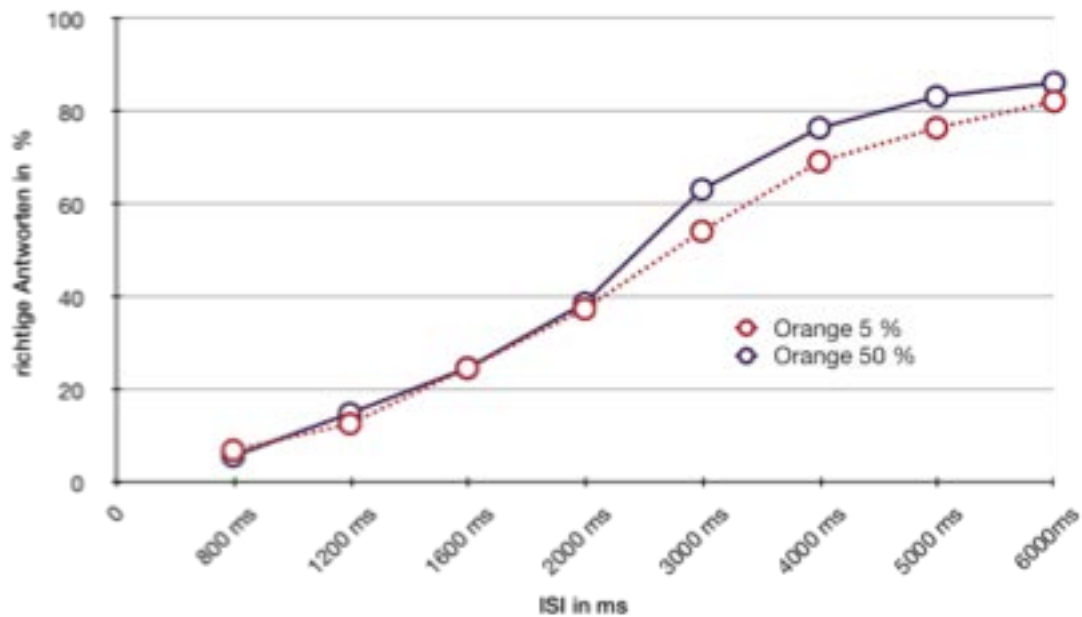


Abb. 14) Einfluss von Duftstoffkonzentration und ISI auf die temporale Wahrnehmung olfaktorischer Reizpaare

Das vorliegende Diagramm stellt den prozentualen Anteil der richtig wahrgenommener Reizpaare (y-Achse) in Relation zum ISI (x-Achse), unter Verwendung zwei verschiedener Duftstoffkonzentrationen, dar. Der rote Kurvenverlauf entspricht dem für 5% Orange und der lila Kurvenverlauf stellt die temporale Diskriminationsfähigkeit bei 50% Orange dar. Reizpaare konnten unter Verwendung der höheren Duftstoffkonzentration häufiger als zwei separate Reize wahrgenommen werden, wenn alle ISI zusammen betrachtet wurden. Für jedes ISI einzeln gesehen, zeigten sich aber keine signifikanten Unterschiede. Mit steigenden ISI konnten bei beiden Konzentrationen mehr Reizpaare diskriminiert werden. Ein signifikanter Effekt zeigte sich bis zu einem ISI zwischen bis 4000 ms. Danach kommt es nur noch zu einem leichten, aber nicht signifikanten Anstieg bis auf eine 80% Diskriminationsfähigkeit.

3.6. Zweiter Versuchsabschnitt

In diesem Studienabschnittes wurden Reizpaare mit einem kurzen ISI (2 bis 3s) präsentiert, während OERP mittels EEG abgeleitet wurden, um zu untersuchen, inwieweit eine zentralnervöse Verarbeitung nicht bewusst wahrgenommener Reize stattfindet. Insgesamt konnte bei 19 der 20 Teilnehmer nach dem ersten Reiz eines Reizpaares ein OERP aufgezeichnet werden. N1 trat nach durchschnittlich 456 ± 115 ms und mit einer Amplitude von $-2.80 \pm 1.34 \mu\text{V}$ auf. Die LP Komponente konnte im Durchschnitt bei einer Latenz von 657 ± 108 ms und mit einer Amplitude von $2.77 \pm 1.45 \mu\text{V}$ aufgezeichnet werden.

Im Folgenden wurden Paarvergleiche durchgeführt und entsprechende Latenz- und Amplitudenveränderungen der N1-/LP-Komponente untersucht:

- erster Reiz (alle) vs. zweiter Reiz (alle)
- erster Reiz (50%) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen)
- erster Reiz (50%) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)
- zweiter Reiz (wahrgenommen) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)
- erster Reiz (50%) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)

3.7. Erster Reiz (alle) vs. zweiter Reiz (alle)

OERP- Latenz:

Die Latenz war für N1 und LP jeweils beim zweiten Reiz signifikant verlängert. Die N1-Latenz (s.Abb.15) trat im Durchschnitt beim ersten Stimulus bei 456 ± 115 ms und beim zweiten Reiz bei 549 ± 92 ms auf. Für den ersten Reiz war die N1 Latenzzeit signifikant kürzer als für den zweiten Reiz ($t=6,104$; $p<0,001$).

Die LP Latenzzeit trat für den ersten Reiz im Durchschnitt bei 657 ± 108 ms und für den zweiten Reiz bei 723 ± 93 ms auf (s.Abb.15). Auch hier war die LP Latenzzeit für den ersten Reiz signifikant kürzer als für den zweiten Reiz ($t=4,561$; $p<0,001$).

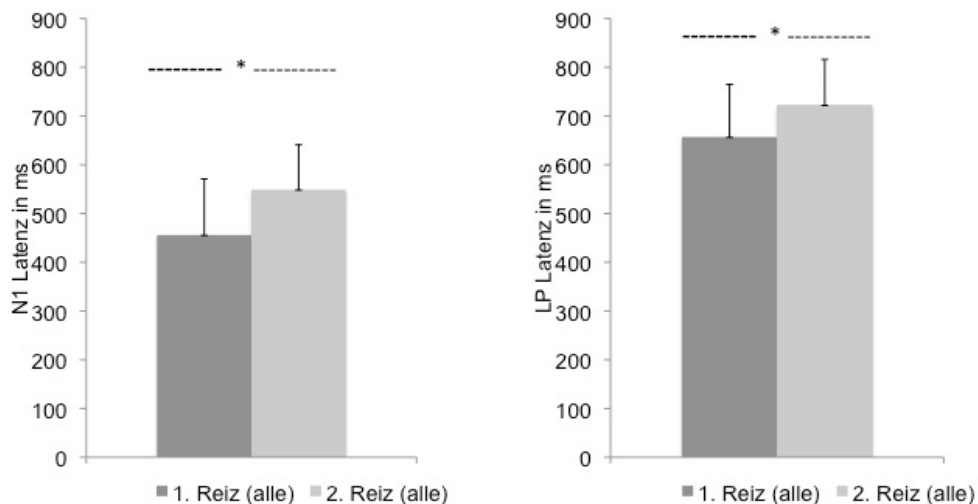


Abb. 15) Latenz für N1/LP: erster Reiz (alle) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen/nicht wahrgenommen)

Dargestellt sind die Mittelwerte (M) und Standardabweichungen (SD) für die Bedingungen alle ersten Reize (dunkelgrau) vs. alle zweiten Reize (hellgrau). Die Latenzzeit ist signifikant in N1 und LP für den zweiten Reiz verlängert. * = signifikant, $p<0,05$.

OERP- Amplitude:

Wie in Abb. 16 visualisiert, wurden für die N1 Komponente beim ersten Reiz Amplituden von $-2,81 \pm 1,34 \mu\text{V}$ und beim zweiten Reiz von $-2,33 \pm 1,13 \mu\text{V}$ ermittelt. Die N1 Amplitude war im Paarvergleich für den zweiten Reiz signifikant kleiner ($t=2,774$; $p=0,046$).

Für die LP Amplitude war im Paarvergleich keine Signifikanz erkennbar ($t=1,057$; $p=0,978$). Die LP Amplitude erreichte beim ersten Reiz Werte von $2,77 \pm 1,45 \mu\text{V}$ und für den zweiten Reiz $3,08 \pm 1,68 \mu\text{V}$ (s.Abb.16).

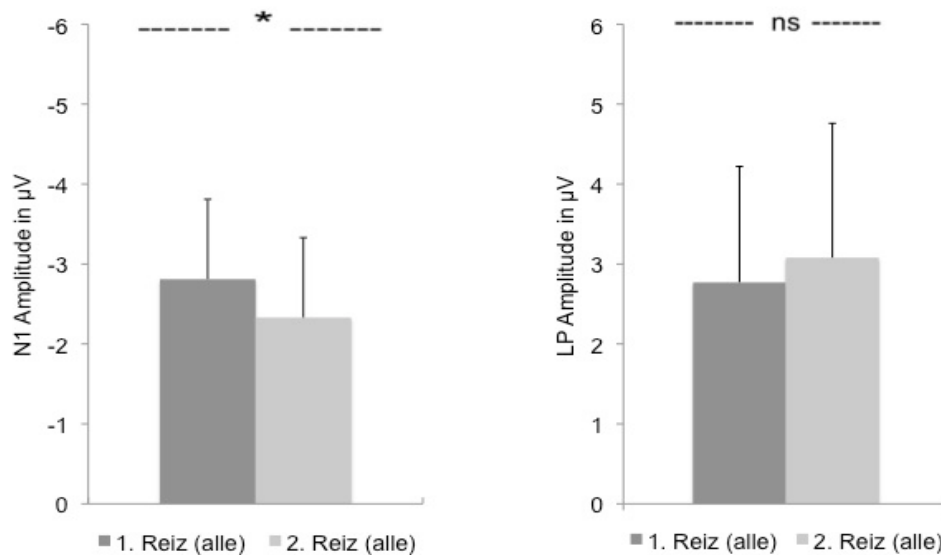


Abb.16) Amplituden für N1/LP: erster Reiz (alle) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen/nicht wahrgenommen)

Dargestellt sind die M und SD für die Bedingungen erster Reiz (alle),(dunkelgrau) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen/nicht wahrgenommen),(hellgrau). Die N1 Amplitude ist beim zweiten Reiz signifikant kleiner vs. ersten Reiz. Keine signifikanten Unterschiede für LP.

* = signifikant, ns = nicht signifikant, $p < 0,05$.

3.8. Erster Reiz (50% der Reize) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen)

OERP- Latenz:

Zunächst verglichen wir die OERP der ersten Reize (50% der Reize) mit den zweiten bewusst wahrgenommenen Reizen. Um auf einem Vergleichsniveau zu arbeiten und Paarvergleiche durchführen zu können, wurden über ein zufälliges Selektionsverfahren 50% der OERP der ersten Reize ausgewählt und mit den OERP des zweiten Reizes verglichen.

Die Latenzzeit war (s.Abb.17 und 18) für den zweiten Reiz sowohl für die N1- als auch LP-Komponente verlängert. N1 trat beim ersten Reiz bei 448 ± 112 ms und für den zweiten Reiz bei 532 ± 81 ms auf. Die N1 Latenzzeit war für den zweiten wahrgenommenen Reiz signifikant verlängert ($t=5,59$; $p<0,001$). Die LP Latenz lag für den ersten Reiz bei 625 ± 114 ms und für den zweiten Reiz bei 726 ± 106 ms. Auch hier war die LP Latenz für den zweiten Reiz signifikant verlängert ($t=5,99$; $p<0,001$).

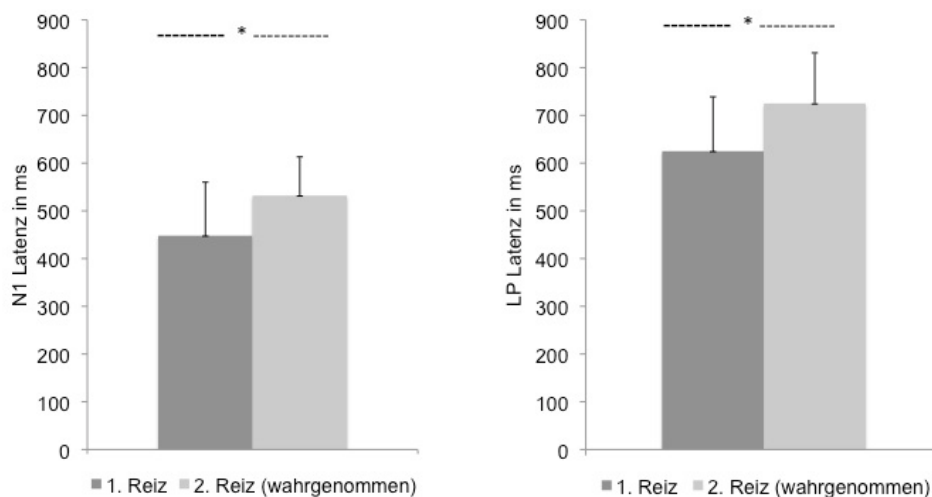


Abb. 17) Latenz für N1/LP: erster Reiz (50%) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen)

Dargestellt sind die M und SD für die Bedingungen erster Reiz (50%), (dunkelgrau) vs. zweiter Reize (wahrgenommen), (hellgrau). Die Latenzzeit ist signifikant in N1 und LP für den zweiten Reiz verlängert. * = signifikant, $p < 0,05$.

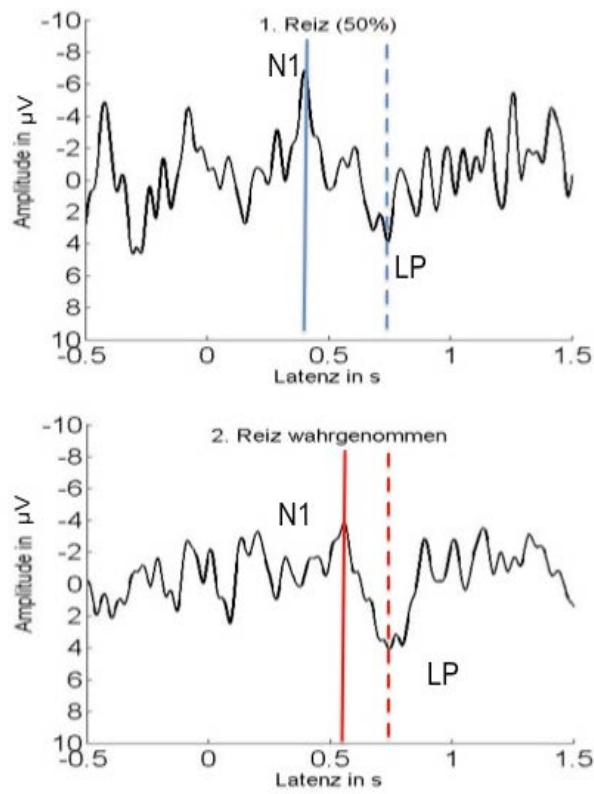


Abb. 18) OERP-Latenzveränderungen für N1/LP: erster Reiz vs. 2. Reiz wahrgenommen

Das OERP für den 2. Reiz zeigt eine signifikante Verlängerung der Latenzzeit sowohl für die N1, als auch für die LP Komponente.

OERP - Amplitude:

Im Folgenden (s.Abb.19) wurden die N1 und LP Amplituden untersucht. Es konnten beim ersten Reiz für die N1 Komponente durchschnittlich Amplitudenwerte von $-3,34 \pm 1,83 \mu\text{V}$ und für den zweiten Reiz $-2,71 \pm 1,72 \mu\text{V}$ gemessen werden. Beim LP wurden für den ersten Reiz Amplitudenwerte von $3,08 \pm 2,49 \mu\text{V}$ und für den zweiten Reiz $3,64 \pm 1,75 \mu\text{V}$ ermittelt. Die N1- und LP- Amplituden ergaben vergleichsweise für den ersten und zweiten Reiz keine signifikanten Unterschied (N1: $t=2,014$; $p=0,312$; LP: $t=1,459$; $p=0,727$).

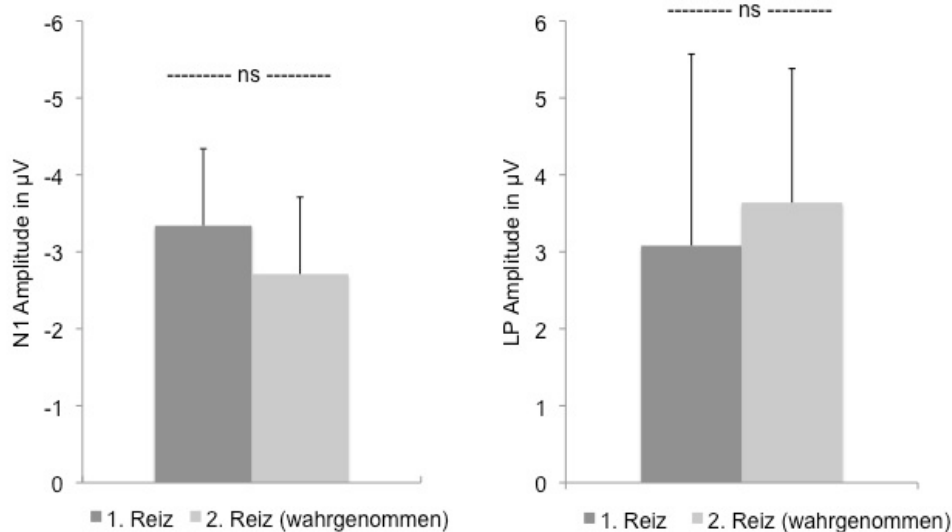


Abb.19) Amplituden für N1/LP: erster Reiz (50%) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen)

Dargestellt sind die M und SD für die Bedingungen erster Reiz (50%), (dunkelgrau) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen), (hellgrau). Die N1 und LP Amplitude zeigen für beide Bedingungen keine signifikanten Unterschiede. ns = nicht signifikant, $p < 0,05$.

3.9. Erster Reiz (50% der Reize) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)

Latenz:

Im Folgenden wurde die Latenz von N1 und LP des ersten Reizes mit dem zweiten nicht wahrgenommenen Reiz verglichen. N1 (s. Abb.20) trat beim ersten Reiz mit einer Latenz von 448 ± 112 ms und beim zweiten Reiz mit 631 ± 56 ms auf. Im Paarvergleich war die Latenz für den zweiten Reiz signifikant verlängert (N1: $t=12,736$; $p<0,001$).

Der Abb. 19 ist zu entnehmen, das die LP-Latenz für den ersten Reiz im Durchschnitt nach 626 ± 114 ms und für den zweiten Reiz nach 780 ± 45 ms auftrat. Auch hier (s.Abb.21) war die Latenzzeit für den zweiten Reiz signifikant länger (LP: $t=11,030$; $p<0,001$).

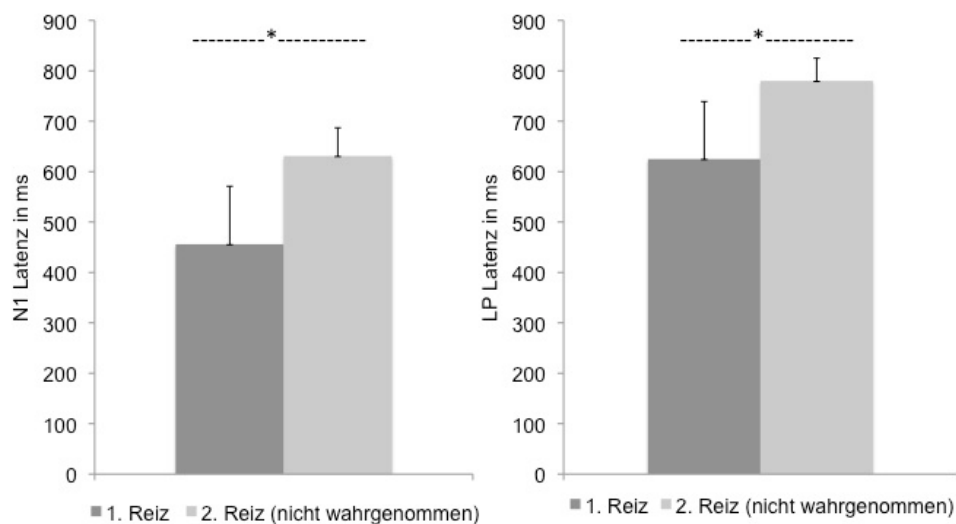


Abb. 20) Latenz für N1/LP: erster Reiz (50%) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)

Dargestellt sind die M und SD für die Bedingungen erster Reiz (50%),(dunkelgrau) vs. zweiter Reize (nicht wahrgenommen),(hellgrau). Die Latenzzeit ist signifikant in N1 und LP für den zweiten Reiz verlängert. * = signifikant, $p < 0,05$.

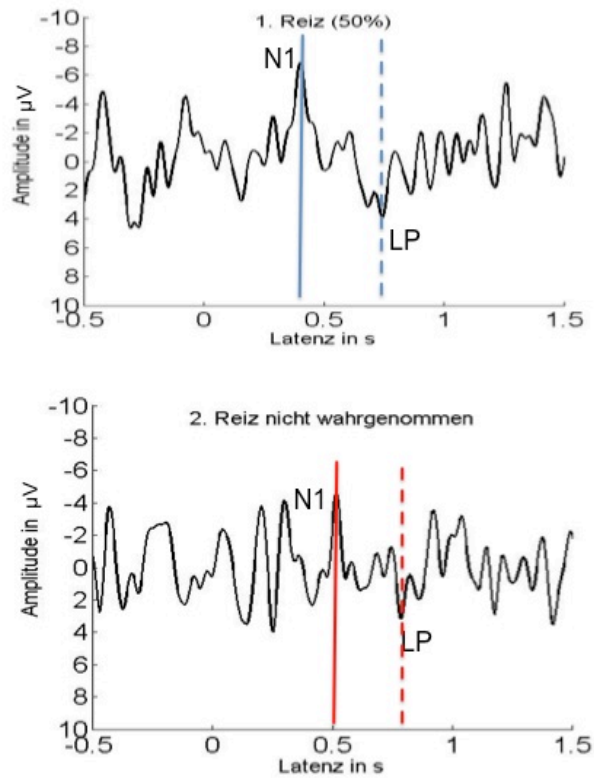


Abb. 21) OERP-Latenzveränderungen für N1/LP: erster Reiz vs. zweiter Reiz nicht wahrgenommen

Das dargestellte OERP zeigt für den zweiten nicht wahrgenommenen Reiz eine signifikante Verlängerung der Latenzzeit. Die Latenz ist sowohl für die N1, als auch für die LP Komponente verlängert.

OERP - Amplitude:

Für die N1-Amplitude des ersten Reizes wurden Durchschnittswerte von $-3,34 \pm 1,83 \mu\text{V}$ und für den zweiten Reiz von $-2,45 \pm 1,32 \mu\text{V}$ erreicht. Die N1 Amplitude (s. Abb.22 und 23) des nicht wahrgenommenen Stimulus war signifikant kleiner ($t=3,29$; $p<0,01$). Die LP Amplitude erreichte für den ersten Reiz im Durchschnitt Werte von $3,08 \pm 2,49 \mu\text{V}$ und für den zweiten Reiz $3,98 \pm 1,81 \mu\text{V}$. Die LP-Amplitude (s. Abb. 22) war nicht signifikant verändert ($t=2,16$; $p=0,189$).

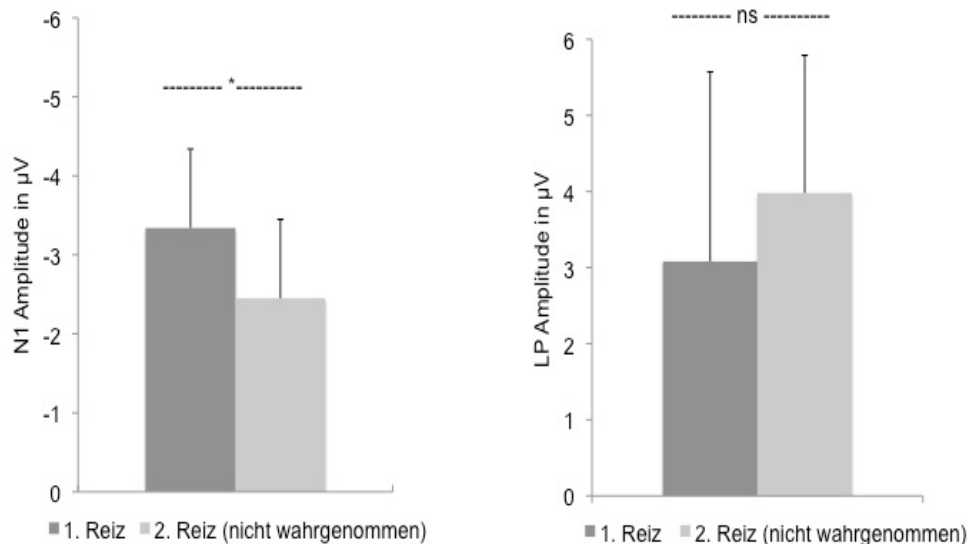


Abb. 22) Amplituden für N1/LP: erster Reiz (50%) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)

Dargestellt sind die M und SD für die Bedingungen erster Reiz (50%), (dunkelgrau) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen), (hellgrau). Die Amplitude in N1 ist für den zweiten Reiz signifikant kleiner. Für die LP-Komponente zeigen sich keine signifikanten Effekte. * = signifikant, ns = nicht signifikant, $p<0,05$.

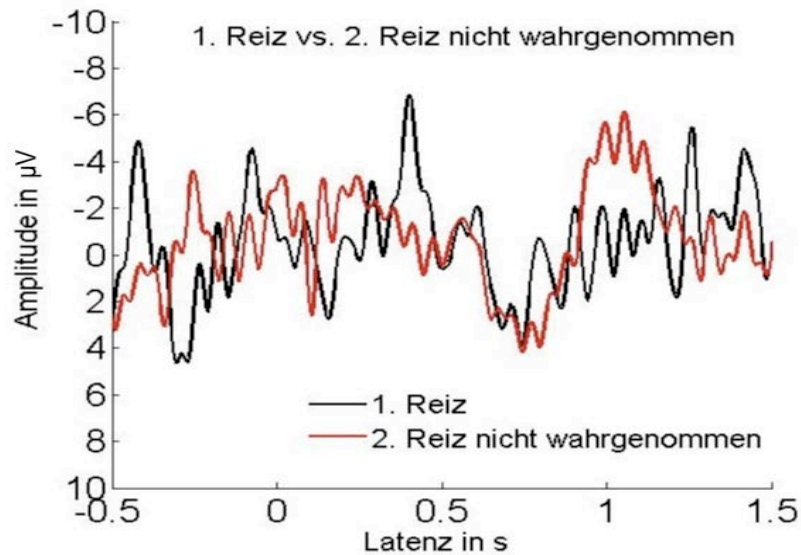


Abb. 23) Gegenüberstellung der Amplituden für N1 und LP: erster Reiz vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)

Die Amplitude in N1 ist für den zweiten nicht wahrgenommenen Reiz in N1 signifikant kleiner im Vergleich zum ersten Reiz. Für die LP-Komponente ließen sich keine signifikanten Veränderungen nachweisen.

3.10. Zweiter Reiz (wahrgenommen) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)

OERP - Latenz:

Der Vergleich des zweiten wahrgenommenen Reizes mit dem nicht wahrgenommenen Stimulus brachte folgende Ergebnisse hervor. N1 konnte für den zweiten wahrgenommenen Reiz im Durchschnitt nach 523 ± 82 ms und für den nicht wahrgenommenen Reiz nach 632 ± 56 ms aufgezeichnet werden. Die Latenz für den zweiten nicht wahrgenommenen Reiz, wie in Abb. 24 und 25 dargestellt, war signifikant verlängert ($t=8,77$; $p<0,001$). Die LP Komponente des wahrgenommenen Reizes trat mit einer Latenz von durchschnittlich 726 ± 106 ms und für den nicht wahrgenommenen Reiz nach 780 ± 45 ms auf. Auch hier war die Latenz des nicht wahrgenommenen Reizes (s. Abb. 24 und 25) signifikant verlängert ($t=4,32$; $p<0,001$).

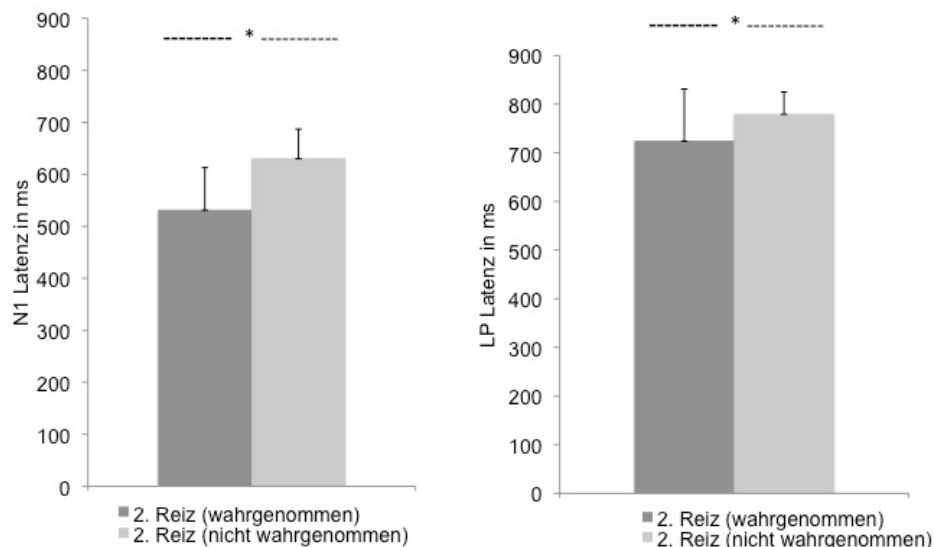


Abb. 24) Latenz für N1/LP: zweiter Reiz (wahrgenommen) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)

Dargestellt sind die M und SD für die Bedingungen zweiter Reiz (wahrgenommen), (dunkelgrau) vs. zweiter Reize (nicht wahrgenommen), (hellgrau). Die Latenzzeit ist signifikant in N1 und LP für den zweiten Reiz (nicht wahrgenommen) verlängert. * = signifikant, $p<0,05$.

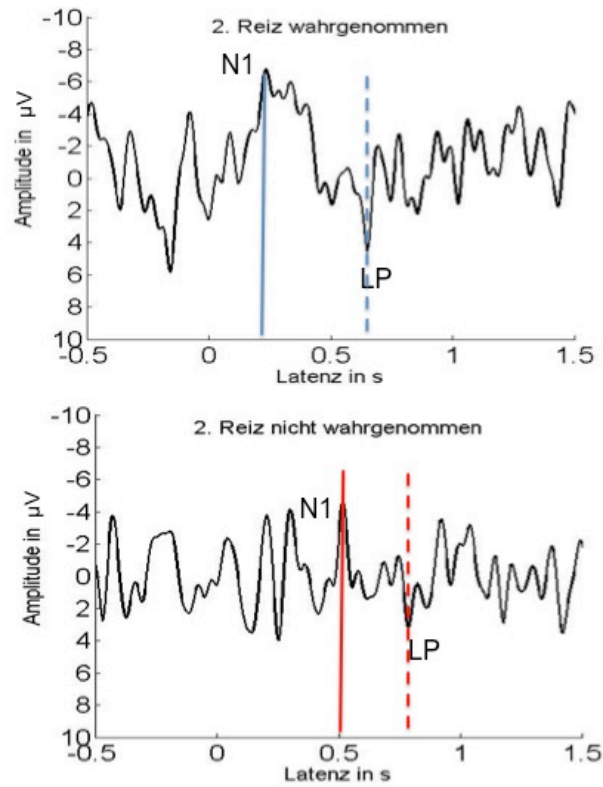


Abb. 25) OERP-Latenzveränderungen für N1/LP: zweiter Reiz wahrgenommen vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)

Das dargestellte OERP zeigt für den zweiten nicht wahrgenommenen Reiz eine signifikante Verlängerung der Latenzzeit. Sowohl für die N1, als auch für die LP Komponente sind verlängerte Latenzzeiten zu beobachten.

OERP- Amplitude:

Für den zweiten wahrgenommenen Reiz wurden durchschnittlich Amplituden von N1: $-2,71 \pm 1,72 \mu\text{V}$ und in LP: $3,64 \pm 1,74 \mu\text{V}$ aufgezeichnet (s.Abb.26). Beim zweiten nicht wahrgenommenen Reiz konnten Amplitudenwerte für N1 bei $-2,43 \pm 1,31 \mu\text{V}$ und für LP bei $3,98 \pm 1,81 \mu\text{V}$ aufgezeichnet werden (s.Abb.26). Im Paarvergleich zeigten sich für N1 und LP keine signifikanten Veränderungen (N1: $t=0,98$; $p=0,983$; LP: $t=1,012$; $p=0,978$).

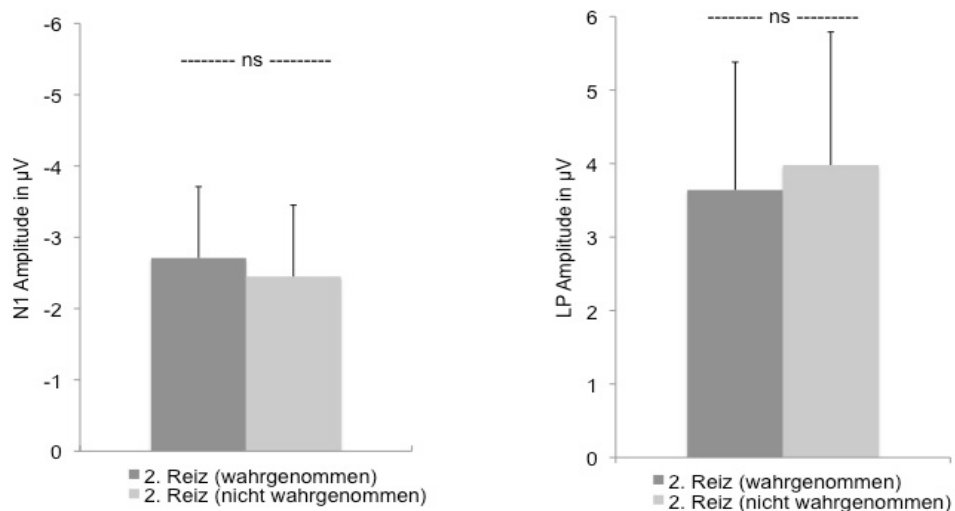


Abb. 26) Amplituden für N1/LP: zweiter Reiz (wahrgenommen) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)

Dargestellt sind die M und SD für die Bedingungen zweiter Reiz (wahrgenommen),(dunkelgrau) vs. zweiter Reize (nicht wahrgenommen),(hellgrau). Die Amplitude in N1 und LP ist für beide Bedingungen nicht signifikant verändert. ns = keine Signifikanz, $p < 0,05$.

OERP- Latenzen für N1 und LP für alle Bedingungen:

Im Folgenden erfolgte die Zusammenstellung aller drei Reizbedingungen. Sowohl der zweite, wahrgenommene Reiz, als auch der nicht wahrgenommene Reiz zeigen eine signifikante Verlängerung der N1 Latenzzeit gegenüber dem ersten Reiz (1. Reiz vs. 2. wahrgenommener Reiz: $t=5,5$; $p<0,001$; 1. Reiz vs. 2. nicht wahrgenommener Reiz: $t=12,736$; $p<0,001$). Das Gleiche ist für den zweiten nicht wahrgenommenen Reiz zu beobachten, der gegenüber dem wahrgenommenen Reiz eine verlängerte Latenz aufweist (N1: $t=8,77$; $p<0,001$).

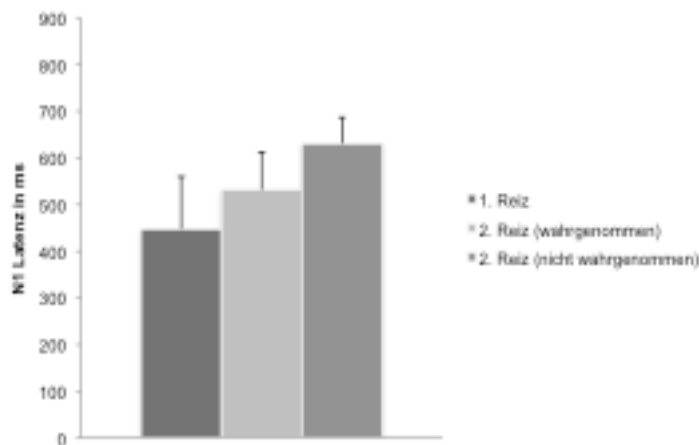


Abb. 27) Latenz für N1: alle drei Bedingungen im Vergleich

Dargestellt sind die M und SD für die Bedingungen erster Reiz (50%), (schwarz) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen), (hellgrau) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen), (dunkelgrau). Die Latenzzeit ist signifikant in N1 für beide Bedingungen zweiter Reiz „wahrgenommen“ und „nicht wahrgenommen“ vs. erster Reiz verlängert. Das Gleiche gilt im Paarvergleich zweiter Reiz „wahrgenommen“ vs. zweiter Reiz „nicht wahrgenommen“. Die Latenzzeit für den „nicht wahrgenommenen“ Reiz ist signifikant verlängert. $p<0,05$.

Wenn alle drei Reizbedingungen für die LP-Komponente betrachtet werden zeigen sich ebenfalls für den zweiten wahrgenommenen und nicht wahrgenommenen Reiz gegenüber dem ersten Reiz Latenzzeitverlängerungen (1. Reiz vs. 2. wahrgenommener Reiz: $t=5,99$; $p<0,001$; 1. Reiz vs. 2. nicht wahrgenommener Reiz: $t=11,030$; $p<0,001$). Der zweite nicht wahrgenommene ist gegenüber dem wahrgenommenen Reiz ebenfalls in der Latenz signifikant verlängert ($t=4,32$; $p<0,001$).

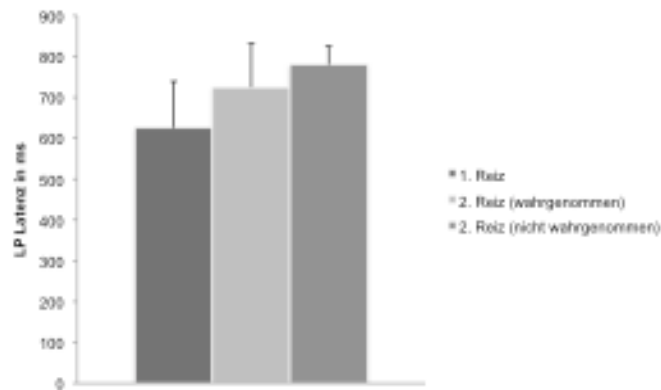


Abb. 28) Latenz für LP: alle drei Bedingungen im Vergleich

Dargestellt sind die M und SD für die Bedingungen erster Reiz (50%), (schwarz) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen), (hellgrau) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen), (dunkelgrau). Die Latenzzeit ist signifikant in LP für beide Bedingungen zweiter Reiz „wahrgenommen“ und „nicht wahrgenommen“ vs. erster Reiz verlängert. Das Gleiche gilt im Paarvergleich zweiter Reiz „wahrgenommen“ vs. zweiter Reiz „nicht wahrgenommen“. Die Latenzzeit für den „nicht wahrgenommenen“ Reiz ist signifikant verlängert. $p < 0,05$.

OERP - Amplituden für N1 und LP für alle Bedingungen:

In der Gegenüberstellung der Amplitude zeigt sich gegenüber dem ersten Reiz eine verkleinerte N1 Amplitude für den zweiten nicht wahrgenommenen Reiz ($t=3,29$; $p < 0,01$). Es sind keine weiteren signifikanten Effekte zwischen den anderen Reizbedingungen zu beobachten.

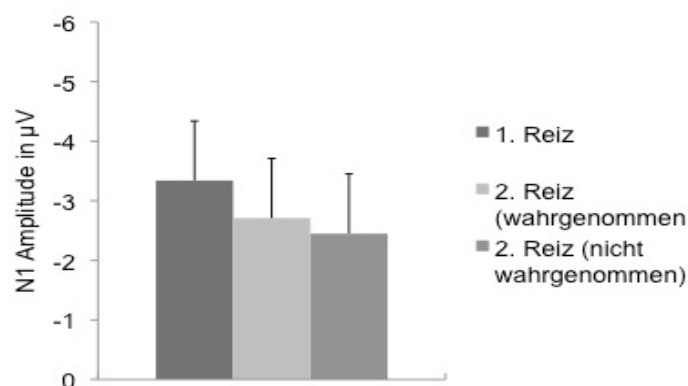


Abb. 29) Amplitude für N1: alle drei Bedingungen im Vergleich

Dargestellt sind die M und SD für die Bedingungen erster Reiz (50%), (schwarz) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen), (hellgrau) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen), (dunkelgrau). Die N1 Amplitude ist für den zweiten „nicht wahrgenommenen“ Reiz vs. erster Reiz verkleinert. Es zeigten sich keine weiteren signifikanten Unterschiede zwischen den Bedingungen. $p < 0,05$.

Wie in Abb. 30 dargestellt, ist für die LP-Komponente zwischen allen drei Reizbedingungen keine signifikanten Unterschiede zu erkennen.

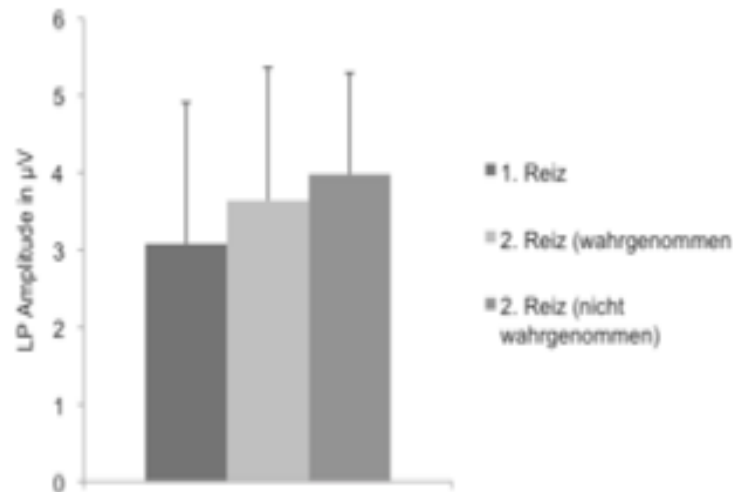


Abb. 30) Amplitude für LP: alle drei Bedingungen im Vergleich

Dargestellt sind die M und SD für die Bedingungen erster Reiz (50%), (schwarz) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen), (hellgrau) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen), (dunkelgrau). Die LP Amplitude zeigte für alle drei Bedingungen keine signifikanten Unterschiede. $p < 0,05$.

Häufigkeitsverteilung – Aufzeichnung eines OERP beim zweiten Reiz wahrgenommenen und nicht wahrgenommenen Reiz

Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Testes wurde untersucht, wie häufig OERP beim zweiten wahrgenommenen und nicht wahrgenommenen Reiz abgeleitet werden konnten.

Zu 95% ließen sich bei bewusst wahrgenommenen Reizen OERP ableiten. Nur zu 65% war dies bei nicht bewusst wahrgenommenen Reizen möglich. D.h. zu 35% der nicht wahrgenommenen Reize konnte kein OERP erfasst werden.

Beim zweiten wahrgenommenen Reiz konnten signifikant häufiger OERP aufgezeichnet werden als beim nicht wahrgenommenen Reiz ($\chi^2=7,03$; $p=0,008$).

4. Diskussion

4.1. Diskussion der Ergebnisse

4.1.1. Einfluss von Duftstoffkonzentration und ISI auf olfaktorische Reizpaare

In der aktuellen Literatur liegen derzeit kaum vergleichbare Studien vor, die sich mit der zentralen Verarbeitung unbewusster olfaktorischer Reizpaare beschäftigen.

Aus vorherigen Untersuchungen ist maßgeblich bekannt, dass die bewusste Wahrnehmungs- bzw. Diskriminierungsfähigkeit von Reizpaaren durch das ISI beeinflusst wird (Wang et al., 2002; Croy et al., 2014a).

Die Vorstudie von Frenzel et al. untersuchte bereits den Einfluss olfaktorischer (H_2S , PEA) und trigeminaler (CO_2) Duftstoffe auf die temporale Wahrnehmungsfähigkeit von Reizpaaren mit kurzen ISI (Schriever et al., 2015). Mit der Frage, welchen Einfluss unterschiedliche olfaktorische Duftstoffkonzentrationen (5% und 50% Orange) in Verbindung mit unterschiedlich langen ISI (800 bis 6000 ms) auf die temporale Wahrnehmungs- und Diskriminierungsfähigkeit von Reizpaaren haben, war Inhalt des ersten Abschnittes der Studie. Bei höheren Duftstoffkonzentrationen konnten signifikant häufiger Stimuluspaare als zwei Reize wahrgenommen werden. D.h., wenn alle ISI zusammen betrachtet wurden, konnten bei höheren Duftstoffkonzentrationen (Orange 50%) mehr Reizpaare, als zwei getrennte Stimuli diskriminiert werden. Für jedes ISI individuell betrachtet, ließ sich aber dieses Phänomen nicht nachweisen. Es gab keine signifikanten Effekte auf eine verbesserte temporale Wahrnehmung in Form eines kleiner werdenden ISI. D.h., die Stimuli konnten bei höheren Konzentrationen nicht wesentlich schneller als zwei separate Stimuli unterschieden werden. Signifikant für beide Duftstoffkonzentrationen war hingegen, dass mit länger werdenden ISI Reizpaare bewusst als zwei separate Stimuli wahrgenommen werden konnten. Der prozentuale Anteil bewusst wahrgenommener Reizpaare, d.h. dass zwei Reize separat wahrgenommen wurden, stieg bis zu einem ISI von 4000 ms signifikant an. Danach zeichnete sich nur noch ein leichter Anstieg ab bzw. wurde ein Plateau bei 6000 ms erreicht. Diese Beobachtungen decken sich mit denen von Frenzel et al.. Die Reizpaare wurden, unter allen drei von ihr verwendeten Duftstoffen (H_2S , PEA, CO_2), mit steigendem ISI besser diskriminiert. Die bewusste Wahrnehmung für die olfaktorischen Duftstoffe (H_2S und PEA) nahm prozentual gesehen bis zu einem ISI von 3000 ms zu. Danach stieg die Wahrnehmungsfähigkeit bis 9000 ms zwar leicht, aber nicht mehr signifikant an (Schriever et al., 2015). In einer von Wang et al. (2002) durchgeführten Studie konnte gezeigt werden, dass die Länge des ISI im besonderen Maße Einfluss auf die Wahrnehmung von Reizpaaren hat. Der prozentuale Anteil nicht wahrgenommener Reize nimmt signifikant mit kürzer

werdenden ISI zu. Dabei ist ein ISI von mindestens 2000 bis 2500 ms nötig, damit wir Reize als getrennt voneinander unterscheiden können (Wang et al., 2002; Croy et al., 2014a).

Für die Reizwahrnehmung zwei olfaktorisch identischer Stimuli benötigt das olfaktorisch System also ein relativ langes ISI, im Vergleich zu unseren anderen Sinnesmodalitäten (Cain, 1976). Dem scheint u.a. das neuronale Aktivitätslevel der ORN geschuldet. Es wurde bei ORN der Wirbeltiere herausgefunden, dass ein ISI von mindestens 4 bis 10 s zwischen zwei Reizen benötigt, damit das ORN regeneriert und wieder ein annähernd gleiches Aktivitätslevel erreicht (Zufall und Leinders-Zufall, 1998; Zufall und Leinders-Zufall, 2000).

Eine 100% Diskriminationsfähigkeit erreichten die Probanden, trotz länger werdenden ISI, nicht. Bei einem ISI von 6000 ms wurden zu etwa 80% zwei separate Reize erfasst. Dieses Phänomen beschreibt auch Cindy Frenzel. Der erste Reiz, innerhalb eines Stimuluspaares, wurde bei einem ISI von 9000 ms zwischen 4,5% bis 9% nicht bewusst vom Probanden erfasst. Dies würde erklären, warum keine 100% Diskriminationsfähigkeit erreicht wird. Spence et al. unterstützen diese Feststellung. Zehn Prozent der präsentierten olfaktorischen Reize (H₂S) konnten, trotz ausreichend langen ISI, von den Teilnehmern nicht wahrgenommen werden (Spence et al., 2001). Das Geschlecht hatte keinen Einfluss auf eine schnellere Diskriminationsfähigkeit olfaktorischer Reizpaare.

Es lässt sich also zusammenfassend sagen, dass bei höheren Duftstoffkonzentrationen Reizpaare zwar häufiger, aber nicht wesentlich schneller als zwei separate Stimuli diskriminiert werden können. Mit steigendem ISI werden zwei Reize eines Stimuluspaares häufiger getrennt wahrgenommen.

4.1.2. Ableitung OERP bei olfaktorischen Reizpaaren

Es ist inzwischen bekannt, dass wir einen Teil der Informationen, die wir über unsere Sinne aufnehmen und verarbeiten, nicht bewusst wahrnehmen (Melloni et Schwiedrzik, 2009).

Einzelne Studien konnten bereits elektrische Potentiale in der Riechschleimhaut über das EOG ableiten, obwohl der olfaktorische Reiz von den Probanden nicht bewusst wahrgenommen wurde. Somit konnte nachweislich gezeigt werden, dass auf peripherer Ebene eine Verarbeitung unbewusster Reize stattfindet (Hummel et Kopal, 1992; Kassab et al., 2009; Hummel et al., 2006). Weshalb diese Reize für uns unbewusst bleiben, lässt die Ursache auf zentraler Ebene vermuten (Hummel et al., 1996, 2006).

In unserer zweiten Versuchsreihe präsentierten wir, aus den erhobenen Daten des ersten Versuchsabschnittes, erneut Reizpaare mit kurzem ISI von 2000 bis 3000 ms und leiteten OERP mittels EEG ab. Bei diesen ISI diskriminierten die Probanden bereits im ersten Versuchsabschnitt zu annähernd 50% die Reizpaare bewusst als zwei separate Reize.

Wenn die Stimuli von den Probanden bewusst wahrgenommen werden konnten, ließen sich zu 95% OERP ableiten. Nicht wahrgenommene Reize bildeten zu 65% OERP aus. Es scheint also, zu einem gewissen Prozentsatz, eine zentralnervöse Verarbeitung unbewusster Reize stattzufinden.

Wieso ab einem gewissen ISI Reize nicht exakt diskriminiert und nur einer, anstatt zwei Stimuli erfasst werden, lässt den Einfluss von Desensibilisierungsphänomenen wie der Habituation diskutieren (Hummel et al., 2006). Dabei kommt es nach wiederholter Reizpräsentation zu einer Abnahme des Antwortverhaltens, mit Einsetzen eines Gewöhnungsprozesses (Burdach, 1987). Habituation entspricht einem einfachen, zentralnervösen Lernprozess und wird dem impliziten Gedächtnis zugeordnet. Reize, die über einen längeren Zeitraum wiederholt präsentiert werden, gelten als weniger bedeutsam und finden weniger Beachtung mit dem Ziel offen für neue, unerwartete Geruchsstoffe zu sein (Burdach, 1987; Rankin et al., 2009; Mücke et Lemmen, 2010). Das würde bedeuten, dass nach wiederholter Präsentation der olfaktorisch identischen Reizpaare mit gleichbleibender Duftstoffkonzentration (Orange 50%) und kurzen ISI ein Gewöhnungseffekt beim Probanden einsetzt. Der zweite Reiz verliert an Bedeutung und wird somit schlechter diskriminiert.

Zudem können Phänomene wie die Adaptation dazu beitragen, dass es bereits auf peripherer Ebene zu einem unterschiedlichen Antwortverhalten von subjektiver Wahrnehmung eines Reizes, insbesondere der Intensität und dem elektrophysiologischen Antwortverhalten, kommt (Hummel et al., 1996, 2006). Hummel et al. (2006) untersuchte über das EOG Stimuluspaare mit kurzen ISI (2 bis 8 s) und verglich die subjektiv wahrgenommene Geruchsintensität mit dem Ausmaß des elektrophysiologischen Antwortverhaltens der ORN. Vor Beginn der Intensitätsbewertung wurde dem Probanden ein Vergleichsreiz präsentiert, der entsprechend auf der visuellen Analogskala mit 100% gleichgesetzt wurde. Interessanterweise bewerteten die Teilnehmer den zweiten Reiz eines Stimuluspaares in der Intensität um 40 - 60% schwächer, verglichen mit der elektrophysiologischen EOG-Amplitude (Hummel et al., 1996). Auch in Arbeiten von Wang et al. (2002) und Hummel et al. (2006) konnte dieser Zusammenhang beobachtet werden. Hummel et al. konnten über das EOG und unter Verwendung unterschwelliger Geruchsstoffe (Vanillin und Eugenol), die von den Probanden nicht bewusst wahrgenommen wurden, Potentiale in der Riechschleimhaut ableiten (Hummel et al., 2006).

Die subjektiv empfundene Intensität eines Duftstoffes nimmt bei niedrigen Intensitäten und Stimuluslängen schneller ab als die elektrophysiologisch gemessene Antwort in Form der OERP. Schwache Reize bilden in elektrophysiologischen Aufzeichnungen immer noch kleine

Amplituden aus, obwohl die subjektive Intensitätsbewertung gegen null geht, also kein Reiz wahrgenommen wird (Wang et al., 2002, Hummel et al., 2006). Dies wäre ein möglicher Ansatz, weshalb wir in unserer Studie OERP ableiten konnten, obwohl der Reiz nicht bewusst wahrgenommen werden konnte. Bei 35% der nicht wahrgenommenen Reize ließen sich keine OERP ableiten. Auch andere Studien, wie die von Lötsch und Hummel (2006), konnten ebenfalls bei normosmischen Probanden unter Darbietung eines olfaktorischen Geruchsstoffes (PEA) zu 30% keine OERP ableiten (Lötsch et Hummel, 2006). Möglicherweise haben auf höherer kortikaler Ebene die o.g. Desensibilisierungphänomene einen modulierenden Effekt, in einer Form der kurzzeitigen Inhibition auf den Bulbus olfactorius (Kay et Laurent, 1999). Zudem ist zu vermuten, dass aufgrund des kurzen ISI das OERP des zweiten Reizes mit dem des ersten Reizes überlagert und somit nicht mehr klar voneinander abzugrenzen ist.

Diesen Effekt konnte Hummel et al. 2006 auf peripherer Ebene beobachten. Es wurde das Antwortverhalten der ORN auf Reizpaare mit kurzen ISI zwischen 2 bis 8 s mittels EOG untersucht. Nach einem ISI von 8 s konnten zwei getrennte Potentiale abgeleitet werden, die in ihrem Antwortverhalten fast identisch waren. D.h., der zweite Reiz hatte annähernd dieselbe Potentialamplitude, wie der erste Reiz. Demgegenüber führte ein ISI von 2 s zu einer Potentialüberlagerung, die eine scharfe Abgrenzung nicht möglich machte (Hummel et al., 2006).

Nichtsdestotrotz leiteten wir bei über der Hälfte der nicht wahrgenommenen Reize, OERP ab, was dafür spricht, dass eine zentrale Verarbeitung stattfindet. Unterstützt werden diese Beobachtungen durch fMRT-Untersuchungen, die den Einfluss unterschwelliger, olfaktorischer Duftstoffe (Ambroxan) innerhalb von Duftstoffgemischen (Henkel) visualisieren sollten (Olgun, 2012). Insgesamt wurden vier Duftstoffe verwendet: das geruchslose Propylenglykol, eine Duftmischung Henkel[®], Ambroxan und eine Mischung aus Henkel und Ambroxan. Über einen im Vorfeld durchgeführten Riechschwellentest mit Ambroxan wurden zwei Untersuchungsgruppen (je zehn Probanden) gebildet. Die eine Gruppe war sensitiv, die andere Versuchsgruppe unempfindlich für den Duftstoff Ambroxan. Blockweise wurde den Probanden während der fMRT-Untersuchung der jeweilige Duftstoff präsentiert und das zerebrale Antwortverhalten erfasst. Nach jedem Block sollten die Probanden auf einer Skala von null bis zehn die Hedonik, Intensität, Bekanntheit und Belohnung bewerten. Obwohl die Ambroxan unempfindlichen Probanden den unterschwelligen Duftstoff nicht bewusst diskriminieren konnten, erfolgte eine zerebrale Verarbeitung, insbesondere im Bereich der Insula und Amygdala (Olgun, 2012). Letztendlich entspricht das Studiendesign zwar nicht der vorliegenden Studie, aber allein der Aspekt, dass unterschwellige, nicht bewusst

wahrgenommene Reize zu einer zerebralen Antwort führen, zählt. Auch Sobel et al. bedienten sich dem fMRT, um Fragen zentraler Verarbeitungsprozesse unbewusster Reize nachzugehen. In dieser Studie wurde den Probanden ein körperlähnlicher Geruchsstoff, das sogenannte Estratetraenyl Acetate, in zwei unterschiedlichen Konzentrationen präsentiert. Dieser Duftstoff konnten von den Teilnehmern aber nicht wahrgenommen werden. Eine signifikante Gehirnaktivität, insbesondere im anterior-medialen Thalamus und inferioren Gyrus frontalis ließ sich dennoch beobachten (Sobel et al., 1999).

Im Allgemeinen lässt sich also zusammenfassen, dass auch bei nicht bewusst wahrgenommenen Reizen, eine zentralnervöse Verarbeitung stattfindet.

Nachdem in der vorliegenden Studie bei über 50% der nicht wahrgenommenen Reize OERP abgeleitet werden konnten, analysierten wir die OERP bzgl. Latenz- und Amplitudenveränderungen für N1 und LP. Im Hintergrund der Studienzielsetzung waren insbesondere die Paarvergleiche für die folgenden Bedingungen von besonderem Interesse:

- erster Reiz vs. zweiter Reiz „wahrgenommen“
- erster Reiz vs. zweiter Reiz „nicht wahrgenommen“
- zweiter Reiz „wahrgenommen“ vs. zweiter Reiz „nicht wahrgenommen“

4.1.2.1. OERP – Latenzveränderungen für N1 und LP

In unserer Studie konnten wir eine Verlängerung der Latenzen für N1 und LP für den zweiten Reiz beobachten. Im Paarvergleich waren zum einen die Latenzen in N1 und LP für den zweiten „nicht wahrgenommenen“ vs. zweiten „wahrgenommener“ Reiz verlängert. Dasselbe traf im Paarvergleich erster Reiz vs. zweiten „wahrgenommener“ Reiz zu.

In der Arbeitsgruppe von Tateyama et al. konnte beobachtet werden, dass Konzentrationsänderungen, insbesondere olfaktorischer Reize (Vanillin), die Latenzzeit der OERP stärker beeinflussen als die Amplituden. Steigende Duftstoffkonzentrationen gehen mit einer signifikanten Verkürzung der Latenz einher. Dies konnte sowohl für die frühen (N1), als auch für die späten Potentialkomponenten (LP) beobachtet werden (Tateyama et al., 1998). Diese Effekte decken sich mit Studienergebnissen von Pause et al., die eine Verkürzung der Latenz in N1 mit steigender Konzentration olfaktorischer Duftstoffe beobachtet haben (Pause et al., 1996).

Wir verwendeten in unserer Studie immer dieselbe Duftstoffkonzentration. Da wir keine

subjektive Intensitätsbewertung nach der Reizapplikation durchgeführt haben, lässt sich rein hypothetisch sagen, dass die subjektiv empfundene Intensität beim zweiten Reiz vermutlich schwächer war und die OERP des zweiten Reizes deshalb eine signifikant längere Latenzzeit hatten. Denn trotz gleichbleibender Duftstoffkonzentration werden die Reize interindividuell unterschiedlich, hinsichtlich der Intensität, bewertet (Distel et al., 1999). Neben der Intensität bestimmt auch das ISI die Latenzzeit der OERP. Kassab et al. beschreibt, dass mit kürzer werdenden ISI, die Latenz der OERP steigt (Kassab et al., 2009). Dies deckt sich mit unseren Daten. Es konnten längere Latenzen für den zweiten Reiz vs. erster Reiz festgestellt werden. Latenzverlängerungen waren aber auch für den zweiten nicht wahrgenommenen Reiz vs. zweiter wahrgenommener Reiz auszumachen. Auch hier liegt vermutlich die Ursache in der wahrgenommenen Duftstoffintensität bzw. inwieweit dem zweiten Reiz Aufmerksamkeit geschenkt wird. So kommt es mit abnehmender Intensitätswahrnehmung auch zu einer Verlängerung der Latenzzeit (Kraul et al., 1998). Zusammenfassend konnten also für den zweiten wahrgenommenen Reiz als auch für unbewusste Stimuli verlängerte Latenzzeiten dokumentiert werden, vermutlich bedingt durch eine subjektiv verminderte Intensitätswahrnehmung und dem kurzem ISI.

4.1.2.2. OERP – Amplitudenveränderungen für N1 und LP

Im Paarvergleich wurde lediglich eine signifikante Abnahme der N1 Amplitude für den zweiten „nicht wahrgenommenen“ Reiz im Vergleich zum ersten Reiz beobachtet. Weitere signifikante Effekte ließen sich nicht feststellen.

Durch Arbeiten von Pause et al. ist bekannt, dass die N1 Amplitude vorrangig exogene Einflussfaktoren wie z.B. Reizqualität und -intensität, widerspiegelt (Pause et al., 1994; 1996). Denn obwohl wir Menschen einen ausgeprägten Geruchssinn und eine niedrige Reizschwelle für Gerüche haben, richten wir unsere Aufmerksamkeit oft nur auf Duftstoffe mit hohen Konzentrationen (Sela und Sobel, 2010). So können wir normalerweise starke Reize stets bewusst wahrnehmen, hingegen treten schwache Stimuli kaum in unser Bewusstsein (Melloni et Schwiedrzik, 2009). In diesem Zusammenhang lässt sich vermuten, dass der Proband den zweiten Reiz wahrgenommen hat, aber der Reiz dennoch so schwach war, dass er doch als kein Reiz interpretiert wurde.

Es ließ sich trotzdem in N1 eine Amplitude ableiten. Wie bereits oben erwähnt, scheint das elektrophysiologisch gemessene Antwortverhalten langsamer abzunehmen als die subjektiv empfundene Intensität eines Duftstoffes. Obwohl die Intensität gegen null geht, können Potentiale in der Riechschleimhaut abgeleitet werden (Wang et al., 2002, Hummel et al., 2006).

Inwieweit eine emotionale Auseinandersetzung mit dem Reiz stattfindet, drückt sich im LP aus. Die endogene Reizverarbeitungs-komponente schließt Dinge ein wie die individuelle emotionale Bedeutung oder Vertrautheit des Reizes (Pause et al., 1996). Das LP konnte in den OERP ableitet werden, obwohl der Reiz nicht bewusst wahrgenommenen wurde. Somit kann man davon ausgehen, dass eine zentrale bzw. unbewusst emotionale Auseinandersetzung stattfindet. Es ließen sich interessanterweise zwischen den Reizen keine signifikanten Amplitudenveränderungen für LP beobachten. Eine mögliche Ursache scheint dafür zu sein, dass die Probanden während des gesamten Versuches instruiert wurden, aktiv und konzentriert auf die Anzahl der wahrgenommenen Reize zu achten. Der Einfluss einer gezielten Aufgabenstellung lenkt nicht nur unser Bewusstsein, sondern führt zu Veränderungen des Potentialverlaufes des OERP (Pause et al., 1996). Pause et al. beobachteten, dass das LP maßgeblich unter dem Einfluss gezielter Aufgabenstellungen steht und untersuchte diesen Einfluss anhand zweier Probandengruppen. Die erste Gruppe war dazu aufgefordert, aktiv nach jedem wahrgenommenen Reiz den rechten Zeigefinger zu heben. Die passive Gruppe sollte sich während der Reizpräsentation entspannen und lediglich auf die Atmung konzentrieren. In den gleichzeitig abgeleiteten CSERP war die LP Amplitude bei der „aktiven“ Gruppe größer, im Vergleich zur „passiven“ Gruppe (Pause et al., 1999).

Im Allgemeinen konnten nur für den unbewussten Reiz verminderte N1 Amplituden im Vergleich zum ersten Stimulus erfasst werden, vermutlich bedingt durch eine verminderte subjektive Intensitätswahrnehmung. Keine weiteren signifikanten Amplitudenveränderungen konnten für N1 und LP nachgewiesen werden. Es findet also auch bei unbewussten Reizen eine zentrale bzw. emotionale Auseinandersetzung statt.

4.2. Diskussion der Methoden

Wir verwendeten für die Studie objektive Untersuchungsmethoden, wie das Olfaktometer und das EEG, um OERP ableiten zu können. 1981 machte sich Kobal diese Instrumente erstmals zum Nutzen, um schnelle, zeitlich definierte und artefaktfreie Geruchsreize zu erzeugen, ohne Mitaktivierung einer anderen Sinnesmodalität (Kobal, 1981).

Diese objektiven Methoden ermöglichen es, vergleichende Bewertungen mit anderen klinischen Studien zu machen (Hummel et al., 2000). Nichtsdestotrotz unterliegt der Geruchssinn bekanntermaßen intra- und interindividuellen Schwankungen, die das Ergebnis beeinflussen (Mücke et Lemmen, 2010). Dem Geruchssinn wird im Vergleich zu unseren anderen Sinnesmodalitäten immer noch am wenigsten Beachtung geschenkt bzw. fällt es uns schwer dem Geruchssinn zu vertrauen (Sela et Sobel, 2010; Croy et al., 2014b).

So waren wir auf die aktive und konzentrierte Teilnahme des Probanden stets angewiesen. Die erhobenen Daten unterliegen wesentlichen Einflussfaktoren, wie der Vigilanz, der Gewissenhaftigkeit, dem Konzentrationsvermögen, der aktuellen Stimmungslage (Erwin, 2014) und Motivation des Probanden. Die Reizpaare wurden atmungsunabhängig, also passiv unter retropharyngealem Verschluss, appliziert. Diese Atmungsform entspricht zwar nicht der physiologischen Atmung, hat aber für unsere Zwecke mehrere Vorteile. Zum einen können durch die Ein- und Ausatmung induzierte Artefakte verhindert werden (Lorig et al., 1996). Gleichzeitig wird vermieden, dass die Phase der Reizapplikation in die Ausatmung fällt und der Geruch gar nicht oder nur vermindert wahrgenommen wird. Zudem können größere Potenzialamplituden abgeleitet werden, wenn bei der atmungsabhängigen Reizapplikation der Stimulus in die Einatmungsphase fällt (Grünwald, 2009). Andererseits entspricht der retropharyngeale Verschluss nicht der natürlichen Atmungsform. Sobel et al. beobachtete, dass die natürliche Atmung die beste Basis für die Entwicklung einer kognitiven Reaktion bildet und dadurch eine gezielte Informationsverarbeitung im Bulbus olfactorius und piriformen Kortex gewährleistet wird (Sobel et al., 1998). Für die Duftstoffe wählten wir Orange in zwei unterschiedlichen Konzentrationen. Für den zweiten Versuchsabschnitt wählten wir die höhere Duftstoffkonzentration (50% Orange), denn intensivere Stimuli können besser wahrgenommen und größere OERP abgeleitet werden (Schwartz et Robbins, 1995).

Aufgabe der Probanden war es, sich nach jedem Reizpaar zu entscheiden, wie viele Reize wahrgenommen wurden. Ob es Veränderungen in der Intensität gab, wurde von uns nicht erfasst. Um Desensibilisierungsphänomene wie die Habituation oder die Adaptation auf peripherer Ebene besser erklären zu können, empfiehlt sich, eine Intensitätsbewertung für weitere Studien durchzuführen. Gleichzeitig können so Veränderungen der einzelnen Potentialkomponenten besser diskutiert werden. Einflussfaktoren wie Hedonik eines Duftstoffes (Blumrich, 2014), die aktuelle Stimmungslage (Erwin, 2014), Tageszeit oder Menstruationszyklus der Frau (Navarrete-Palacios et al., 2003) haben bekanntermaßen einen Einfluss auf die olfaktorische Riechleistung und könnten anhand eines Fragebogens zusätzlich vorher erfasst werden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die OERP durch die intra- und interindividuellen Geruchsschwankungen, Vigilanz, Motivation, Atmungsform und die entsprechenden Stimulusvariablen beeinflusst werden. All diese Einflussfaktoren sollten optimalerweise bei der Aufzeichnung und Auswertung der OERP mit berücksichtigt werden.

5. Zusammenfassung/Summary

5.1. Deutsch

Hintergrund: Verglichen mit unseren anderen Sinnesmodalitäten benötigt der Geruchssinn relativ viel Zeit, um Duftstoffe bewusst wahrzunehmen. Dass uns aber unbewusste Duftstoffe zu einem gewissen Maß im Alltag begleiten und das Verhalten beeinflussen, ist durch vorherige Studien bekannt. Nichtsdestotrotz liegen derzeit kaum vergleichbare Studien vor, die sich mit der temporalen und zentralen Verarbeitung unbewusster, olfaktorischer Reize beschäftigen.

Ziel: Das Ziel der vorliegenden Studie war es, die temporale und zentralnervöse Verarbeitungs- und Wahrnehmungsfähigkeit olfaktorisch identischer Reizpaare unter dem Einfluss unterschiedlicher Duftstoffkonzentrationen und kurzer ISI zu untersuchen. Zudem untersuchten wir, anhand der Ableitung von OERP, inwieweit eine zentrale Auseinandersetzung mit unbewussten Reizen stattfindet.

Material und Methoden: Die Studie bestand aus zwei Versuchsreihen, an denen gesunde, normosmische Probanden teilnahmen. Im ersten Versuch wurde der Einfluss von Geschlecht, der Duftstoffkonzentration und ISI-Länge auf olfaktorische Reizpaare untersucht. Die Reize wurden über ein computergesteuertes Olfaktometer präsentiert. Für den olfaktorischen Reiz verwendeten wir Orange in zwei verschiedenen Konzentrationen (5% und 50%). Das ISI variiert zwischen 800 bis 6000 ms. Die Entscheidung, ob die Probanden einen oder zwei Reize bewusst wahrgenommen haben, wurde aufgezeichnet. Zudem erfolgte im zweiten Versuch die Ableitung von OERP bei wahrgenommenen und nicht wahrgenommenen Reizen.

Ergebnisse: Mit steigenden ISI nimmt der prozentuale Anteil an wahrgenommenen Reizpaaren als zwei separate Reize zu. Bis zu einem ISI von 4000 ms war dieser Effekt signifikant. Es konnte gezeigt werden, dass das Geschlecht und unterschiedliche Duftstoffkonzentrationen keinen wesentlichen Einfluss auf eine schnellere temporale Wahrnehmung haben. Bei höheren Duftstoffkonzentrationen konnten aber signifikant häufiger zwei Reize diskriminiert werden, als bei niedrigen Konzentrationen. Bei über der Hälfte der nicht wahrgenommenen Reize eines Stimuluspaares ließen sich OERP aufzeichnen. Insbesondere die Latenz in N1 und LP zeigte signifikante Unterschiede für den zweiten Reiz. Im Paarvergleich: erster Reiz vs. zweiter Reiz (wahrgenommen) und zweiter Reiz (wahrgenommener) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommener) war die Latenz verlängert. Die Amplitude des zweiten nicht wahrgenommenen Reizes war nur in N1 gegenüber dem ersten Reiz signifikant verkleinert.

Schlussfolgerung: Für die bewusste Diskriminierung olfaktorisch identischer Reizpaare als zwei separate Reize ist ein relativ langes ISI nötig. Bei höheren Duftstoffkonzentrationen können zwar Stimuluspaare häufiger als zwei separate Reize wahrgenommen, aber nicht schneller diskriminiert werden. Das Geschlecht hat keinen Einfluss auf diesen Prozess. Dass bei nicht bewusst wahrgenommenen Reizen OERP abgeleitet werden konnten, spricht dafür, dass eine zentrale Verarbeitung dieser unbewussten Reize stattfindet.

5.2. Englisch

Background: Compared to our other sensory modalities, the sense of smell needs relatively long time for the temporal perception of odors. With the help of previous studies we could already show, that unconsciously perceived odors influence our everyday life and behavior. Nevertheless there are not many comparable studies, which observed the temporal and central processing of not consciously perceived olfactory stimuli.

Aim: The aim of the current study was to observe the temporal and central ability of perception and processing of identical olfactory stimulus pairs, in relation to different odor concentrations and ISI. In addition we recorded OERP, in order to observe if and to what extent the second stimulus in a stimulus pair will be centrally processed when being not perceived.

Material and Methods: The study was divided into two parts, in which healthy, normosmic participants took part. The influence of sex, odor concentration and ISI length on the perception of olfactory stimulus pairs was observed. The stimuli were presented via a computer-controlled olfactometer. Two concentrations of orange (5% and 50%) were used as olfactory stimuli. The ISI varied between 800 until 6000 ms. The decision, whether the participant perceived one or two stimuli, was recorded. In the second part of the study OERP to perceived and not-perceived olfactory stimuli were recorded.

Results: The percentage of perceived stimulus pair as two separate stimuli increased with increasing ISI. The effect was significant up to an ISI of 4000ms this effect was significant. It could be shown that sex and different odor concentrations have no major influence on a faster temporal perception of paired odor stimuli. For higher odor concentration stimulus pairs could be detected more often, but not faster as two separate stimuli. We could record OERP in response to not perceived stimuli. In more than half of the cases we could record OERP in response to not perceived stimuli. Especially the latency for N1 and LP differed significantly for the second stimulus. A longer latency could be observed in pairwise comparison: first stimulus vs. perceived second stimulus and perceived second stimulus vs. not perceived second stimulus. The N1 amplitude was only smaller for the second „not

perceived“ stimulus smaller compared to the first stimulus.

Conclusion: For the conscious discrimination of olfactory stimulus pairs, we need a relatively long ISI, to perceive them as two separate stimuli. For higher odor concentration stimulus pairs could be detected more often, but not faster as two separate stimuli. Sex has no major influence on this process. The presence of OERP in response to not perceived stimuli indicated that even not perceived stimuli are centrally processed.

6. Verzeichnisse

6.1. Literaturverzeichnis

Aitken RC (1969): Measurement of feelings using visual analogue scales. Proceedings of the Royal Society of Medicine, 62 (10): 989-993.

Albrecht J, Wiesmann M (2006): Das olfaktorische System des Menschen. Der Nervenarzt, 8:931-939.

Amoore JE (1970): Molecular Basis of Odor, I.N. Kugelmass, ed. New York: Charles C. Thomas.

Anton F, Peppel P (1991): Central projections of trigeminal primary afferents innervating the nasal mucosa: a horseradish peroxidase study in the rat. Neuroscience, 41:617-628.

Asan E (2004): Geruchssystem. In: Benninghoff A, Drenckhahn D (Hrsg) Anatomie Band 2. Elsevier, München, 746-760.

Beidler LM, Tucker D (1956): Olfactory and trigeminal nerve response to odors 15:14.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L (2002) Biochemistry. W.H. Freeman, New York, S. 989.

Blumrich A (2014):Wahrnehmung und Zuordnung von Duftstoffen in Abhängigkeit ihrer Bewertung als angenehm bzw. unangenehm: eine fMRT-Studie, Med. Diss. Dresden.

Brämerson A, Johansson L, Ek L, Nordin S, Bende M (2004):Prevalence of olfactory dysfunction: The Skövde population-based study; Laryngoscope, 114:733-737.

Burdach KJ (1987): Geschmack und Geruch. Bern, Hans Huber Verlag.

Cain WS (1976): Olfaction an the common chemical sense: some psychophysical contrasts. Sens Processes, 1:57-67.

Cleland TA, Linster C (2003): Central olfactory structures. In: Doty RL (ed) Handbook of olfaction and gustation. Marcel Dekker, New York, 165-180.

Costanzo RM, DiNardo LJ, Zasler ND (1995): Head injury and olfaction. In Doty, R.L. (ed) Handbook of Olfaction and Taste, Marcel Dekker: New York, 493-502.

Croy I, Krone F, Walker S, Hummel T (2014a): Olfactory processing: Detection of rapid changes. In: ACS spring meeting (Buettner, A. et al., eds) New Orleans.

Croy I, Nordin S, Hummel T (2014b): Olfactory disorders and quality of life-an updated review. Chem Senses 39:185-194.

Damm M, Temmel A, Welge-Lüssen A, Eckel HE, Kreft MP, Klusmann JP, Gudziol H, Hüttenbrink KB, Hummel T (2004): Riechstörungen; HNO 52: 112-120.

Distel H, Ayabe-Kanamura S et al. (1999): Perception of everyday odors-correlation between intensity, familiarity and strength of hedonic judgement; Chemical senses 24:191-199.

Doty RL (1975): Intranasal trigeminal detection of chemical vapors by humans. Physiol Behav. 14:855-859.

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

Doty RL, Kobal G (1995): Current trends in the measurement of olfactory function. In: Doty RL (ed) Handbook of clinical olfaction and gustation. Decker, New York: 191-225.

Erwin E (2014): Olfaktorische Wahrnehmung nach Emotionsinduktion: Eine Studie zur Untersuchung der Riechwahrnehmung in Zusammenhang der aktuellen Emotionalität gesunder Probanden. Med. Diss. Dresden.

- Frasnelli J, Lotsch J, Hummel T (2003): Event-related potentials to intranasal trigeminal stimuli change in relation to stimulus concentration and stimulus duration. *J Clin Neurophysiol.* 20:80-86.
- Frasnelli J, Charbonneau G, Collignon O, Lepore F (2009): Odor localization and sniffing. *Chem Senses*; 34:139-44.
- Firestein S (2001): How the olfactory system makes sense of scents. *Nature* 413: 211-218.
- Frye RE, Schwartz BS, Doty RL (1990): Dose-related effects of cigarette smoking on olfactory function. *JAMA* 263;1233-1236.
- Gérard B (2005): Review Olfactory/trigeminal interactions in nasal chemoreception , France.
- Gründewald G (2009): Die Verarbeitung und Modulation von Riecheindrücken während des Atemzyklus: Elektrophysiologische Untersuchung unter Anwendung chemosensorisch evozierter Potentiale. Med. Diss. Dresden.
- Haehner A, Boesveldt S, Berendse HW (2009b): Prevalence of smell loss in Parkinson's disease - a multicenter study, *Parkinsonism and Related Disorders*, 15: 490-49.
- Hahn I, Scherer PW, Mozell MM (1993): Velocity profiles measured for airflow through a large-scale model of the human nasal cavity. *J Appl Physiol* 75: 2273-2287.
- Herberhold C (1972): Nachweis und Reizbedingungen olfaktorisch und rhinosensibel evozierter Hirnrindensummenpotentiale sowie Konzept einer klinischen Computer-Olfaktometrie, Westdeutscher Verlag Opladen.
- Herberhold C (1973): Computer-Olfactometrie mit getrenntem Nachweis von Trigeminal- und Olfactoriusreaktion. *Arch klin exp Ohren-, Nasen und Kehlkopf-Heilkunde*; 205:313-319.
- Hummel T, Kobal G (1993): Olfactory event-related potentials in psychosis-prone subjects *International Journal of Psychophysiology*,5:51-58.

Hummel T, Kobal G (1991): Human Electro-olfactograms and brain responses to olfactory stimulation ; *The Human Sense of Smell*; 135-151.

Hummel T et Kobal G (1992): Differences in human evoked potentials related to olfactory or chemosensory activation. *Electroenceph.* 84:84-89.

Hummel T, Livermore A, Hummel C, Kobal G (1992): Chemosensory event-related potentials: relation to olfactory and painful sensations elicited by nicotine. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 629:192-194.

Hummel T, Sekinger B et al. (1997): 'Sniffin' sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses* 22:39-52.

Hummel T, Knecht M and Kobal G (1996b) Peripherally obtained electrophysiological responses to olfactory stimulation in man: electro-olfactograms exhibit a smaller degree of desensitization compared with subjective intensity estimates. *Brain Res* 717:160-164.

Hummel T, Kobal G (1999): Chemosensory event-related potentials to trigeminal stimuli change in relation to the interval between repetitive stimulation of the nasal mucosa. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 256:16-21.

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, Futschik T, Frasnelli J, Huttenbrink K (2003): Effects of olfactory function, age and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on lateralization of chemosensory stimuli. *Toxicol Lett.*; 140-141: 273-280.

Hummel T, Nordin S (2005): Olfactory disorders and their consequences for quality of life. *Acta Otolaryngol* 125:116-121.

Hummel T, Mojet J, Kobal G (2006): Electro-olfactograms are present when odorous stimuli have not been perceived.; *Neuroscience Letters* 397: 224-228.

- Hummel T, Welge-Lüssen A (2008 a): Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie und therapeutische Ansätze. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Hummel T, Welge-Lüssen A (2008b): Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie und therapeutische Ansätze. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Jacob S, Kinnunen LH, Metz J, Cooper M, McClintock MK (2001): Sustained human chemosignal unconsciously alters brain function. *NeuroReport* 12:2391-2394.
- Jacobson L, Trotier D, and Døving KB (1998): Anatomical description of a new organ in the nose of domesticated animals by Ludvig Jacobson (1813). *Chem Senses* 23:743-754.
- Jasper HH (1958): The ten-twenty electrode system of the International Federation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 10:371-375.
- Kassab A, Schaub F, Vent J, Huttenbrink KB, Damm M (2009): Effects of short inter-stimulus intervals on olfactory and trigeminal event-related potentials. *Acta Otolaryngol* 129:1250-1256.
- Kiesel A (2009): Unbewusste Wahrnehmung: Handlungsdeterminierende Reizerwartungen bestimmen die Wirksamkeit subliminaler Reize; *Psychologische Rundschau*; Hogrefe Verlag Göttingen, 60:215-228.
- Kleberger E (1960): Zur Pathologie der Flimmerverschmelzungsfrequenz; Physiologische und klinische Untersuchung über die Bestimmung der Verschmelzungsfrequenz intermittierenden Lichtes im Sinne einer Methode quantitativer Perimetrie; Berlin.
- Kleemann AM, Albrecht J, Schöpf V, Haegler K, Kopietz R, Hempel JM, Linn J, Flanagan VL, Fesl G, Wiesmann M (2009) : Trigeminal perception is necessary to localize odors; *Physiology & Behavior* 97:401- 405.
- Kleidel WD (1971): *Allgemeine Sinnesphysiologie; Visuelles System*; 1. Auflage; Springer Verlag: Berlin, Heidelberg, New York; 99-100.

- Kobal G, Plattig KH (1978): Objective olfactometry: methodological annotations for recording olfactory EEG-responses from the awake human. EEG EMG Z Elektroenzephalogr. Elektromyogr. Verwandte Geb. 9:135-145.
- Kobal G (1981): Elektrophysiologische Untersuchungen des menschlichen Geruchssinns. Stuttgart: Thieme.
- Kobal G, Hummel C (1988): Cerebral chemosensory evoked potential elicited by chemical stimulation of the human olfactory and respiratory nasal mucosa. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol; 71: 241-250.
- Kobal G, Hummel T (1989): T. Brain responses to chemical stimulation of trigeminal nerve in man. New York: 123-129.
- Kobal G, Van Toller S, Hummel T (1989): Is there directional smelling? Experientia 45:130-132.
- Krauel K, Pause BM, Sojka B, Schott P, Ferstl R (1998): Attentional modulation of central odor processing. Chem Senses 23:423-432.
- Larsson M, Finkel D, et al. (2000): Odor identification: influences of age, gender, cognition, and personality.; J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci. 55:304-310.
- Laska M, Distel H, Hudson R (1997): Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects; Chem Senses. 22:447- 456.
- Leopold DA, Hummel T, Schwob JE, Hong SC, Knecht M, and Kobal G (2000): Anterior distribution of human olfactory epithelium. Laryngoscope 110: 417-421.
- Lorig TS (2000): The application of electroencephalographic techniques to the study of human olfaction: a review and tutorial; Int J Psychophysiol. 36:91-104.
- Lötsch J, Hummel T (2006): The clinical significance of electrophysiological measures of olfactory function; Behav Brain Res. 170:78-83.
- Lüllmann-Rauch R (2006): Histologie. Georg Thieme Verlag KG (2. Auflage), Stuttgart

- Mackenzie RA, Burke D, Skuse NF, Lethlean AK, (1975): Fiber function and perception during cutaneous nerve block. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 38:865-873.
- Malnic B, Hirono J, Sato T et al. (1999): Combinatorial receptor codes for odors. Cell 96:713-723.
- McNamara, A. M., Magidson, P. D., Linster, C., Wilson, D. A., & Cleland, T. A. (2008): Distinct neural mechanisms mediate olfactory memory formation at different timescales. Learning & Memory ;Cold Spring Harbor, N.Y., 15:117-125.
- Melloni L, Schwiedrzik CM (2009): Bewusste Wahrnehmung als dynamischer und plastischer Prozess; Forschungsbericht 2011; Max-Planck-Institut für Hirnforschung; Frankfurt am Main
- Meredith M (2001): Human vomeronasal organ function: a critical review of best and worst cases. Chem Senses 26:433-445.
- Milnik V (2012): Elektrophysiologie in der Praxis: Neurographie evozierter Potentiale und EEG; 2. überarb. Auflage; Elsevier: München.
- Mohammadian P, Hummel T, Lötsch J, Kobal G (1997): Bilateral hyperalgesia to chemical stimulation of the nasal mucosa following unilateral inflammation; (73); 407-412.
- Morgan CD, Covington J, Geisler MW, Ellison DW, Murphy C (1996): Age-related changes in the olfactory event-related potential: older males benefit from longer inter-stimulus intervals. Chemical Senses 21:490.
- Mozell M, Sheehe P, Swiecke S, Kurtz D, Horung D (1984): A parametric study of the stimulation variables affecting the magnitude of the olfactory nerve response. J Gen Physiol. 83:233-267.
- Mücke W, Lemmen C (2010): Duft und Geruch: Wirkung und gesundheitliche Bedeutung von Geruchsstoffen, ecomed Medizin, Heidelberg, München, Landsberg, Frechen, Hamburg; 33-35.

- Navarrete-Palacios E, Hudson R et al. (2003): Lower olfactory threshold during the ovulatory phase of the menstrual cycle. *Biol Psychol* 63: 269-279.
- Olgun S (2012): Die cerebrale Antwort auf Duftstoffgemische mit unterschwelliger Konzentration - eine fMRT-Studie, Med. Diss. Dresden.
- Pause BM, Sojka B et al. (1996): The nature of the late positive complex within the olfactory event-related potential (OERP). *Psychophysiology* 33:376-384.
- Pause BM (1994): Die zentralnervöse Geruchsverarbeitung beim Menschen: Zur Differenzierung endogener und exogener Modulatoren der geruchsevozierten Hirnstromaktivität; Med. Diss. Univ. Kiel.
- Pause BM, Bernfried S, Roman F (1996): Central processing of odor concentration is a temporal phenomenon as revealed by chemosensory event-related potentials (CSERP). *Chemical senses* 22:9-26.
- Pause BM, Krauel K (2000): Chemosensory event-related potentials (CSERP) as a key to the psychology of odors. *Int.J.Psychophysiol.* 36:105-122.
- Plattig KH, Lehmann D, Callaway E. (1979): Human evoked potentials, New York, London; 285-301.
- Politis M, Wu K, Molloy S, Bain PG, Chaudhuri KR, Piccini P (2010): Parkinson's disease symptoms: the patient's perspective, *Movement Disorders*, 25:1646-1651.
- Pritzel M, Brand M, Markowitsch JH (2009): Gehirn und Verhalten: Ein Grundkurs der physiologischen Psychologie. 203-210.
- Rankin CH, Abrams T, Barry RJ, Bhatnagar S, Clayton DF, Colombo J et al. (2009): Habituation revisited: An updated and revised description of the behavioral characteristics of habituation. *Neurobiology of Learning and Memory*. 92:135-138.
- Sawada K, Koyama E, Kubota M, Hayashi I, Komaki R, Inui M et al. (1992) Effects of odors on EEG-relaxation and alpha power. *Chemical Senses* 17: 88.

Schmidt RF, Kang F, Thews G, Hatt H (2007): Physiologie des Menschen: Geruch und Geschmack, 30. Aufl., Hrsg. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag.

Schmidt RF, Altner H, Dudel J, Grüsser OJ, Grüsser-Cornehls U, Klinke R (1976): Grundriß der Sinnesphysiologie; 2. Aufl., Hrsg. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag

Schneider RA, Schmidt CE (1967): Dependency of olfactory localization on non-olfactory cues. *Physiol Behav.* 2:305-9.

Schriever VA, Frenzel C, Wernecke S, Croy I, Valder C, Hummel T (2015): Olfactory speed - Temporal odor processing of paired stimuli. *Neuroscience.* 295:92-9.

Schwartz B et Robbins (1995): Psychology of learning and behavior; 4. überarb. Auflage, New York: W W Norton & Co.

Sekizawa SI, Tsubone H (1994): Nasal receptors responding to noxious chemical irritants. *Respir. Physiol.* 96:37-48.

Sela L, Sobel N (2010): Human olfaction: a constant state of changeblindness. *Exp Brain Res.* 205:13-29.

Sinclair DC, Hinshaw JR (1950): A comparison of the sensory dissociation produced by procaine and by limb compression. *Brain* 73: 480-498.

Sobel N, Prabhakaran V, Desmond JE, Glover GH, Goodes RL, Sullivan EV, Gabrieli JDE (1998): Sniffing and smelling: separate subsystems in the human olfactory cortex. *Nature*; 392:282-286.

Sobel N, Prabhakaran V, Hartley CA, Desmond JE, Glover GH, Sullivan EV, Gabrieli JD (1999): Blind smell: brain activation induced by an undetected air-borne chemical. *Brain* 122: 209-217.

Spence C, McGlone FP, Kettenmann B, Kobal G (2001): Attention to olfaction. A psychophysical investigation. *Exp Brain Res.* 138:432-437.

- Tateyama T, Hummel T, Roscher S, Post H und Kobal G (1998): Relation of olfactory event-related potentials to changes in stimulus concentration. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 108:449-455.
- Tegoni M, Pelosi P, Vincent F et al. (2000): Mammalian odorant binding proteins. *Biochim Biophys Acta*. 1482: 229-240.
- Torebjörk HE, Hallin RG (1975): C-fibre units recorded from human sensory nerve fascicles in situ. *Acta Soc. Med. Upsala*. 75: 81-84.
- Trepel M (2011): *Neuroanatomie: Struktur und Funktion*. 5. Aufl. Urban & Fischer Verlag/ Elsevier GmbH.
- Vennemann MM, Hummel T, Berger K (2008): The association between smoking and smell and taste impairment in the general population. *J Neurol*. 255: 1121-1126.
- Wang L, Walker VE, Sardi H, Fraser C, Jacob TJ (2002): The correlation between physiological and psychological responses to odour stimulation in human subjects. *Clin Neurophysiol* 113: 542-551.
- Weismann M, Yousry I, Heuberger E et al. (2001): Functional magnetic resonance imaging of human olfaction. *Neuroimaging Clin N Am*. 11:237-250.
- Welge-Lüssen A (1999): Chemosensorisch evozierte Potentiale. Anwendung und Bedeutung im klinischen Alltag. *HNO*. 47:453-555.
- Welge-Lüssen A, Wolfensberger M, Kobal G, Hummel T (2002): Grundlagen, Methoden und Indikationen für die objektive Olfaktometrie. *Laryngorhinootologie*. 81:661-667.
- Wiesmann M, Kettenmann B, Kobal G (2004): Functional magnetic resonance imaging of human olfaction. In: Taylor AJ, Roberts DD (eds) *Flavor perception*. Blackwell, Oxford. 203-227.
- Wiesmann M, Albrecht J (2006): Das olfaktorische System des Menschen – Anatomie und Physiologie. *Nervenarzt*. 77: 931-939.

- Wysocki CJ, Cowart BJ et al. (2003): Nasal trigeminal chemosensitivity across the adult life span. *Percept Psychophys* 65:115-122.
- Yousem DM, Williams SC, Howard RO, Andrew C, Simmons A, Allin M, et al. Functional MR (1997): Imaging during odor stimulation: preliminary data. *Radiolog* 204:833-838.
- Zald DH, Pardo JV (2000): Functional neuroimaging of the olfactory system in humans. *Int J Psychophysiol.* 36:165-181.
- Zufall F and Leinders-Zufall T (1998): Role of cyclic GMP in olfactory transduction and adaptation. *Ann N Y Acad Sci.* 855:199-204.
- Zufall F and Leinders-Zufall T (2000): The cellular and molecular basis of odor adaptation. *Chem Senses.* 25: 473-481.

6.2. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1)	Schematischer Aufbau des Riechepithels (mod. nach Lüllmann-Rauch, 2006)	9
Abb. 2)	Signaltransduktion (mod. nach Berg et al., 2002)	10
Abb. 3)	Übersicht über kortikale Interaktionen der olfaktorischen Reizverarbeitung (mod. nach Albrecht et Wiesmann, 2006)	12
Abb. 4)	Nomenklatur – OERP	14
Abb. 5)	links: Lateralisationsgerät; rechts: Identifikationstest mittels Sniffin' Sticks (Hummel et al., 1997)	20
Abb. 6)	Forschungsolfaktometer OM6/b von der Firma Burghart Messtechnik aus Wedel in Deutschland	21
Abb. 7)	Schaltprinzip des Olfaktometer (Burghart Messtechnik GmbH, Wedel, Deutschland), http://www.burghart-mt.de/index.php?p1=home	23
Abb. 8)	Oszilloskop	26
Abb. 9)	Proband am Olfaktometer	27
Abb. 10)	10-20 System von Herbert Jasper, 1958 http://www.diytdcs.com/media/010_EEG_standard.gif	28
Abb. 11)	Schematische Darstellung der zweiten Versuchsreihe	29

Abb. 12)	Probandenkollektiv	32
Abb. 13)	Boxplot-Diagramm: Bewertung der Geruchsintensität	33
Abb. 14)	Einfluss von Duftstoffkonzentration und ISI auf die temporale Diskriminierungsfähigkeit olfaktorischer Reizpaaren	35
Abb. 15)	Latenz für N1/LP: erster Reiz (alle) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen/ nicht wahrgenommen)	37
Abb. 16)	Amplituden für N1/LP: erster Reiz (alle) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen/ nicht wahrgenommen)	38
Abb. 17)	Latenz für N1/LP: erster Reiz (50%) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen)	39
Abb. 18)	OERP-Latenzveränderungen für N1/LP: erster Reiz vs. zweiter Reiz (wahrgenommen)	40
Abb. 19)	Amplituden für N1/LP: erster Reiz (50%) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen)	41
Abb. 20)	Latenz für N1/LP: erster Reiz (50%) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)	42
Abb. 21)	OERP-Latenzveränderungen für N1/LP: erster Reiz vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)	43
Abb. 22)	Amplituden für N1/LP: erster Reiz (50%) vs. zweiter Reiz (wahrgenommen)	44
Abb. 23)	Gegenüberstellung der Amplituden für N1/LP: erster Reiz vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)	45
Abb. 24)	Latenz für N1/LP: zweiter Reiz (wahrgenommen) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)	46
Abb. 25)	OERP-Latenzveränderungen für N1/LP: zweiter Reiz (wahrgenommen) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)	47
Abb. 26)	Amplituden für N1/LP: zweiter Reiz (wahrgenommen) vs. zweiter Reiz (nicht wahrgenommen)	48
Abb. 27)	Latenz für N1: alle drei Bedingungen im Vergleich	49
Abb. 28)	Latenz für LP: alle drei Bedingungen im Vergleich	50
Abb. 29)	Amplitude für N1: alle drei Bedingungen im Vergleich	50
Abb. 30)	Amplitude für LP: alle drei Bedingungen im Vergleich	51

6.3. Tabellenverzeichnis

Tab. 1)	Definition der Flussvolumina am Olfaktometer	22
Tab. 2)	Einstellungen der Flussvolumina, Klassen und Sequenzen	25

7. Anhang

7.2. Sniffin' Sticks – Identifikationstest

Probadennummer:

Datum:

Geburtsdatum: ___/___/___

Geschlecht: männlich / weiblich

Rauchen: ja / nein

SNIFFIN' STICKS – Erkennung

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

Ergebnis: _____