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

Ableitung trigeminaler Reizantworten von der Nasenschleimhaut

Dissertationsschrift

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

von

Johanna Ulrike Göthel,

geb. Flechsig

aus Freiberg, Sachsen

Dresden 2025

1 Gutachter:

2 Gutachter:

Tag der mündlichen Prüfung (Verteidigungstermin):

gez.: ––––––––––––––––––––––––––––––

Vorsitzender der Promotionskommission

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1
2 Wissenschaftliche Grundlagen 3
2.1 Anatomie der Nase und Nasenschleimhaut 3
2.2 Das olfaktorische System 4
2.3 Das trigeminale System 5
2.3.1 Anatomische Grundlagen 5
2.3.2 Allgemeine Physiologie 7
2.3.3 Trigeminale Rezeptoren 9
2.4 Interaktion von olfaktorischen und trigeminalen System 12
2.5 Olfaktometrische und trigeminale Testverfahren 14
2.5.1 Lateralisierung....15
2.5.2 Das Olfaktometer 16
3 Elektroenzephalografie (EEG)....17
3.1 Chemosensorisch/Trigeminal-ereigniskorrelierte Potenziale (tERP)....17
3.2 Negatives Mukosapotential (NMP) 18
4 Ziele und Hypothesen dieser Dissertation 20
4.1 Ziele 20
4.2 Hypothesen....20
5 Methodenteil....21
5.1 Studienablauf 21
5.2 Ethik, Akquise und Teilnahmekriterien 22
5.3 Psychophysische Riechtestung – „Sniffin' Sticks“....23
5.4 Bewertung von Intensität und Angenehmheit nach Duftpräsentation mit portablem Olfaktometer 25
5.5 Lateralisierungstest 27
5.6 Vorbereitung der elektrophysiologischen Untersuchung 28
5.6.1 Velopharyngeale Verschlussatmung....28
5.6.2 Nasenelektrode 29
5.6.3 Rhinoskopische Untersuchung....29
5.6.4 Vorbereitung der elektrophysiologischen Messung....30
5.6.5 Ablauf der elektrophysiologischen Messung....32
5.7 Bewertung von Intensität und Angenehmheit 32
5.8 Dynamische Intensitätsbewertung....33
5.9 Auswertung der Daten und verwendete statistische Verfahren....33
5.10 Verwendete Duftstoffe und Gasgemische 35
6 Ergebnisse 37
6.1 Beschreibung der Probanden....37

6.2 Qualitätsbewertung und Einordnung mit Hilfe von Deskriptoren 37
6.3 Dynamische Intensitätsbewertung der Düfte 39
6.4 Periphere Reizantworten – Negative Mukosa Potentiale 41
6.5 Zentrale Reizantworten - Ereigniskorrelierte Potentiale 42
6.6 Korrelationsanalyse 46
6.7 Vergleich mit dem olfaktorischem Stimulus PEA 47
7 Zusammenfassung der Ergebnisse 49
8 Diskussion 50
8.1 Starke psychophysische und neuronale Reizantworten bei Aktivierung des TRPV1-Rezeptors 50
8.2 Abhängigkeit der Reizantworten von der verwendeten Konzentration 51
8.3 Bedeutung des TRPM8-Rezeptors für die Temperaturwahrnehmung 52
8.4 Co-Stimulation des TRPA1-Rezeptors und Perillaaldehyd als TRP-Kanal Agonist mit wenig reizenden, schmerzhaften Eigenschaften 52
8.5 Zusammenhang zwischen Amplituden und Latenzzeiten 53
8.6 Vergleich der trigeminalen Duftstoffe mit dem olfaktorischen Duftstoff PEA sowie Betrachtung der trigeminalen Eigenschaften von PEA 53
8.7 Zusammenhang TRP-Kanal und hervorgerufene Wahrnehmung 54
8.8 Empfehlung für weitere Studienmöglichkeiten 55
8.9 Schlussfolgerung 56
9 Zusammenfassung 57
10 Summary 59
11 Abbildungsverzeichnis 61
12 Tabellenverzeichnis 65
13 Abkürzungsverzeichnis 66
Literaturverzeichnis 67
14 Anhang 75
14.1 Tabelle A1: Verwendete Duftstoffe der Vorstudie mit portablem Olfaktometer 75
14.2 Tabelle A2: Verwendete Duftstoffe für die Ableitungen der zentralen und peripheren Potentiale 76
14.3 Anamnesebogen 77
14.4 Fragebogen zur trigeminalen Wahrnehmung 78
14.5 Selbstständigkeitserklärung 81
14.6 Danksagung 82
14.7 Anlage 1 - Erklärungen zur Eröffnung des Promotionsverfahrens 83
14.8 Anlage 2 - Bestätigung über Einhaltung der aktuellen gesetzlichen Vorgaben 85
Lebenslauf 86

1 Einleitung

Die Wahrnehmung von Geruchsstoffen beruht auf der Interaktion zwischen dem olfaktorischen und dem trigeminalen System, die sich gegenseitig beeinflussen und ergänzen. Die Duftempfindung wird über den olfaktorischen Nerv an das zentrale Nervensystem vermittelt, wobei der Nervus trigeminus diese durch weitere Empfindungen wie Brennen, Stechen, Prickeln, Schärfe, Wärme oder Kälte ergänzt (Doty et al., 1978; Laska et al., 1997; Viana, 2011). Ein Beispiel ist der Duft von Pfefferminze, welcher von einer dafür typischen Kälteempfindung begleitet wird. Das trigeminale System leistet einen entscheidenden Beitrag zur Wahrnehmung unserer Umgebung und ist als sogenannter „Wächter“ der Atemwege von zentraler Bedeutung für das Auslösen von Schutzreflexen wie beispielsweise Niesen oder Inspirationsstopp (Meusel et al., 2010; Widdicombe, 2011). Die trigeminale Wahrnehmung wird hauptsächlich durch eine Gruppe von Rezeptoren, den sogenannten „transient receptor potential“ (TRP) Rezeptoren, vermittelt (Boonen et al., 2017; Hummel & Frasnelli, 2019). Hervorzuheben für die Duftwahrnehmung sind der TRPM8-, TRPA1-, TRPV1- und TRPV3-Rezeptor. Die TRP-Rezeptoren werden zum einen durch bestimmte Temperaturbereiche und zum anderen durch chemische Stoffe aktiviert. Der ein Frischegefühl hervorrufende TRPM8-Rezeptor wird aktiviert durch Temperaturen von 8 bis 28 °C und chemische Substanzen wie Menthol oder Isopulegol. Der TRPV1-Rezeptor wird durch Temperaturen über 40 °C stimuliert und vermittelt die für Chili und das darin enthaltene Capsaicin typische Wärme- und Schärfeempfindung. Temperaturen unter 18 °C und Stoffe wie Allylisothiocyanat, welcher Hauptbestandteil von Senföl ist, aktivieren den TRPA1-Rezeptor. Dieser wird mit einer dumpfen, brennenden und schmerzhaften Empfindung, welche vergleichbar ist mit der durch Wasabi Verzehr hervorgerufenen Sensation, assoziiert. Der TRPV3-Rezeptor wird durch Temperaturen über 39 °C und Agonisten wie Thymol, welches natürlicherweise in Thymian vorkommt, oder Carvacrol aktiviert. Diese Aktivierung löst eine warme Empfindung aus (Boonen et al., 2017; Caterina & Julius, 1999; Hummel & Frasnelli, 2019; Laska et al., 1997; McKemy et al., 2002).

Obwohl eine Vielzahl trigeminaler Rezeptoren identifiziert und die durch die durch ihre Aktivierung ausgelösten Empfindungen umfassend charakterisiert wurden, liegen bislang nur wenige Untersuchungen zum spezifischen Antwortverhalten der einzelnen Rezeptortypen vor. Bisherige Studien haben häufig nur einen trigeminalen Reizstoff, zumeist Agonisten des TRPM8- (Carskadon & Herz, 2004; Joshi et al., 2021; Ojha et al., 2017) oder TRPV1-Rezeptors (Frasnelli et al., 2007; Frasnelli & Hummel, 2003; Hummel et al., 1998; Mignot et al., 2023) verwendet und damit nur einen möglichen Aktivierungsweg untersucht.

Angesichts der Vielfalt der durch trigeminale Stimulation ausgelösten Empfindungen und der besonderen Merkmale der unterschiedlichen Rezeptoren sind Rückschlüsse auf das gesamte trigeminale System dabei nur eingeschränkt möglich. Die Untersuchung des Antwortverhaltens von Duftstoffen, die unterschiedliche Rezeptoren aktivieren und der Vergleich der Reizantworten untereinander ist daher von wesentlicher Bedeutung für das bessere Verständnis der Vielfältigkeit trigeminaler Aktivierung und der Bedeutung der TRP-Rezeptoren für die Chemosensation.

2 Wissenschaftliche Grundlagen

2.1 Anatomie der Nase und Nasenschleimhaut

Die Nase und Nasennebenhöhlen übernehmen eine Vielzahl wichtiger Funktionen, unter anderem das Erwärmen, Reinigen und Befeuchten der eingeatmeten Luft. Sie stellen eine wichtige Schutzbarriere gegen Krankheitserreger dar, ermöglichen die chemische Analyse der eingeatmeten Luft über den Geruchssinn und spielen zudem eine Rolle bei der Erzeugung der nasalen Sprachlaute. Die äußere Nase besteht aus einem knöchernen und knorpeligen Anteil. Der knöcherne Teil, die Nasenwurzel, wird hauptsächlich vom Os nasale und dem Proc. frontalis des Os maxillare gebildet. Der knorpelige Teil der Nase, bestehend aus dem großen und den kleinen Flügelknorpeln, schließt sich an der Apertura piriformis an und formt den Nasenrücken sowie die Nasenflügel. Das Nasenseptum (Septum nasi), das die Nasenhöhlen trennt, besteht aus einem vorderen Knorpel- und einem hinteren Knochenanteil. An der seitlichen Nasenwand ragen drei Nasenmuscheln (Conchae nasalis inferior, media und superior) in die Nasenhöhle hinein, die die jeweiligen Nasengänge (Meatus nasi inferior, medius und superior) nach oben begrenzen. In diese münden die Nasennebenhöhlen sowie der Tränengang. Der Nasenvorhof (Vestibulum nasi) geht, begrenzt durch eine Schleimhautfalte (Limen nasi) in die eigentliche Nasenhöhle über. Über die hinteren Öffnungen (Choanen) besteht eine Verbindung zwischen der Nasenhöhle und dem Nasenrachenraum (Nasopharynx). Topografisch und histologisch lässt sich die Nasenhöhle in drei Abschnitte gliedern: die Regio cutanea, Regio respiratoria und Regio olfactoria. Die Regio cutanea ist durch eine epidermale Auskleidung mit zahlreichen Talg- und Schweißdrüsen gekennzeichnet. Die Regio respiratoria enthält ein typisches respiratorisches Flimmerepithel, während die Regio olfactoria mit spezialisierten Riechzellen in der Riechschleimhaut ausgestattet ist (Aumüller & Wennemuth, 2017). In **Abbildung 1** ist die topografisch-histologische Gliederung des Naseninnenraums dargestellt.

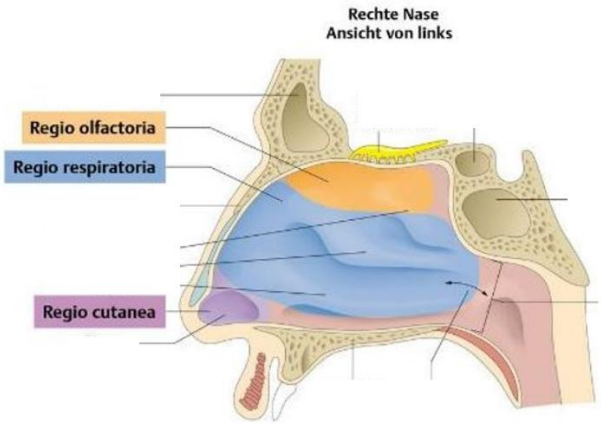

Abbildung 1: Topografisch-histologische Gliederung des Naseninnenraums (modifiziert nach Bommas-Ebert et al., 2011)

Die Innervation des Vorderabschnitts der Nasenhöhle erfolgt über den N. ethmoidalis anterior. Der hintere Abschnitt ist durch Rr. nasales posteriores superiores und inferiores, Äste aus dem Ggl. pterygopalatinum, und den N. nasopalatinus versorgt. Die nervale Versorgung der äußeren Nase wird über Äste aus dem N. ethmoidalis anterior, N. infraorbitalis, N. infratrochlearis und N. nasociliaris ermöglicht (Aumüller & Wennemuth, 2017). Die nasale Chemosensation basiert auf der Interaktion zwischen dem olfaktorischen und dem trigeminalen System, die in einer komplexen funktionellen Beziehung zueinanderstehen (Hernandez & Hummel, 2023).

2.2 Das olfaktorische System

Der Großteil der Riechschleimhaut befindet sich in der Riechspalte, die sich entlang der Schleimhaut des oberen Nasengangs erstreckt. Schätzungen zufolge enthält die Riechschleimhaut zwischen 12 Millionen (Moran et al., 1982) und 30 Millionen (Hatt, 2004) olfaktorische Sinneszellen, sogenannte olfaktorische Rezeptorneurone (ORN). Die Riechschleimhaut besteht aus einem mehrschichtigen olfaktorischen Epithel und der darunterliegenden Lamina propria. Zum olfaktorischen Epithel gehören verschiedene Zelltypen: Basalzellen, ORN, Stützzellen sowie mikrovilläre Zellen. In der Lamina propria finden sich Bindegewebe, Blutgefäße, die Bowman-Drüsen sowie die Axone der ORN (Witt & Hansen, 2008a). Bei den ORN handelt es sich um bipolare Zellen. Die dendritischen Fortsätze ragen in den Riechschleim hinein und verfügen über Auftreibungen, die von bis zu 20 unbeweglichen Zilien bedeckt werden.

Die Axone der ORN verlaufen gebündelt als Fila olfactoria durch die Lamina cribrosa in den Schädelraum. Dabei sind sie nicht von einer typischen Markscheide umgeben, sondern werden von gliaähnlichen Zellen, den sogenannten Olfactory Ensheating Cells, umhüllt. Die

olfaktorischen Rezeptorneurone exprimieren olfaktorische Rezeptorproteine, die Duftstoffe binden und das chemische in ein elektrisches Signal umwandeln. Es wird davon ausgegangen, dass von einer ORN nur einer der geschätzten 200 bis 400 beim Menschen vorhandenen Rezeptorproteintypen exprimiert wird. Die Bindung eines Duftmoleküls an einen olfaktorischen Rezeptor führt zur Aktivierung des olfaktorischen G-Proteins G_{olf}. Daraufhin katalysiert die Adenylylzyklase Ⅲ die Umwandlung von Adenosintriphosphat in zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP), das als Second Messenger in der Signalweiterleitung fungiert. Dieser löst die Öffnung von Kationenkanälen aus, wodurch Natrium- und Calciumionen in die Sinneszelle einströmen. Das ansteigende intrazelluläre Calcium aktiviert zusätzlich chloridleitende Kanäle, sodass Chloridionen aus der Zelle ausströmen und das Membranpotenzial weiter depolarisiert wird. Wird ein Schwellenwert von etwa -50 mV überschritten, entsteht ein Aktionspotenzial, das über den Bulbus olfactorius in Richtung Kortex weitergeleitet wird (Witt & Hansen, 2008a).

Die Filae olfactoriae verlaufen gebündelt als Nervus olfactorius zum Bulbus olfactorius. Dieser zeigt bereits eine für zentrale Rindengebiete typische laminare Schichtung und ist daher als erste zentrale Struktur des olfaktorischen Signalwegs zu betrachten. Die erste synaptische Übertragung erfolgt in den Glomeruli des Bulbus olfactorius, wo die Signalübertragung von den Axonen der ORN auf die dendritischen Aufzweigungen der Mitralzellen stattfindet. Die Axone der Mitralzellen projizieren in sekundär olfaktorische Strukturen, die unter dem Begriff “olfaktorischer Kortex“ zusammengefasst werden. Der Gesamtausgang dieser Fasern wird als Tractus olfactorius lateralis bezeichnet. Zu den Zielregionen zählen unter anderem der Nucleus olfactorius anterior, der piriforme Kortex, Anteile der Amygdala, der entorhinale Kortex, das ventrale Striatum sowie die Calleja-Zellen. Von diesen Arealen ziehen weitere Projektionen beispielsweise zur Inselrinde und zum orbitofrontalen Kortex (Witt & Hansen, 2008b).

2.3 Das trigeminale System

2.3.1 Anatomische Grundlagen

Der N. trigeminus stellt den fünften und größten der zwölf Hirnnerven dar (Frasnelli & Manescu, 2017). Er enthält allgemein somatoafferente Fasern, die somatosensorische Reize aus der Haut sowie der Schleimhaut weiterleiten.

Des Weiteren innerviert er die Kaumuskeln und den M. tensor tympani durch speziell viszeroefferente Fasern, die vom N. mandibularis mitgeführt werden (Frasnelli & Manescu, 2017; Hummel & Frasnelli, 2019).

In der Nasenschleimhaut sind trigeminale Nervenendigungen in der Lage, neben somatosensorischen auch chemosensorische Informationen über spezifische Chemorezeptoren zu erfassen (Frasnelli & Manescu, 2017).

Distal des Ganglion trigeminale teilt sich der N. trigeminus in seine drei Hauptäste auf: den N. ophthalmicus, den N. maxillaris und den N. mandibularis, woraus sich die entsprechende Bezeichnung des Nervus ergibt. Diese drei Äste verlassen den Schädel jeweils durch unterschiedliche Foramina, die Fissura orbitalis superior (V1), das Foramen rotundum (V2) und das Foramen ovale (V3). Dabei erfolgt die Versorgung des vorderen Bereichs der Nasenhöhle durch Äste des N. opthalmicus, während der hintere Abschnitt von Fasern des Nervus maxillaris innerviert wird. Afferente Informationen der drei Äste konvergieren im genannten Ganglion trigeminale, welches als Äquivalent der Spinalganglien im Rückenmark betrachtet werden kann. Im Ganglion trigeminale liegen die Zellkörper der eintreffenden sensorischen pseudounipolaren Nervenfasern, während die Zellkörper der motorischen Fasern im Hirnstamm, genauer im Nucleus motorius des Nervus trigeminus, lokalisiert sind. Das Ganglion selbst ist in einer Duratasche, dem sogenannten Cavum trigeminale, an der Vorderseite des Felsenbeins eingebettet (Hummel & Frasnelli, 2019; Lang, 1989; Schünke, 2018). Die von dort ausgehenden afferenten Fasern treten auf Höhe des Ponses in den Hirnstamm ein. Dort erreichen sie weitere sensible trigeminale Subnuclei – den Ncl. spinalis, Ncl. principalis und Ncl. mesencephalicus –, die sich vom oberen Zervikalmark bis ins Mittelhirn erstrecken (Frasnelli & Manescu, 2017; Hummel & Frasnelli, 2019; Schünke, 2018). Ein Großteil der aufsteigenden Fasern kreuzt zur Gegenseite, während ein Teil auf der ipsilateralen Seite verbleibt und aufsteigt (Barnett et al., 1995). Anschließend treten die afferenten Fasern auf Höhe des Pons in den Hirnstamm ein. Im Hirnstamm erfolgt die erste synaptische Umschaltung. Die Information wird auf Neuronen übertragen, die diese weiter in den Thalamus, auch “Tor zum Bewusstsein“ genannt, projizieren. Genauer gelangen die trigeminalen Informationen in folgende Kerngebiete des Thalamus: ventrobasale, zentromediale und parafasciculare Kerngebiete. Im Thalamus erfolgen die zweite synaptische Verschaltung und die Weitergabe der Information in den primär somatosensorischen Kortex (Frasnelli & Manescu, 2017). Eine schematische Darstellung der Weiterleitung der chemosenosorischen Informationen ist der **Abbildung 2** zu entnehmen.

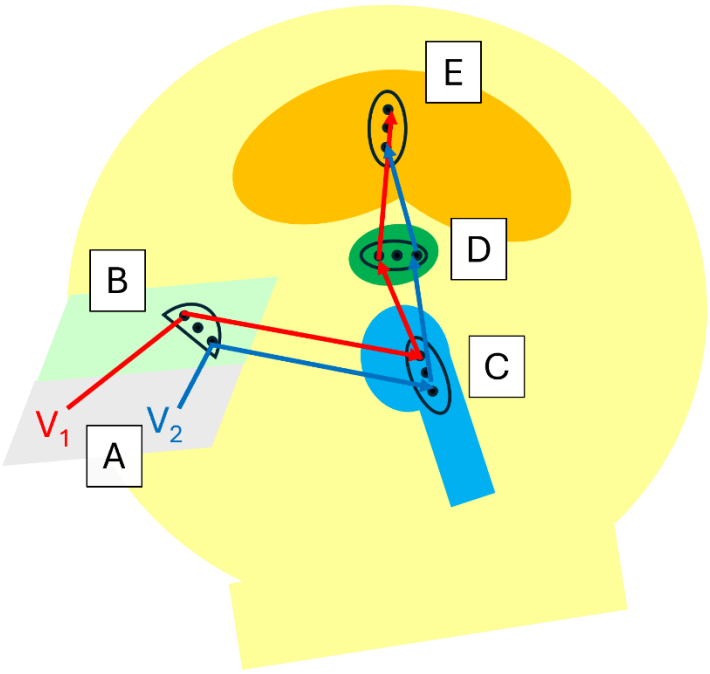

Abbildung 2: Signalweg für die Weitergabe trigeminaler Informationen von der Nasenschleimhaut (A… Trigeminale Nervenendigungen; B… Ganglion trigeminale, in dem sich die Zellkörper der trigeminalen Neurone befinden; C…Hirnstamm - Ort der ersten synaptischen Umschaltung; D… Thalamus - Ort der zweiten synaptischen Umschaltung; E…somatosensorischer Kortex; Der vordere Bereich der Nase wird durch Äste des N. ophthalmicus V1 (Rot) versorgt, während die Innervation des hinteren Abschnitts durch Äste des N. maxillaris V2 (Blau) erfolgt. Die Weitergabe der Information erfolgt in somatotopischer Ordnung.)

Die Weiterleitung der Informationen verläuft von der Peripherie bis zum somatosensorischen Kortex in somatotopischer Ordnung (Hummel & Frasnelli, 2019), wodurch die relative räumliche Anordnung der Äste zueinander vom Ganglion trigeminale bis zum somatosensorischen Kortex erhalten bleibt (Frasnelli & Manescu, 2017). Im fMRT konnte durch Stimulation der Stirn und des Kinns gezeigt werden, dass Informationen aus dem Innervationsgebiet des N. ophthalmicus im unteren Bereich des Gyrus postcentralis und solche aus dem Versorgungsgebiet des N. mandibularis in oberen Abschnitten des Sulcus centralis repräsentiert werden (Servos et al., 1999).

2.3.2 Allgemeine Physiologie

Die intranasale Sensitivität besitzt unterschiedliche Funktionen. Das trigeminale System ist an der Wahrnehmung von Duftstoffen beteiligt, dient dem Schutz der Atemwege gegenüber toxischen Reizstoffen und spielt eine wichtige Rolle für die Wahrnehmung des nasalen Luftstroms (Scheibe et al., 2012). Die meisten Duftstoffe aktivieren das olfaktorische und trigeminale System. Ein Beispiel dafür ist Nikotin, welches nicht nur eine Geruchsempfindung, sondern auch eine brennende und stechende Wahrnehmung auslöst (Hummel et al., 1992).

Filiou et al. konnten vier Hauptdimensionen für die trigeminale Wahrnehmung herausarbeiten. Dazu gehören das Temperaturempfinden von Wärme und Kälte, außerdem die Schmerzwahrnehmung (stechend, scharf, kratzend, prickelnd, schmerzhaft, brennend, zusammenziehend) und die Wahrnehmung der Intensität (Filiou et al., 2015).

Dem trigeminalen System wird eine bedeutende Rolle beim Schutz der Atemwege vor chemischen und mechanischen Reizstoffen zugeschrieben. Seine Aktivierung kann Schutzreflexe wie Niesen, eine Unterbrechung der Einatmung oder sogar Atemstillstand auslösen (Widdicombe, 2011). Die respiratorische Schleimhaut ist in Hinblick auf die Empfindlichkeit gegenüber Reizstoffen ein inhomogenes Gewebe. So konnte beispielsweise Scheibe et al. eine hohe Sensitivität im vorderen Teil der Nasenhöhle zeigen. Diese Ergebnisse sind vereinbar mit der Hypothese, dass das trigeminale System als "Wächter" der menschlichen Atemwege fungiert (Scheibe et al., 2006). Hervorzuheben ist die Bedeutung des trigeminalen Luftstroms für die Wahrnehmung des nasalen Luftstroms. Bei künstlich erschwerter Atmung führt die Inhalation von L-Menthol zu einer wahrgenommenen Linderung der Atembeschwerden, wobei das Atemmuster und die gemessenen Ventilationsparameter wie beispielsweise das Tidalvolumen V_T in ml und der endtidale CO_2-Partialdruck $PetCO_2$ in mmHg oder der Volumenstrom der Einatmung $\dot{V}_I$ in l/min sich nicht verändern (Nishino et al., 1997). Andererseits führt die Infiltrationsanästhesie in den Nasenboden im Naseneingangsbereich zum Gefühl der nasalen Obstruktion, allerdings auch hier ohne große Effekte auf den nasalen Atemwegswiderstand (Jones et al., 1987).

An der Weiterleitung trigeminaler Reize sind unterschiedliche Fasertypen beteiligt. Während die Aktivierung von C-Fasern mit dumpfen Schmerzempfindungen einhergeht, führen Aδ-Fasern zu eher stechenden, scharfen Empfindungen (Mackenzie et al., 1975). Die Art der Wahrnehmung, etwa ob ein Reiz als stechend oder brennend empfunden wird, hängt dabei unter anderem von der Stimuluskonzentration ab. So zeigen Untersuchungen von Hummel et al., dass Nikotin in niedrigeren Konzentrationen eher brennende statt stechende Empfindungen auslöst. Es wurde herausgearbeitet, dass die stechende Schmerzqualität unmittelbar nach der Geruchsempfindung auftritt, während die brennende erst nach einigen Sekunden einsetzt (Hummel et al., 1992). Des Weiteren reagieren die beiden Faserarten unterschiedlich auf die Präsentation wiederholter chemischer Reize. Bei der Darbietung von Reizserien mit je sechs Reizen und verschiedenen innerhalb der Reizserie konstanten Interstimulusintervallen (ISI) von zwei, vier oder acht Sekunden konnte gezeigt werden, dass bei einem ISI von 2 s die Intensitätsbewertung der gesamten Schmerzwahrnehmung steigt. Diese wird begleitet von dem Aufbau eines dumpfen, brennenden Schmerzes.

Grund hierfür ist wahrscheinlich eine Summation der eingehenden Signale in den Hinterhornneuronen des Rückenmarks beziehungsweise im Ganglion trigeminale (Handwerker et al., 1975; Zimmermann, 1968).

Im Gegensatz dazu wird bei einem ISI von 8 s nur ein scharfer, stechender Schmerz wahrgenommen. Außerdem nimmt die Intensität der Wahrnehmung des sogenannten “ersten Schmerzes“ unabhängig vom ISI mit jedem erfolgreich abgegebenen Stimulus ab (Hummel et al., 1994).

Trigeminale Nervenfasern in der Mund- und Nasenschleimhaut unterscheiden sich funktionell von jenen, die in der Haut terminieren. Letztere exprimieren somatosensorische Rezeptoren, die erst bei Vorliegen einer Hautläsion durch chemische Substanzen stimuliert werden können. Im Gegensatz dazu lassen sich trigeminale Nervenendigungen in der Schleimhaut auch ohne vorherigen Gewebeschaden direkt durch chemische Reize aktivieren. Dies ist möglich weil nozizeptive Fasern in der Schleimhaut, anders als in der Haut, nicht durch ein schützendes Plattenepithel bedeckt sind, sodass chemische Reizstoffe nahezu ungehindert auf die freien Nervenendigungen einwirken können (Finger et al., 1990; Hummel & Frasnelli, 2019).

2.3.3 Trigeminale Rezeptoren

Die Fähigkeit kutaner und trigeminaler Nervenendigungen, chemische Verbindungen zu erkennen, wird als Chemesthesie oder, im weiteren Sinne, Chemosensorik bezeichnet. Diese umfasst die Aktivierung von Nozizeptoren und Thermorezeptoren und dient dem Schutz vor und der Abwehr von Reiz- und Giftstoffen (Viana, 2011). Die Chemosensation wird unter anderem durch TRP-Rezeptoren vermittelt, die auf trigeminalen Nervenendigungen exprimiert werden. Diese TRP-Kanäle können sowohl durch bestimmte Temperaturbereiche als auch durch spezifische chemische Verbindungen aktiviert werden.

TRP-Rezeptoren gehören zur Superfamilie der spannungsabhängigen Ionenkanäle. Es wird angenommen, dass die Mitglieder dieser Superfamilie sich im Grundaufbau gleichen (Yu & Catterall, 2004). Vermutlich bilden die Kanäle Tetramere, wobei die einzelnen Untereinheiten aus den sechs Transmembrandomänen S1 bis S6 aufgebaut werden. An der Bildung der Kanalöffnung sind die Domänen S5 und S6 der 4 Untereinheiten sowie die π-Helix (Zubcevic & Lee, 2019), eine Sekundärstruktur von Proteinen und eine die beiden Domänen verbindende hydrophobe Schlaufe beteiligt (Tombola et al., 2006). In **Abbildung 3** ist der Aufbau einer Untereinheit eines TRP-Kanals am Beispiel eines TRPV1-Rezeptors dargestellt. TRPM8-Rezeptoren und auch andere temperaturempfindliche TRP-Kanäle werden spannungsabhängig geöffnet. Voets et al. konnten zeigen, dass das Transmembransegment S4 und die Verbindungsschlaufe von S4 und S5 Teil des Spannungssensors sind (Voets et al., 2007).

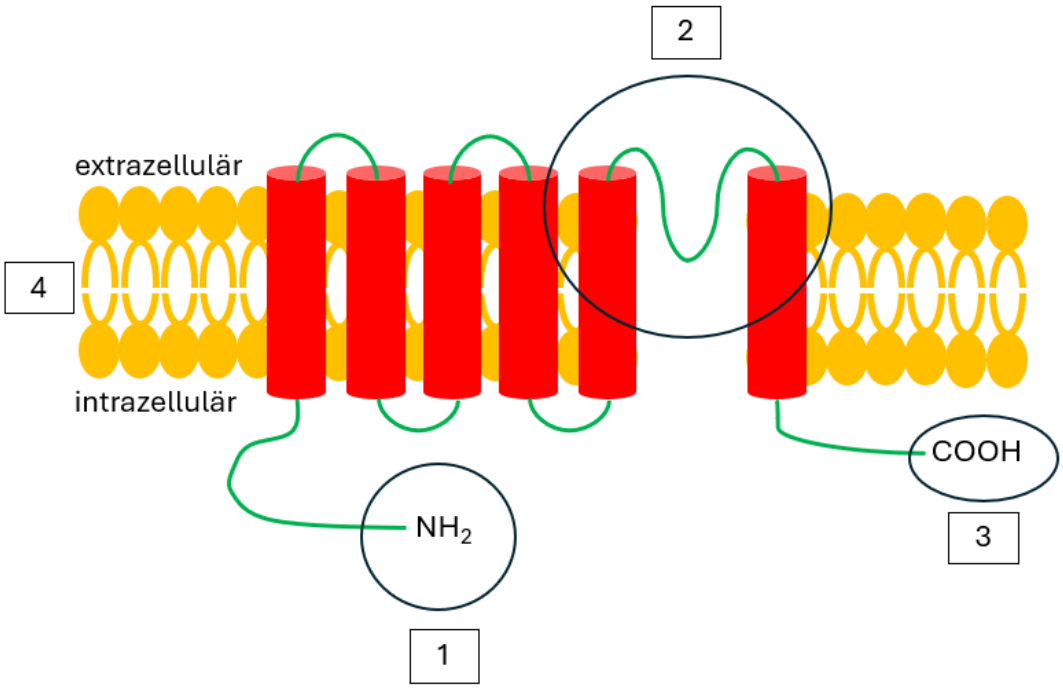

Abbildung 3: Aufbau einer Untereinheit eines TRPV1-Kanals (1…N-Terminus; 2…C-Terminus; 3…Domänen S5 und S6 mit verbindendender hydrophober Schlaufe, beteiligt an der Bildung der Kanalöffnung; 4…Zellmembran)

Wie unterschiedliche Temperaturreize die Konfirmationsänderung der TRP-Kanäle und deren Kanalöffnung steuern, ist derzeit noch nicht vollständig verstanden. Aktuelle Studien an TRPM8- und TRPV1-Chimären deuten auf eine Beteiligung des C-Terminus an der Temperaturwahrnehmung hin. Der Austausch des C-Terminus des TRPV1-Kanals mit dem des TRPM8-Kanals kehrt die Temperaturempfindlichkeit von wärmeempfindlich zu kälteempfindlich um. Es bleibt weiterhin unklar, durch welche Mechanismen der thermische Stimulus zur Kanalöffnung führt (Brauchi et al., 2006).

An der chemischen Aktivierung scheint zum einen die Bindung von hydrophoben Verbindungen wie Capsaicin und Menthol nahe der Spannungssensor-Region durch konservierte Mechanismen und die kovalente Modifikation der TRP-Rezeptoren von Bedeutung zu sein (Bandell et al., 2007). Es konnte beispielsweise gezeigt werden, dass TRPA1 durch kovalente Modifikation von intrazellulären Cysteinresten aktiviert werden kann (Macpherson et al., 2007). Einerseits werden die Rezeptoren spezifisch chemisch aktiviert, andererseits liegt auch eine erhebliche Kreuzreaktivität vor. Ein Beispiel hierfür ist Menthol, welches den TRPM8-Rezeptor aktiviert. Hierbei kommt es zu der für Menthol typischen Kälteempfindung.

Es konnte zudem nachgewiesen werden, dass Menthol einerseits TRPV3-Kanäle aktiviert und andererseits die Aktivität von TRPA1-Kanälen inhibiert (Macpherson et al., 2006).
Im Folgenden werden die für diese Dissertation relevanten Rezeptoren – TRPV1, TRPM8, TRPA1 und TRPV3 – kurz vorgestellt.
Der zuerst entdeckte TRPV1-Rezeptor wird aktiviert durch Temperaturen über 40 °C und chemische Stimulantien wie beispielsweise Capsaicin, welches verantwortlich für die Schärfe von Chili ist. TRPV1-Kanäle können außerdem durch extrazelluläre Protonen stimuliert werden. Diese führen zusätzlich zu einer starken Sensitivierung der Empfindlichkeit gegenüber Vanilloid-Agonisten und senken die Temperaturschwelle für die Aktivierung des TRPV1-Rezeptors (Caterina & Julius, 1999; Caterina et al., 1997). Capsaicin führt bei Langzeitexposition zu einer Desensitivierung des Kanals (Kwak, 2012).
Der TRPM8-Rezeptor wurde ursprünglich als Kälte- und Menthol-Rezeptor bezeichnet, da dieser durch Temperaturen zwischen 8 und 28 °C sowie Menthol aktiviert wird. Später wurde entdeckt, dass auch einige andere chemische Verbindungen wie beispielsweise Eukalyptol, die ein Frischegefühl hervorrufen, den TRPM8-Rezeptor aktivieren. Nach Reizexposition über einige Minuten desensibilisiert der TRPM8-Rezeptor, ähnlich wie der TRPV1-Rezeptor. Die Rezeptorstimulation bewirkt eine kühle, frische Empfindung (McKemy et al., 2002).
Der TRPA1-Rezeptor ist empfindlich gegenüber gewebsschädigenden, niedrigen Temperaturen unterhalb von 18 °C. Des Weiteren wird der Rezeptor zum Beispiel durch chemische Verbindungen mit einer schmerzhaften, brennenden sensorischen Qualität wie Allylisothiocyanat, dem Hauptbestandteil von Senföl, aktiviert (Bandell et al., 2004).
Der TRPV3-Rezeptor wird durch warme, unschädliche Temperaturen mit einer Aktivierungsschwelle von ungefähr 33 bis 35 Grad Celsius stimuliert (Peier et al., 2002). Verschiedene chemische Verbindungen, darunter Thymol, welches natürlicherweise in Thymian vorkommt und auch Carvacrol agieren als Agonisten am Rezeptor (Vogt-Eisele et al., 2007; Xu et al., 2006). Die Aktivierung löst eine warme Empfindung aus (Xu et al., 2006).
Neben den TRP-Kanälen gibt es weitere Ionenkanäle wie die „acid-sensing ion channels“ (ASICs). Diese gehören zur DEG/ENaC-Ionenkanalfamilie und zählen zu den neuronalen spannungsunabhängigen Kationenkanälen (Kaulich et al., 2023). Sie werden durch eine Zunahme der extrazellulär vorhandenen Protonen aktiviert.
Es wird zudem angenommen, dass sie sowohl an der Schmerzwahrnehmung, die durch Säuren ausgelöst wird, als auch an der Weitergabe des sauren Geschmacks beteiligt sind (Waldmann et al., 1997).
Zusätzlich sind cholinerge Rezeptoren, die von trigeminalen afferenten Fasern exprimiert werden, an der mit Nikotinexposition verbundenen brennenden Wahrnehmung beteiligt (Liu et al., 1993; Thuerauf et al., 1999).

Ebenfalls in der respiratorischen Nasenschleimhaut zu finden, sind die sogenannten “solitary chemosensory cells“ (SCCs), welche über synaptische Kontakte mit trigeminalen Nervenfasern in Verbindung stehen.
Diese Zellen vermitteln protektive Reflexe und dienen dem Schutz vor der Aufnahme schädlicher Substanzen. Finger et al. konnten zeigen, dass chemosensorische Zellen den Bitterrezeptor T2R sowie das G-Protein α-Gustducin exprimieren. In ihren Versuchen konnte durch verschiedene getestete, bitterschmeckende Substanzen eine trigeminale Aktivierung ausgelöst werden. Damit einherging eine veränderte Atmung im Sinne einer verlangsamten Atmung oder Apnoe bei den Versuchstieren (Ratten, Mäuse). In diesem Zusammenhang führt die Aktivierung durch die bitterschmeckenden Substanzen wahrscheinlicher zu einer Wahrnehmung von Irritation anstelle von Bitterkeit (Finger et al., 2003).

2.4 Interaktion von olfaktorischen und trigeminalen System

Im Folgenden wird erläutert, dass das trigeminale und das olfaktorische System auf unterschiedlichen Ebenen miteinander interagieren und sich dabei sowohl hemmend als auch verstärkend beeinflussen können.
Die Komplexität der Interaktion lässt sich anhand eines Beispiels verdeutlichen: Livermore et al. untersuchten die komplexe Beziehung der beiden Systeme durch die Präsentation eines olfaktorischen (H_2S), eines trigeminalen (CO_2) und eines gemischt olfaktorisch-trigeminalen (Carvon) Stimulus allein und in binären Mischungen. Die wahrgenommene Intensität von CO_2 wurde durch die Zugabe von H_2S nicht signifikant verändert, wohingegen die Zugabe von Carvon diese reduzierte. Sowohl die Zugabe von CO_2 als auch die von Carvon zu H_2S führte zu einer verminderten Wahrnehmungsintensität. Die wahrgenommene Intensität von Carvon wurde weder in Mischung mit CO_2 noch in Mischung mit H_2S reduziert. Durch die Zugabe von CO_2 wurde es sogar als intensiver wahrgenommen. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass in binären Mischungen die trigeminale Komponente gegenüber der olfaktorischen bezüglich der wahrgenommenen Intensität dominiert, während gemischt olfaktorisch-trigeminale Reize sowohl gegenüber rein olfaktorischen als auch rein trigeminalen Komponenten vordergründig wahrgenommen werden (Livermore et al., 1992).
Zum einen interagieren die Systeme auf der Ebene des Stimulus. Der N. trigeminus innerviert zusätzlich zum respiratorischen Epithel auch die Riechschleimhaut, daher befinden sich die Rezeptoren zur Wahrnehmung von trigeminalen Reizen in unmittelbarer Nähe zu denen des olfaktorischen Systems. Die Rezeptoren werden oft zur gleichen Zeit durch einen Stimulus aktiviert (Dalton, 2001). Die meisten Duftstoffe aktivieren nicht nur das olfaktorische, sondern auch das trigeminale System. Diese trigeminale Aktivierung tritt jedoch meist erst bei höheren Konzentrationen auf (Cain, 1976). Auf der anderen Seite stimulieren die meisten Reizstoffe, die das trigeminale System aktivieren, auch das olfaktorische System.

Im fMRT konnte nachgewiesen werden, dass eine trigeminale Stimulation mit CO_2 – einem üblicherweise als rein trigeminalen Reizstoff eingestuften Stimulus – Hirnareale aktiviert, die typischerweise an der Verarbeitung olfaktorischer Reize beteiligt sind, darunter der piriforme Kortex, der orbitofrontale Kortex, die rostrale Insula sowie der Gyrus temporalis superior (Boyle et al., 2007).

Auch auf peripherer Ebene konnte eine Interaktion der beiden Systeme gezeigt werden: Patienten mit Anosmie, unabhängig, ob diese angeboren oder erworben ist, zeigen größere Amplituden der negativen Mukosapotenziale, was auf eine gesteigerte periphere Empfindlichkeit hindeutet (Frasnelli & Hummel, 2007; Frasnelli et al., 2007). Eine mögliche Erklärung könnte darin bestehen, dass trigeminale Kollateralen im olfaktorischen Bulbus vorhanden sind (Schaefer et al., 2002), die dort bei normaler Funktion des olfaktorischen Systems über ein exzitatorisches Netzwerk aktiviert werden können (Christie & Westbrook, 2006). Frasnelli et al. formuliert die Hypothese, dass diese permanente Aktivierung zu einer Desensibilisierung führt, welche auch von Dalton et al. gezeigt wurde (Dalton et al., 2006), welche eine geringere periphere Empfindlichkeit im trigeminalen System zur Folge hat. Daraus ergibt sich die Ableitung größerer NMP-Amplituden. Trembley et al. untersuchten, wie sich die ipsilaterale und kontralaterale Co-Stimulation mit einem rein olfaktorischen Duftstoff auf den Lateralisierungstest auswirkt. Für die ipsilaterale Co-Stimulation wurde gezeigt, dass sich die Fähigkeit, einen trigeminalen Reiz zu lokalisieren, verbessert. Dies impliziert eine Interaktion von trigeminalem und olfaktorischem System auf Schleimhautebene (Tremblay & Frasnelli, 2018). In Studien an Mäusen konnte gezeigt werden, dass die TRP-Kanäle TRPV1 und TRPV4 an der Proliferation und Zellreifung der ORN-Vorläuferzellen beteiligt sind (Sakatani et al., 2023). Außerdem könnte die Aktivierung des trigeminalen Systems die Aktivität der ORN durch lokale Axonreflexe beeinflussen, die die Freisetzung von Substanz P auslösen – einem Neurotransmitter, der unter anderem an der Schmerzübertragung beteiligt ist. (Bouvet et al., 1987).

Des Weiteren liegt eine Wechselbeziehung der Systeme auf zentraler Ebene vor: Cain und Murphy stellten bei der Präsentation eines olfaktorisch-trigeminalen Duftgemischs in einem Nasenloch im Vergleich zu der separaten trigeminalen und der olfaktorischen Komponente in jeweils einem Nasenloch sich gegenseitig unterdrückende Effekte fest. Mit steigender Konzentration der trigeminalen wurde die Wahrnehmung der olfaktorischen Komponente zunehmend gehemmt und umgekehrt. Das konnte für die Stimulation mit dem Duftgemisch und die Präsentation der Einzelkomponenten in das jeweils andere Nasenloch gezeigt werden. Dies führt zur Annahme, dass die Unterdrückung zentral vermittelt wird (Cain & Murphy, 1980). Obwohl jedes System über „eigene“ zerebrale Verarbeitungsareale verfügt, gibt es zahlreiche Überlappungen.

Folgende Areale werden beispielsweise wahrscheinlicher in Folge von trigeminaler Stimulation aktiviert: der Hirnstamm, die Insula, das Operculum frontale, der Lobus parietalis superior, der Gyrus präzentralis und primäre und sekundäre somatosensorische Areale. Gebiete, die mit höherer Wahrscheinlichkeit nach olfaktorischer Stimulation aktiviert werden, sind zum Beispiel die Amygdala, der hintere Anteil des piriformen Kortex, der Thalamus und der vordere Anteil des orbitofrontalen Kortex. Beide Systeme aktivieren Teile des piriformen Kortex, des orbitofrontalen Kortex, des Gyrus frontalis medius und der rostralen Insula (Albrecht et al., 2010). Mittels fMRT konnte gezeigt werden, dass die gleichzeitige Stimulation mit CO_2 als selektiv trigeminalem Reiz und PEA als selektiv olfaktorischem Reiz bei gesunden Probanden eine stärkere kortikale Aktivierung hervorruft als die Summe der Aktivierungen bei separater Reizpräsentation. Es werden also andere, zusätzliche Hirnareale aktiviert. Dies gilt für chemosensorische Areale, wie den orbitofrontalen Kortex, und multisensorische Integrationszentren, wie den rechten Sulcus intraparietalis und den linken Sulcus temporalis superior (Hummel & Frasnelli, 2019).
Die trigeminale Aktivierung ruft verschiedene nasale Reflexe, welche die Durchgängigkeit der Nase, die Atmung oder die Aktivität von Drüsen und sekretorischen Zellen und dadurch die Beschaffenheit des schleimhautbedeckenden Mukus verändern, hervor. Es ist anzunehmen, dass diese Anpassungen die olfaktorische Wahrnehmung indirekt beeinflussen (Finger et al., 1990).

2.5 Olfaktometrische und trigeminale Testverfahren

Es gibt unterschiedliche Messmethoden zur Bewertung der olfaktorischen und trigeminalen Funktion. Diese lassen sich in drei Gruppen einteilen: elektrophysiologische Methoden, wie beispielsweise die Ableitung ereigniskorrelierter Potenziale, sowie psychophysische und psychophysiologische Testverfahren (Delank, 1998; Hummel & Frasnelli, 2019).
Psychophysische Verfahren in der Olfaktometrie erfordern die konkrete Rückmeldung des Patienten, sind aber unkompliziert und kostengünstig durchführbar (Delank, 1998).
Dazu zählen unter anderem die Schwellenbestimmung und die Lateralisierung (Hummel & Frasnelli, 2019). Die Bestimmung der Riechwelle zum Beispiel ist mit den Sniffin' Sticks möglich. Außerdem können die Diskriminations- und Identifikationsleistung der Testperson getestet und eingeordnet werden. Bei den beiden zuletzt genannten Testverfahren werden Konzentrationen oberhalb der Schwellenwerte verwendet (Hummel & Welge-Lüssen, 2008). Zur groben Einordnung des Riechvermögens wird meist ein Identifikationstest verwendet, welcher sich aus 16 unterschiedlichen Duftstoffen zusammensetzt, die vom Probanden identifiziert werden sollen. Oleszkiewicz et al. konnten zeigen, dass Punktwerte > 11 für eine Normosmie sprechen (Oleszkiewicz et al., 2019).

Bei der psychophysiologischen Testung werden nach Stimulation mit einem Duftstoff/Riechreiz reflexähnliche Reaktionen wie die Änderung der Atmung, des Blutdrucks oder der Schweißdrüsensekretion erfasst (Delank, 1998).
Die elektrophysiologische Untersuchung bietet eine Möglichkeit der objektiven Messung. Technisch möglich wurde dies erst durch die Verwendung von Olfaktometern zur kontrollierten Duftpräsentation. Es kann zum einen die zentrale Verarbeitung von Duftstoffen über die Ableitung mittels EEG-Elektroden von der Schädeloberfläche untersuchen und zum anderen ist die Ableitung peripherer Reizantworten über eine Nasenelektrode möglich. Bei diesem Testverfahren ist allerdings der hohe technische Aufwand zu beachten (Delank, 1998).

2.5.1 Lateralisierung

Kobal et al. konnten zeigen, dass die Lokalisation eines Stimulus bei Testung rein olfaktorischer Duftstoffe, wie Vanillin oder H_2S, zufällig ist. Bei Verwendung von den Duftstoffen CO_2 oder Menthol, welche das trigeminale System aktivieren, wurde die Seite der Stimulation meistens richtig identifiziert. Die Arbeitsgruppe schlussfolgerte aus ihren Ergebnissen, dass es bei einer kurzzeitigen Duftwahrnehmung nur dann möglich ist, die Seite der Stimulation zu erkennen, wenn der Duftstoff eine trigeminale Komponente aufweist (Kobal et al., 1989).
Beim Lateralisierungstest wird die Testperson gebeten, dasjenige Nasenloch zu identifizieren, das den Stimulus erhalten hat (Frasnelli & Manescu, 2017). Es handelt sich demnach um ein Testverfahren, welches allein von der trigeminalen Wahrnehmung abhängt. Eine olfaktorische Interferenz kann somit weitestgehend ausgeschlossen werden (Frasnelli & Manescu, 2017). Es gibt unterschiedliche Möglichkeiten die Lateralisierung durchzuführen: Zum einen als semiquantitative Messung, wobei der Stimulus in konstanter Konzentration in festgelegter Anzahl präsentiert und die Anzahl der richtigen Erkennungen gezählt wird und zum anderen als „Treppenstufen“-Test, um die Konzentrationsschwelle der Lateralisierung zu bestimmen (Hummel & Frasnelli, 2019).
Frasnelli et al. und Hummel et al. beschreiben, dass einerseits die Messung der trigeminalen Empfindlichkeit innerhalb einer Population oder der Vergleich der Sensitivität zwischen verschiedenen Testgruppen möglich ist (Frasnelli et al., 2007; Hummel et al., 2003). Andererseits lässt sich das Ausmaß der trigeminalen Beteiligung an der Wahrnehmung eines Duftstoffes bestimmen (Frasnelli et al., 2008; Kobal et al., 1989). Es wird angenommen, dass das Ergebnis des Lateralisierungstests ein Maß für die allgemeine Sensitivität des trigeminalen Systems einer Testperson ist. Frasnelli et al. konnten zeigen, dass die Testergebnisse der Lateralisierung unterschiedlicher trigeminaler Stimuli im Allgemeinen miteinander korrelieren. Hierbei wurde hingegen auch festgestellt, dass eine Abweichung für Agonisten unterschiedlicher trigeminaler Rezeptoren vorliegt.

Es traten Mischungseffekte auf: Mischungen, die Agonisten unterschiedlicher trigeminaler Rezeptoren enthielten, wurden als intensiver wahrgenommen und besser „lateralisiert“ als Mischungen, die Agonisten gleicher Rezeptoren enthielten. Insgesamt lässt sich aber aus Korrelation der Testergebnisse des Lateralisierungstest unterschiedlicher trigeminaler Stimuli ableiten, dass es ausreichend ist, einen trigeminalen Stimulus zu testen, um die trigeminale Wahrnehmung eines Probanden einzuschätzen (Frasnelli, Albrecht et al., 2011). Bei gleicher Konzentration führt die Applikation größerer Volumina zur besseren Lokalisierbarkeit des präsentierten Duftstoffs. Diese deutet auf eine stärkere Aktivierung des trigeminalen Systems hin (Frasnelli, Hummel et al., 2011).

2.5.2 Das Olfaktometer

Bei der Messung von ereigniskorrelierten Potenzialen sind die Eigenschaften des Stimulus von entscheidender Bedeutung. Für die Präsentation des Stimulus ist es erforderlich, einen schnellen und steilen Anstieg sowie Abfall der Konzentration zu gewährleisten und gleichzeitig eine mechanische und thermische Co-Stimulation der Nasenschleimhaut zu vermeiden. Das von Kobal und Plattig in den späten 70er Jahren eingeführte Olfaktometer erlaubt eine solche kontrollierte Duftpräsentation. Das Gerät ermöglicht die Abgabe von Duftstoffen in einen konstanten Luftstrom, sodass Testpersonen den Wechsel zwischen duftstoffangereicherter und geruchsfreier Luft nicht wahrnehmen (Kobal, 1981). Der intranasale Luftstrom wird mit einer Flussrate von 6 bis 8 l/min konstant gehalten. Weiterhin wird der Luftstrom befeuchtet (80 Prozent relative Luftfeuchte) und auf Körpertemperatur (36 °C) angewärmt. Nach einer kurzen Gewöhnungszeit nehmen die Testpersonen diesen nicht mehr wahr. Zwei Luftströme sind zum Ausgang des Geräts gerichtet: einer führt geruchsfreie Kontrollluft, der andere enthält duftstoffangereicherte Luft. Die Konzentration kann über einen Verdünnungsluftstrom angepasst werden. Für die Funktion des Olfaktometers ist außerdem ein Vakuum-System obligatorisch. Über einen Kreuzstrom werden Duftmoleküle an der Diffusion in andere Schläuche gehindert, wodurch eine Verunreinigung vermieden werden kann.

Während des Interstimulus-Intervalls erhält die Testperson Kontrollluft. Der duftstoffangereicherte Luftstrom wird über ein Vakuum-System abgezogen. Im Gegensatz dazu wird während der Stimulation der Luftstrom mit Duft kurz zum Ausgang des Geräts gerichtet und die Kontrollluft über das Vakuum-System abgezogen. Dabei ist ein Wechsel innerhalb von weniger als 20 ms möglich. Die Flussgeschwindigkeiten werden über Massenstromregler bestimmt. Klappen ermöglichen den Wechsel zwischen der Abgabe von geruchsfreier Kontrollluft im Interstimulus-Intervall und mit Duftstoff angereicherter Luft bei Stimulusabgabe (Rombaux et al., 2006). Die Steuerung des Olfaktometers erfolgt über einen Computer, der mit Software ausgestattet ist, die die Bedienung erleichtert und eine präzise Kontrolle ermöglicht (Delank, 1998).

3 Elektroenzephalografie (EEG)

Die Elektroenzephalographie dient der Erfassung der Aktivität kortikaler Neurone. Es erfasst Schwankungen des Kopfpotenzials, die durch das Zusammenwirken exzitatorischer und inhibitorischer synaptischer Potenziale bedingt sind. Zur Ableitung der Potenzialschwankungen werden die Elektroden gemäß der international standardisierten 10/20-Klassifikation auf der Kopfoberfläche angebracht. Dabei erfolgt die Messung entweder bipolar, im Vergleich zu einer benachbarten Ableitstelle, oder monopolar in Bezug auf eine Referenzelektrode, die meist am Ohrläppchen befestigt wird. Typischerweise bewegen sich die Amplituden der Potenzialdifferenzen im Bereich von 10 – 100 µV. Nach Aufnahme der Signale erfolgt eine Verstärkung und anschließend die grafische Darstellung (Mattle & Fischer, 2021).

3.1 Chemosensorisch/Trigeminal-ereigniskorrelierte Potenziale (tERP)

Die Messung elektrophysiologischer Potenziale beruht weniger auf Rückmeldung und Mitarbeit der Testpersonen und bietet so die Möglichkeit einer objektiveren Messung der trigeminalen Wahrnehmung. Allerdings ist auch hier eine Interferenz mit dem olfaktorischen System nicht vermeidbar (Frasnelli & Manescu, 2017).

Trigeminale Stimuli rufen chemosensorisch-ereigniskorrelierte Potenziale hervor, die sogenannten trigeminal-ereigniskorrelierten Potenziale (tERP) (Welge-Lüssen, 1999). Sie stellen ein direktes Korrelat der zerebralen Aktivierung dar (Hummel & Frasnelli, 2019). Die tERP können mittels Elektroden von der Kopfhaut an denen der 10/20-Klassifikation entsprechenden Positionen abgeleitet werden (Kobal, 1981). Bei der Messung handelt es sich um eine EEG-basierte Messmethode (Kobal, 1981). EEG-Signale zeigen zunächst ein schlechtes Signal-Rausch-Verhältnis. Um dieses zu verbessern, ist es notwendig, die Antwortsignale mehrerer Messungen oder Stimulationen zu mitteln.

Weniger als 20 gemittelte Stimulationen genügen in der Regel, um zuverlässige Daten für die ereigniskorrelierten Potenziale zu erhalten (Covington et al., 1996). Hummel und Kobal konnten zeigen, dass bei wiederholter Reizpräsentation mit verschiedenen innerhalb der Reizserie konstanten ISI (10, 20, 30, 40, 60, und 90 s) kürzere ISI mit einer Abnahme der Amplituden der chemosensorischen ERP-Signale einhergehen. Die deutlichste Abnahme zeigte sich bei einem ISI von 10 s. Liegt das ISI unter 20 Sekunden, erschwert zudem die geringere Größe der ERP-Amplituden eine zuverlässige Auswertung. Die Amplitudenreduktion ist möglicherweise auf Habituationseffekte und die Vorhersagbarkeit der Reize bei konstantem ISI zurückzuführen (Hummel & Kobal, 1999). Um einer Habituation entgegenzuwirken, sind jedoch sowohl eine hohe Anzahl an Reizwiederholungen als auch lange ISI erforderlich, was wiederum zu ausgedehnten Versuchszeiten führt. Hierbei ist es notwendig, die Vigilanz der Testpersonen über die Versuchszeit zu stabilisieren.

Dazu können einfache Verfolgungsaufgaben auf einem Computer-Bildschirm verwendet werden (Hummel & Kobal). Für die zuverlässige Aufzeichnung von ERP-Signalen ist zudem eine Reizpräsentation mittels Olfaktometer erforderlich. Dieses gewährleistet einen steilen Anstieg der Duftkonzentration, eine exakt definierte Stimulus-Dauer und die Vermeidung von thermischer oder mechanischer Stimulation während der Reizpräsentation (Kobal, 1981).
Zur Auswertung des ERP-Signals werden Amplitude und Latenz der wesentlichen Gipfel vermessen: dazu gehören der hauptsächlich negative Gipfel N1 mit einer Latenz von 150 bis 650 ms und der hauptsächlich positive Gipfel P2 mit einer Latenz von 250 bis 750 ms (Hummel et al., 2000; Hummel & Kobal, 1990). Die größten Amplituden können zentral und parietal abgeleitet werden. (Frasnelli & Manescu, 2017) Die Amplituden sind abhängig von Stimulus-Konzentration und wahrgenommener Intensität, wobei die Korrelationskoeffizienten für die Relation von ERP und Intensitätsbewertung durch den Probanden verglichen mit denen der Relation von ERP und Stimulus-Konzentration geringfügig höher sind (Hummel & Kobal, 1990; Müller G., 1988). Chen et al. konnten zeigen, dass die frühen Komponenten der ERP-Signale mit der Stimulus-Intensität korrelieren. Diese scheinen die Intensität der externen Stimulation wiederzugeben. Die späten Komponenten stehen hingegen in Zusammenhang mit der subjektiven Bewertung der Schmerzintensität und scheinen daher eher die subjektive Bedeutung und Verarbeitung des Stimulus widerzuspiegeln (Chen et al., 1979). Die ERP-Messung zeichnet sich insbesondere durch eine hohe zeitliche Auflösung, im Bereich von Millisekunden, bei schlechter räumlicher Auflösung aus (Frasnelli & Manescu, 2017).

3.2 Negatives Mukosapotential (NMP)

Es wird angenommen, dass das NMP die Summation der Rezeptorpotentiale der von trigeminalen Nervenendigungen exprimierten Chemorezeptoren darstellt (Hummel et al., 1996; Thürauf et al., 1991). Zudem dient das NMP zur Untersuchung der peripheren trigeminalen Aktivität (Thürauf et al., 1993). Die Signalableitung erfolgt mittels einer Elektrode von der nasalen respiratorischen Schleimhaut (Hummel & Frasnelli, 2019).
Wie bei den ERP erfolgt auch hier für die Auswertung die Mittelung von Antwortsignalen, wobei aufgrund des besseren Signal-Rausch-Verhältnisses weniger Aufnahmen notwendig sind. Dabei kann eine einzige Reizantwort für die Interpretation ausreichend sein. Analog zur ERP-Messung wird ein Olfaktometer zur Stimulus-Präsentation verwendet, um einerseits einen steilen Konzentrationsanstieg und eine exakte Reizdauer sicherzustellen und andererseits eine thermische oder mechanische Co-Stimulation zu vermeiden (Frasnelli & Manescu, 2017). Thürauf et al. konnten zeigen, dass nach Stimulation mit einem rein olfaktorischen Duftstoff wie H_2S keine NMP-Signale feststellbar sind und dass die Ableitung nur auf der stimulierten Nasenseite möglich ist (Thürauf et al., 1993). Die gleiche Arbeitsgruppe konnte in einer weiteren Studie zeigen, dass die CO_2-Erkennungsschwelle unterhalb der NMP-Schwelle liegt.

Letztere wiederum liegt unterhalb der Schmerzschwelle (Thürauf et al., 2002). Das stärkste NMP-Signal lässt sich am Nasenseptum ableiten, während in der Riechspalte das schwächste Signal zu verzeichnen ist (Scheibe et al., 2006). NMP-Amplituden sind abhängig von der Stimulus-Konzentration, der Stimulus-Dauer und der wahrgenommenen Stimulus-Intensität (Hummel et al., 1998; Thürauf et al., 1993; Thürauf et al., 2002). Bei wiederholter Reizpräsentation mit kurzem ISI nimmt die NMP-Amplitude ab und die Latenzzeit bis zum Potenzialbeginn verlängert sich. (Hummel et al., 1996).

4 Ziele und Hypothesen dieser Dissertation

4.1 Ziele

1. Experimentelle Untersuchung des Antwortverhaltens verschiedener intranasaler trigeminaler Rezeptoren.

2. Vergleich der Reizantworten von trigeminalen Reizstoffen hinsichtlich ihrer psychophysischen und elektrophysiologischen Darstellung bezogen auf die unterschiedliche Rezeptoraktivierung und zusätzlich mit dem rein olfaktorischen Duftstoff Phenylethylalkohol (PEA).

3. Untersuchung der Korrelationen zwischen psychophysischen und peripher sowie zentral abgeleiteten elektrophysiologischen Reizantworten.

4. Untersuchung der Duftwahrnehmung im Hinblick auf Wahrnehmungsverlauf und Duftqualität.

4.2 Hypothesen

1. Durch die Reizung mit trigeminalen Reizstoffen, die unterschiedliche Rezeptoren aktivieren, werden verschiedene Empfindungen und Reizantworten ausgelöst. Beispielsweise wird eine subjektive Kälteempfindung nach Stimulation mit dem Duftstoff Isopulegol, der den „Kälterezeptor“ TRPM8 aktiviert, erwartet.

2. Trigeminale Duftstoffe rufen stärkere Reaktionen hervor, mit höheren ERP- und/oder NMP-Amplituden sowie einer intensiveren und schmerzhafteren subjektiven Wahrnehmung, im Vergleich zu PEA.

3. Die Reizung mit PEA löst kein negatives Mukosapotential (NMP) aus.

4. Die wahrgenommene Intensität eines Duftes wird hauptsächlich von der Stimuluskonzentration bestimmt.

5. Trigeminale Stimuli wie CO_2 zeigen im Vergleich zu PEA kürzere Latenzzeiten.

5 Methodenteil

5.1 Studienablauf

Die experimentelle Studie gliedert sich in zwei Studienteile, eine Vor- und Hauptuntersuchung. Ziel des ersten Termins war es, im Rahmen einer Vorstudie herauszufinden, wie sich bei gleicher Duftkonzentration die wahrgenommene Intensität unterscheidet. Beim zweiten Termin, der eigentlichen Hauptstudie, erfolgte die Ableitung der peripheren und zentralen Potenziale bei angeglichener Duftintensität. Es war nicht zwingend nötig, am ersten und zweiten Teil der Studie teilzunehmen.

Beim ersten Termin erfolgte die Aufklärung der Probanden. Nach schriftlicher Einwilligungserklärung wurde eine kurze Anamnese erhoben. Der vollständige Anamnesebogen findet sich im Anhang unter dem Unterpunkt 14.3.1. Im Anschluss daran wurde ein Identifikationstest mit den „Sniffin' Sticks" durchgeführt. Bei entsprechenden Punktwerten (> 11) (Oleszkiewicz et al., 2019) und dadurch anzunehmender Normosmie konnte der Proband in die Studie eingeschlossen werden. Es wurden anschließend verschiedene Düfte über ein Olfaktometer präsentiert. Nach jedem abgegebenen Reiz wurden die Intensität und die hedonische Bewertung mithilfe einer visuellen Analogskala über einen Computerbildschirm abgefragt. Der erste Vorortttermin dauerte 1 bis 1,5 Stunden. Im zweiten Vorortttermin wurde die trigeminale Sensibilität untersucht. Dazu wurde eine Lateralisierung durchgeführt. Die velopharyngeale Verschlussatmung wurde eingeübt und im Anschluss erfolgte die elektrophysiologische Testung mit der Ableitung von ereigniskorrelierten Potenzialen von der Kopfhaut und peripheren Reizantworten von der Nasenschleimhaut. Die Dauer des zweiten Termins betrug 1,5 bis 2 Stunden. Wenn die Teilnehmenden nicht am ersten Teil der Studie teilgenommen hatten, erfolgten vor der Lateralisierung die Aufklärung, die Einholung der schriftlichen Einwilligung und der Identifikationstest. Die Probanden erhielten eine finanzielle Aufwandsentschädigung für ihre Teilnahme. Finanziell wurde die Recherche unterstützt durch die Firma Takasago, Paris, Frankreich. **Abbildung 4** zeigt eine schematische Übersicht des Studienablaufs.

Weiterhin vervollständigten zehn Teilnehmer eine dynamische Intensitätsbewertung. Zusätzlich zur Hauptstudie wurde die Wahrnehmung der trigeminalen und olfaktorischen Stimuli sowie deren Beschreibung von zwölf Teilnehmern untersucht.

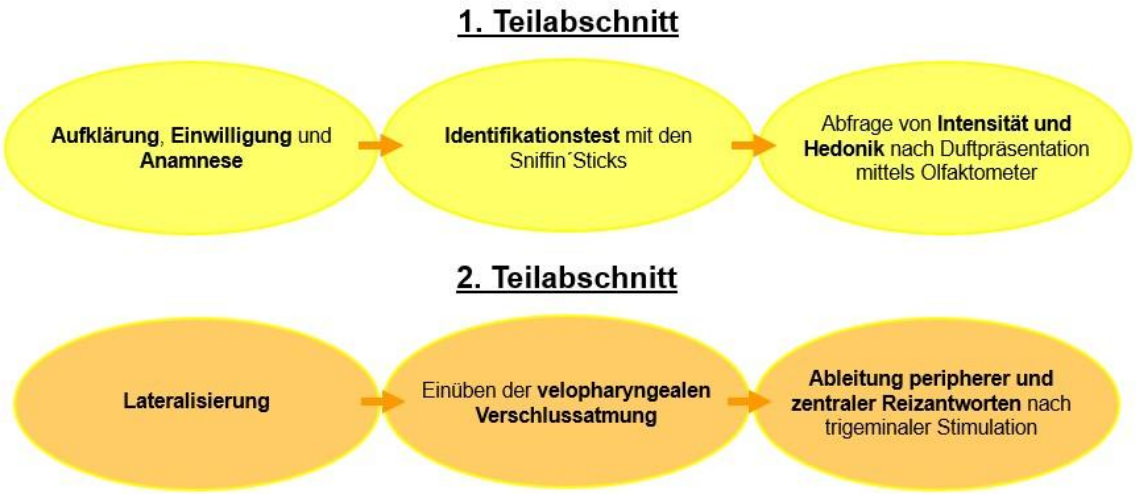

Abbildung 4: Eine Übersicht über den Ablauf der Studie wird abgebildet. Oben dargestellt ist der Ablauf des ersten Teilabschnitts mit Aufklärung, Einwilligung und Anamnese sowie der Testung des Riechvermögens mit Identifikationstest und anschließender Abfrage von Intensität und Hedonik nach Duftpräsentation mittels Olfaktometer. Unten dargestellt ist der zweite Teilabschnitt mit Lateralisierungs-Test zur Überprüfung der trigeminalen Funktion, Einübung der velopharyngealen Verschlussatmung und Ableitung der peripheren und zentralen Reizantworten nach trigeminaler Stimulation.

5.2 Ethik, Akquise und Teilnahmekriterien

Nach Bewilligung der Studie durch die Ethikkommission wurde diese von August 2021 bis Dezember 2023 im interdisziplinären Riech- und Schmeckzentrum des Universitätsklinikums Dresden durchgeführt (Nummer des Ethikantrags: EK203052017). Die Durchführung der Studie erfolgte gemäß den Vorgaben der Deklaration von Helsinki von 1964. Vor Beginn der Studie wurden die Probanden über den Studienablauf, -inhalte und -ziele entsprechend aufgeklärt. Sie wurden über die geltenden Datenschutzbestimmungen und die Anonymisierung ihrer Daten informiert. Die Teilnehmenden bestätigten die freiwillige Teilnahme durch Unterzeichnung der Einverständniserklärung. Sie wurden aufgeklärt, dass Sie die Einwilligung zurücknehmen und ihre Teilnahme an der Studie jederzeit beenden können. Die Rekrutierung der Probanden erfolgte über persönliche Kontakte und Aushänge von Flyern. Die Versuche wurden ausschließlich an gesunden Kontrollpersonen durchgeführt. Voraussetzungen für die Teilnahme waren ein Mindestalter von 18 Jahren, ein guter Allgemeinzustand und ein normales Riechvermögen. Im Rahmen der Anamnese wurde das Vorhandensein verschiedener Einflussfaktoren, die das Riechvermögen oder die trigeminale Funktion einschränken könnten, abgefragt.

Nicht eingeschlossen wurden Personen mit wesentlichen gesundheitlichen Beeinträchtigungen, die mit Störungen der olfaktorischen Funktion einhergehen könnten, akuter oder ausgeprägter chronischer Entzündung der Nasennebenhöhlen, relevanten Vor- und Begleiterkrankungen im HNO-Bereich und starke Raucher. Eine stichpunktartige Zusammenfassung der Ein- und Ausschlusskriterien ist **Tabelle 1** zu entnehmen.

Einschlusskriterien	**Ausschlusskriterien**
▪ Alter: mindestens 18 Jahre ▪ freiwillige Teilnahme ▪ guter Allgemeinzustand ▪ normales Riechvermögen	▪ Schwangerschaft und Stillzeit ▪ Starker Raucher ▪ wesentliche, gesundheitliche Beeinträchtigungen, die mit Störungen der olfaktorischen Funktion einhergehen können ▪ akute oder ausgeprägte chronische Entzündungen der Nase und Nasennebenhöhlen ▪ relevante Vor- bzw. Begleiterkrankungen im HNO-Bereich

Tabelle 1: Stichpunktartige Zusammenfassung der Ein- und Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie

5.3 Psychophysische Riechtestung – „Sniffin' Sticks“

Zur Einordnung des orthonasalen Riechvermögens erfolgte eine Riechtestung mittels „Sniffin' Sticks“ (Burghart Messtechnik GmbH, Holm). Dabei handelt es sich um riechstoffbeladene Filzstifte. Die standardisierte psychophysische Testung unterteilt sich in eine Schwellenbestimmungs- sowie eine Diskriminations- und Identifikationstestung (Hummel et al., 1997). Die Teilergebnisse der einzelnen Tests werden summiert und das Gesamtergebnis erlaubt eine Beurteilung der Riechleistung. Zur orientierenden Beurteilung des Riechvermögens wurde bei den Probanden ein Identifikationstest mittels „Sniffin' Sticks“ siehe **Abbildung 5** durchgeführt. Bei diesem werden 16 verschiedene Gerüche in überschwelliger Konzentration präsentiert. Der Proband erhält außerdem zu jedem Stift eine Tafel mit vier Abbildungen und dazugehörigen Beschreibungen (siehe Abbildung 5), aus denen er die zum Duft passende Abbildung auswählen soll. Bei korrekter Auswahl erfolgt die Vergabe eines Punktes. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt 16. Ab einem Wert von 12 wird von einer Normosmie ausgegangen (Oleszkiewicz et al., 2019). Antwortmöglichkeiten und Musterlösung sind **Tabelle 2** zu entnehmen.

Abbildung 5: Links in der Abbildung zu sehen ist der Identifikationstest mit den 16 Riechstiften „Sniffin Sticks“ und rechts die Antworttafeln mit je 4 Auswahloptionen pro Duft.

Ananas	Brombeere	Erdbeere	*Orange*
Rauch	Klebstoff	*Schuhleder*	Gras
Honig	*Zimt*	Schokolade	Vanille
Pfefferminz	Schnittlauch	Fichte	Zwiebel
Banane	Kokos	Walnuss	Kirsche
Pfirsich	*Zitrone*	Apfel	Grapefruit
Kaugummi	Gummibärchen	*Lakritz*	Kekse
Senf	Gummi	Menthol	*Terpentin*
Zwiebel	Sauerkraut	Möhren	*Knoblauch*
Zigarette	Wein	*Kaffee*	Kerzenrauch
Melone	*Apfel*	Orange	Pfirsich
Gewürznelke	Pfeffer	Zimt	Senf
Ananas	Pflaume	Pfirsich	Birne
Kamille	*Rose*	Himbeere	Kirsche
Honig	Rum	*Anis*	Fichte
Brot	Schinken	Käse	*Fisch*

Tabelle 2: Antwortmöglichkeiten und die Musterlösung des Identifikationstests mit der korrekten Auswahl in Grün und kursiv

5.4 Bewertung von Intensität und Angenehmheit nach Duftpräsentation mit portablem Olfaktometer

Im ersten Teil der Studie wurde zur Geruchspräsentation ein 2013 von Sezille et al. erstmalig vorgestelltes tragbares Olfaktometer, welches für den Gebrauch in fMRT-Experimenten geeignet ist, verwendet. Anders als das von Sezille et al. beschriebene, verfügt das in der Studie verwendete Olfaktometer (Arbeitsbereich Riechen und Schmecken, Klinik und Poliklinik für HNO-Heilkunde, Technischen Universität Dresden, Dresden) anstelle von fünfzehn nur über zehn Ausgänge für die Präsentation von Düften. Im Anschluss an die Duftpräsentation erfolgte die Abfrage der wahrgenommenen Intensität und der hedonischen Bewertung mittels visueller Analogskala „VAS Software V2.3 © 2014“ (Große F., Dresden) über einen Computerbildschirm. Zwischen den Fragen wurde eine Verfolgungsaufgabe „VAS Software V2.3 © 2014“ (Große F., Dresden) präsentiert, um die Vigilanz der Probanden aufrechtzuerhalten. Über Kopfhörer wurde während der Versuchszeit “White Noise“ mit einer Lautstärke von etwa 50 dB, um Klickgeräusche vom Olfaktometer zu überdecken, abgespielt (Kobal, 1981). Das portable Olfaktometer ermöglicht die Kontrolle der Präsentation des mit Duftstoff versetzten Luftstroms hinsichtlich Flussgeschwindigkeit, Intensität und zeitlicher Aktivierung. Der Testperson wird ein konstanter Luftstrom präsentiert, um eine mechanische Stimulation der Nase zu vermeiden. Während des Interstimulus-Intervalls wird geruchsfreie Luft dargeboten. Es erfolgt ein zeitlich-präzise regulierter Wechsel zur Präsentation der mit Duftstoff angereicherten Luft bei Reizabgabe (Sezille et al., 2013). **Abbildung 6** zeigt eine schematische Darstellung des Funktionsprinzips des Olfaktometers und **Abbildung 7** eine Aufnahme des in der Studie verwendeten Olfaktometers.

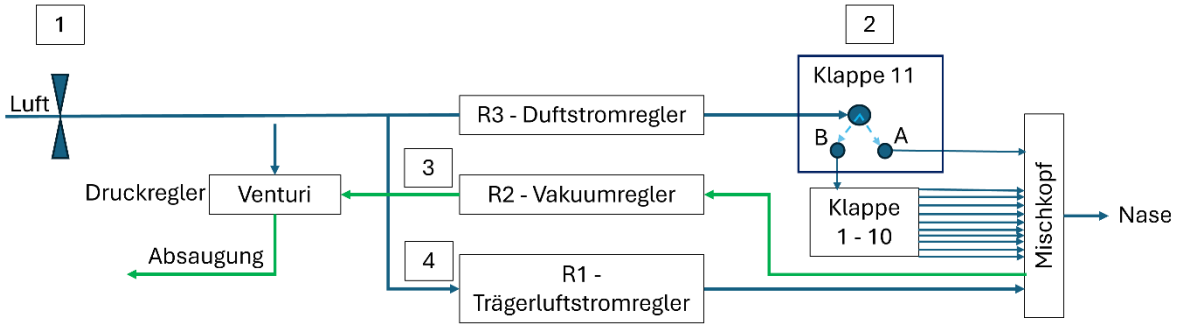

Abbildung 6: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips des portablen Olfaktometers (1…Die Luft wird über das laboreigene Verteilungssystem eingespeist und durch einen Aktivkohlefilter von möglichen Kontaminationen gereinigt.; 2…Abhängig von der Ventilposition handelt es sich um den Kompensations- oder Duftluftstrom. Ein Wechsel zwischen der Präsentation von duftfreier und mit Duft angereicherter Luft ist über einen Positionswechsel des Ventils von A nach B möglich.; 3…Der Aspirationsluftstrom wird eingeschaltet während des Interstimulusintervalls und dient der Reinigung des Systems.; 4…Der Trägerluftstrom wird, während der Reizabgabe um den Wert des Aspirationsluftstroms verringert, so ist die Präsentation eines konstanten Luftstroms möglich. Dieser vermischt sich im Mischkopf mit Kompensations- oder Duftluftstrom und wird anschließend zur Nase des Probanden weitergeleitet.)

Der vom Mischkopf ausgehende Luftstrom wurde den Probanden über eine angeschlossene Sauerstoffmaske (ASID BONZ GmbH, Herrenberg) präsentiert. Die Düfte konnten in vorangegangenen Testläufen über die Maske wesentlich besser wahrgenommen werden als über die Sauerstoffbrille (ASID BONZ GmbH, Herrenberg). Deshalb wurde bei den Messungen die Maske anstelle der von Sezille et al. vorgeschlagenen Nasenbrille verwendet.
Außerdem ist es möglich, die Atmung des Probanden über einen Respirationssensor aufzuzeichnen. Die Stimulus-Abgabe kann so abhängig vom individuellen Atemzyklus erfolgen. Dazu trug der Proband zusätzlich zur Sauerstoffmaske eine Sauerstoffnasenbrille, welche mit dem Respirationssensor verbunden ist. Vor dem Testdurchlauf wurde eine Kalibrierung durchgeführt. Durch diese kann eine auf die Atmung des Probanden angepasste Aktivierungsschwelle für die Reizabgabe ermittelt werden. Um sicherzustellen, dass der Duft unmittelbar zu Beginn der Inspiration wahrgenommen wird, erfolgt die Geruchspräsentation mit dem Beginn der Exspirationsphase (Sezille et al., 2013). Zur Durchführung des Tests wurde das “Event-related mode protocol“ verwendet, mit welchem die Düfte in regelmäßigen Abständen angepasst an die Atmung des Probanden präsentiert werden. Eine Antwortaufzeichnung erfolgte nicht über das zum Olfaktometer gehörige Rückmeldungsgerät. Die Abfrage von Intensität und hedonischer Bewertung erfolgte nach jedem abgegebenen Reiz durch eine visuelle Analogskala, die über einen Computerbildschirm präsentiert wurde. Zur Steuerung des Olfaktometers wurde die Software ProgOlfacto verwendet. Über diese können Flussgeschwindigkeiten und Stimulationsdauern festgelegt werden. Die verwendeten Duftstoffe, die jeweils stimulierten TRP-Rezeptoren, die Konzentrationen sowie Flussgeschwindigkeiten sind der **Tabelle 3** im Anhang unter dem Unterpunkt 14.1 zu entnehmen. Es erfolgte die Präsentation von je drei aufeinanderfolgenden Reizen mit einer Reizdauer von 5 s pro Klasse in vier unterschiedlichen Sequenzen. Die Dauer des Interstimulus-Intervalls betrug 30 s. Der Hälfte der Probanden wurden zunächst die Duftstoffe in höherer Konzentration und anschließend in niedrigerer Konzentration präsentiert. Danach erfolgte ein Wechsel. Es ergab sich eine Gesamtversuchszeit von 31 Minuten und 30 s.

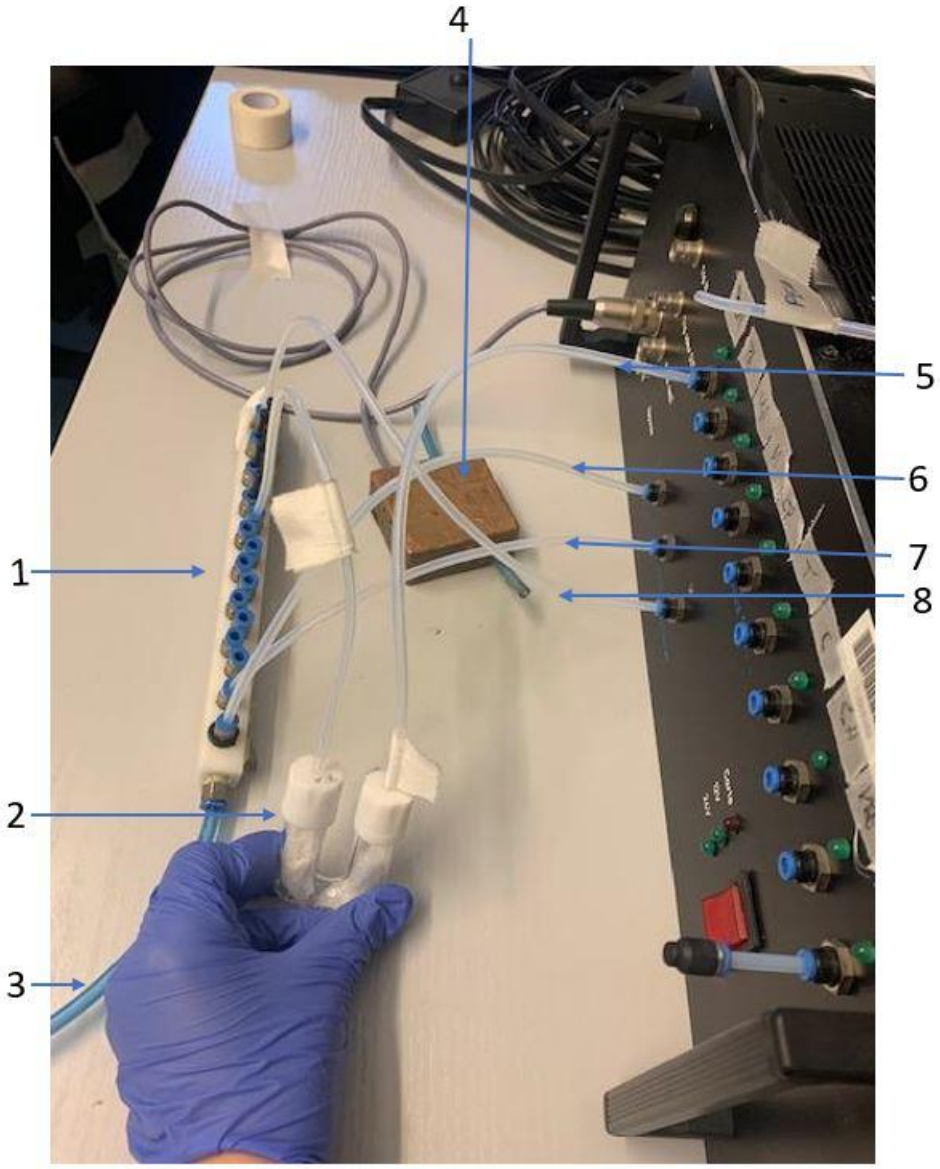

Abbildung 7: Olfaktometer mit angeschlossenem Mischkopf und Atmungssensor (1…Mischkopf; 2…mit Duftstoff beladenes U-Röhrchen, in jede Seite wurde ein mit 1 ml Duftlösung angereicherter Wattestreifen eingelegt; 3…Ausgang zum Probanden; 4…Atmungssensor; 5…Luftstrom für Dufteinheit; 6…Trägerluftstrom; 7…Vakuum; 8…Kompensationsluftstrom)

5.5 Lateralisierungstest

Die Lateralisierung wurde durchgeführt unter Verwendung einer Quetschvorrichtung (Arbeitsbereich Riechen und Schmecken, Klinik und Poliklinik für HNO-Heilkunde, Technischen Universität Dresden, Dresden). **Abbildung 8** stellt die verwendete Quetschvorrichtung dar. Das Zusammendrücken dieser ermöglicht einen stoßartigen simultanen Austritt von Luft aus zwei Kunststoffflaschen in die Nase.

Eine Flasche wurde mit 6 ml Lösungsmittel Propylenglykol (CAS 57-55-6, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen) befüllt, die andere mit 6 ml Eukalyptol (CAS 470-82-6, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen). Auf die spitz zulaufenden Auslässe der Flaschen wurde jeweils Silikonschlauch aufgesetzt, welchen der Proband selbst in beide Nasenlöcher einführte. Nach der Reizdarbietung wurde der Proband gebeten, das Nasenloch anzugeben, auf welchem er eine trigeminale Empfindung, die durch Eukalyptol typischerweise ausgelöste Kälteempfindung, wahrgenommen hatte. Anschließend wurde randomisiert die Position der Flaschen gewechselt. Die Lateralisierung wurde insgesamt 20-mal wiederholt (9-mal links, 11-mal rechts). Während des Versuchs wurde der Proband gebeten, die Augen zu schließen, um den Wechsel der Flaschen nicht verfolgen zu können (Mai et al., 2024).

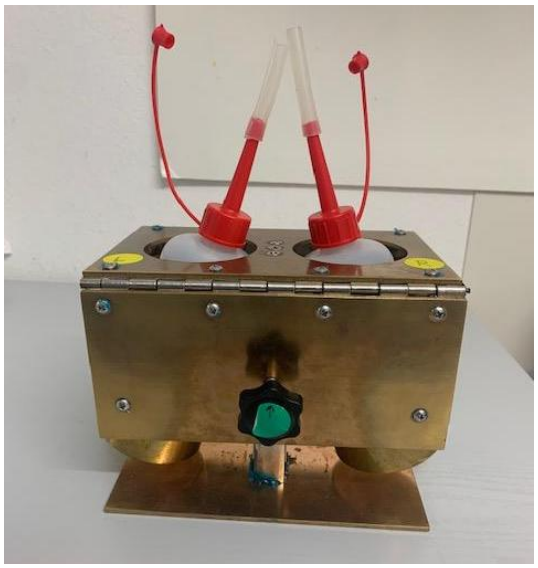

Abbildung 8: „Quetschvorrichtung“ für den Lateralisierungstest

5.6 Vorbereitung der elektrophysiologischen Untersuchung

Vor der eigentlichen elektrophysiologischen Untersuchung wurde die velopharyngeale Verschlussatmung mit den Probanden eingeübt. Es erfolgte die Vorbereitung und frische Isolation der Nasenelektrode, die Anbringung der Kopfelektroden, die endoskopische Untersuchung der Nase und Einbringung der Nasenelektrode sowie die Vorbereitung des Versuchssettings mit White Noise und Verfolgungsaufgabe am Computerbildschirm.

5.6.1 Velopharyngeale Verschlussatmung

Die Versuchspersonen wurden angewiesen, während der Messung die velopharyngeale Verschlussatmung, die zuvor eingeübt wurde, anzuwenden. Hierbei erfolgt ein Verschluss des Nasopharynx durch den weichen Gaumen.

Die Atmung findet damit ausschließlich über den Mund statt. Dies dient zum einen der Vermeidung mechanischer Atemluftartefakte an der Nasenelektrode und zum anderen wird so verhindert, dass die Umgebungsluft durch die Nase eingeatmet wird (Kobal, 1981). Zur Überprüfung, ob die velopharyngeale Atmung korrekt umgesetzt wird, wurden ein Anemometer (Fa. Heineke, Seewiesen, Deutschland) und ein Oszilloskop „Analog Oscilloscope 630-2“ (Conrad Electronic SE, Hirschau, Deutschland) verwendet. Das Anemometer wird direkt vor einem Nasenloch positioniert und registriert Temperaturänderungen, die Rückschlüsse auf die Nasenatmung ermöglichen. Über das Oszilloskop wird der Luftstrom der Nase durch einen entsprechenden Kurvenausschlag visualisiert.

5.6.2 Nasenelektrode

Bei der zur Ableitung der NMPs verwendeten Elektrode handelt es sich um eine modifizierte Kopfelektrode. Der vorherige Elektrodenkopf wurde entfernt und durch einen über Lötzinn mit der Elektrode verbundenen ca. 8 cm langen Silberdraht mit einem Durchmesser von 0,3 mm ersetzt. Die Leitfähigkeit wurde mit einem Spannungsmessgerät „PeakTech® P 1070“ (PeakTech Prüf- und Messtechnik GmbH, Ahrensburg) zur Eignung auf Verwendbarkeit überprüft. Je nach weiterhin vorhandener Leitfähigkeit konnte die Elektrode mehrfach verwendet werden. Zur weiteren Vorbereitung wurde die Oberfläche des Silberdrahts zunächst mit Schleifpapier angeraut und anschließend in einer übersättigter Natriumchlorid-Lösung unter Anschluss einer 5-V-Batterie chloriert. Die Chlorierung der Elektrode konnte optisch über eine Schwarzfärbung kontrolliert werden. Um den Silberdraht zu isolieren, wurde eine frisch aufgekochte einprozentige Agar-Agar-Lösung in einen Teflon-Schlauch mit einem 0,4 mm Innendurchmesser und 0,8 mm Außendurchmesser gezogen. Dieser wurde auf den Silberdraht gefädelt und so gekürzt, dass die Isolation (1 – 2) mm über den Metalldraht überstand. Die Verbindung zwischen Elektrode und Schleimhaut erfolgt über eine Agar-Agar-Brücke. Vor jeder Neuanwendung der Elektrode wurden Verunreinigungen und Rückstände mit Schleifpapier entfernt. Es erfolgte eine erneute Chlorierung und frische Isolierung der Elektrode.

5.6.3 Rhinoskopische Untersuchung

Die Untersuchung der Nase erfolgte mithilfe eines Endoskops „Karl Storz 7230BVA, 4 mm 30°, Hopkins II Autoklav Sinuscope“ (KARL STORZ SE & Co. KG, Tuttlingen). Vor der Anwendung wurde eine Lichtquelle „Halogen 150 201123 20“ (KARL STORZ SE & Co. KG, Tuttlingen) angeschlossen. Anschließend wurde an die Spitze des Endoskops Antibeschlagmittel „Antifog Agent“ (MoNo chem-pharm Produkte GmbH, Wien, Österreich) aufgetragen. Endoskopisch beurteilt wurde, welche Nasenseite anatomisch besser für die Platzierung der Elektrode geeignet ist.

Des Weiteren erfolgte nach Platzierung der Elektrode eine Kontrolle der korrekten Lage. Zur besseren Anschaulichkeit ist die Position der Elektrode auf der mittleren Nasenmuschel in **Abbildung 9** dargestellt.

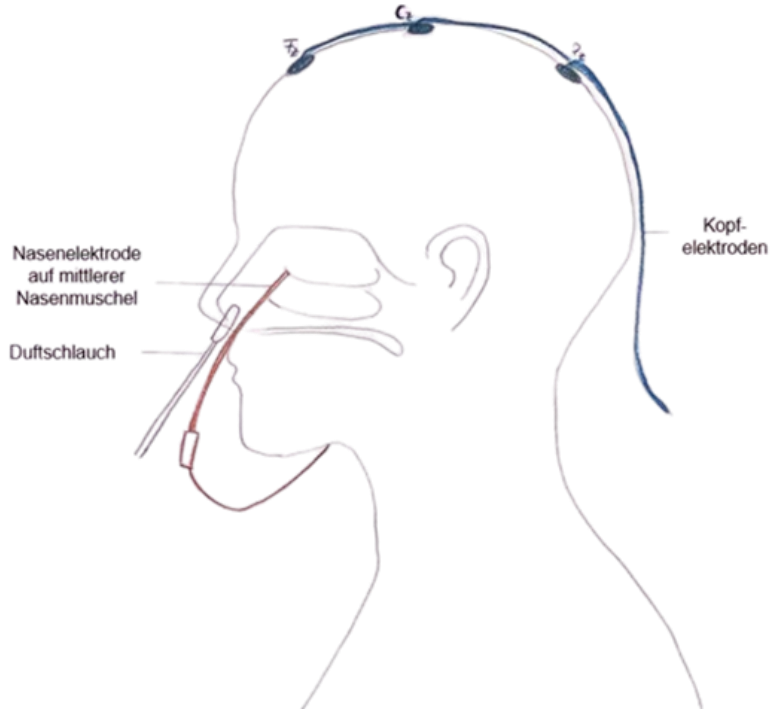

Abbildung 9: Dargestellt ist die Position der endoskopisch platzierten Nasenelektrode auf der mittleren Nasenmuschel. In dasselbe Nasenloch wird außerdem der Schlauch für die Duftapplikation eingeführt. Zu sehen sind außerdem die platzierten Elektroden für die Ableitung der zentralen Potentiale an den Positionen Fz, Cz und Pz.

5.6.4 Vorbereitung der elektrophysiologischen Messung

Die Anbringung der Elektroden erfolgte nach dem international standardisierten 10-20-System. Es wurden insgesamt acht Elektroden angebracht: eine Referenzelektrode an je einem Ohrläppchen, eine Erdungselektrode an je einem Mastoidfortsatz, drei Elektroden an den Positionen Fz, Cz und Pz sowie eine Elektrode an Position Fp2 oder Fp1 oberhalb der Augenbraue zur Detektion von Zwinkern und fazialen Muskelbewegungen im EEG. An den vorgesehenen Positionen für die Elektroden wurde die Haut zunächst mit der Waschpaste „skinPure“ (Nihon Kohden Corporation, Tokyo, Japan) gereinigt, bevor die Elektroden mit dem Elektrodengel „SAC2 Electrode Cream“ (Spes Medica S.p.A., Genua, Italien) fixiert wurden. Zuletzt erfolgte die intranasale Positionierung der Nasenelektrode unter endoskopischer Kontrolle über der mittleren Nasenmuschel.

Die Elektrode wurde für direkten Schleimhautkontakt zur Sicherung ihrer Lage an einem modifizierten Brillengestell (Arbeitsbereich Riechen und Schmecken, Klinik und Poliklinik für HNO-Heilkunde, Technischen Universität Dresden, Dresden) fixiert.

Die Elektroden wurden an einen EEG-Verstärker „8-channel EEG system OL026“ (Burghart Messtechnik GmbH, Holm) angeschlossen. Über die Computersoftware „EEGControl“ (Burghart Messtechnik GmbH, Holm) erfolgte eine Kontrolle der Signale der Nasenelektrode und der Kopfelektroden sowie gegebenenfalls eine Anpassung von Position oder Hautkontakt. Der Teflon®-Schlauch (ca. 8 cm lang, 4 mm Innendurchmesser) zur Duftpräsentation wurde in das Nasenloch eingeführt, in dem die Elektrode positioniert war. Um eine weitgehend akustisch reizneutrale Umgebung zu schaffen und so eine zentrale Beeinflussung des EEGs zu vermeiden, wurde den Probanden „White Noise“ mit einer Lautstärke von ungefähr 50 dB über Kopfhörer präsentiert. Somit konnten auch die vom Olfaktometer abgegebene Klickgeräusche bei Stimulus-Abgabe und daraus die resultierende induzierte Erwartungshaltung beim Probanden für den nächsten Reiz vermieden werden. Zur Aufrechterhaltung der Vigilanz während der Versuchszeit wurde über den Computerbildschirm eine einfache Verfolgungsaufgabe „VAS Software V2.3 © 2014“ abgespielt. Die Probanden sollten hier den als weißen Kreis dargestellten Mauscursor in einem sich bewegenden Viereck halten. Die Probanden wurden ausdrücklich angewiesen, während der Versuchszeit möglichst wenig zu zwinkern. Die **Abbildung 10 A, Abbildung 10 B und Abbildung 10 C** zeigen Fotoaufnahmen des Olfaktometer, des EEG-Verstärkers und eines Probanden während des Versuches.

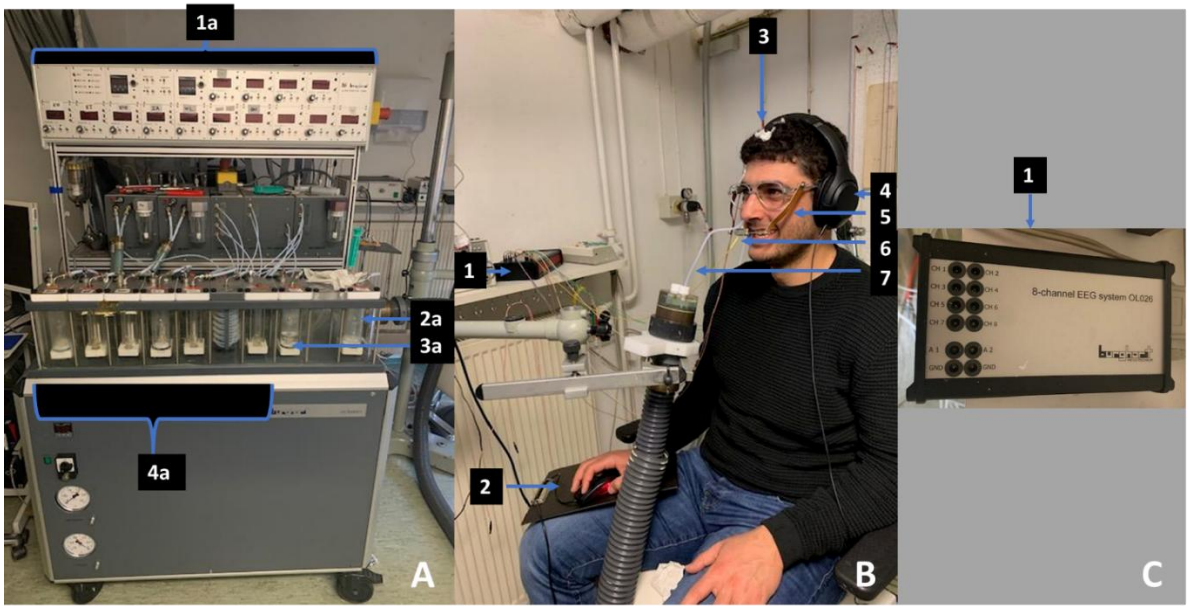

Abbildung 10: Aufnahme des in der Studie verwendeten Olfaktometers (A), Aufnahme eines Probanden während der Untersuchung (B), Aufnahme des verwendeten EEG-Verstärkers (C) (1a…Steuerungseinheiten für die Module; 2a…Modul für den Kontrollluftstrom; 3a…Modul für den Verdünnungsluftstrom; 4a… Module für Duftluftströme; 1…Verstärker; 2…Maus für die Verfolgungsaufgabe auf dem Computerbildschirm; 3…Kopfelektrode; 4…Kopfhörer mit White Noise; 5…Brille zur Fixation der Nasenelektrode; 6…Nasenelektrode; 7…“Duftschlauch“).

5.6.5 Ablauf der elektrophysiologischen Messung

Zur Präsentation der Düfte während der Untersuchung wird das Olfaktometer OM6b (Burghart Messtechnik GmbH, Holm) verwendet. Dieses Gerät ermöglicht die Duftpräsentation in einem kontinuierlichen Luftstrom mit einer Luftfeuchtigkeit von über 80 % und einer Temperatur von ungefähr 37 °Celsius und arbeitet mit der Steuerungssoftware MolfControl (Burghart Messtechnik GmbH, Holm). Die Duftstoffe, ihre Konzentrationen sowie die jeweils aktivierten TRP-Rezeptoren sind in **Tabelle 4** aufgeführt, die im Anhang unter Abschnitt 14.2 zu finden ist. Für die Präsentation der Düfte werden vier verschiedene pseudorandomisierte Sequenzen angewendet. Die Reize werden in 3er-Blöcken in einer für den Probanden nicht vorhersehbaren Reihenfolge präsentiert. Insgesamt werden 102 Reize abgegeben. Folgende Parameter werden für den Ablauf der Sequenz eingestellt: eine Verzögerung von 0 s, eine Stimulus-Dauer von 500 ms sowie ein Interstimulus-Intervall, das für die Reize 1 bis 66 zwischen 27 und 33 s und für die Reize 67 bis 102 zwischen 17 und 23 s variiert. Für die Klassen mit höherer Konzentration werden je 12 Reize pro Klasse abgegeben. Für die Klassen mit niedrigerer Konzentration werden je 6 Reize pro Klasse abgegeben.

Es ergibt sich eine Aufzeichnungsdauer von 2745 s (45 Min. und 45s) für Sequenz 1, 2744 s (45 Min. und 56s) für Sequenz 2, 2722 s (45 Min. und 22s) für Sequenz 3 und 2775 s (46 Min. und 15 s) für Sequenz 4. Die Abtastfrequenz liegt bei 125 Hz. Die Aufzeichnung beginnt jeweils 500 ms vor der Duftpräsentation und dauert 4000 ms an.

5.7 Bewertung von Intensität und Angenehmheit

Zur Bewertung von Hedonik und Intensität wurden zwölf Probanden die einzelnen Düfte in Gläschen präsentiert. Es wurden je 2 ml von einem Duftstoff auf einen Wattebausch gegeben. CO_2 wurde mit einer Reizdauer von 500 ms als Kontrollreiz über das Olfaktometer „OM6b“ (Burghart Messtechnik GmbH, Holm) präsentiert. Nach einer initialen Geruchsprobe wurden die Probanden aufgefordert, die Düfte bezüglich Angenehmheit, Intensität, Wärme, Kälte, Kitzeln, Schmerz sowie verschiedener trigeminaler Deskriptoren zu bewerten. Die Geruchsprobe durfte maximal zweimal wiederholt werden. Für die Hedonik erfolgte die Bewertung mittels numerischer Skala von -5 bis +5. Die Wahrnehmungsqualitäten wurden anhand einer numerischen Skala von 0 bis 10 eingeordnet. Pro Duftstoff wählten die Probanden vier aus einer Liste von insgesamt 14 trigeminalen Deskriptoren (stechend, brennend, scharf, zusammenziehend, pelzig, warm, frisch, kratzend, kitzelnd, salzig, prickelnd, Niesreiz-erregend, sauer) aus (Frasnelli, Albrecht et al., 2011; Laska et al., 1997).

5.8 Dynamische Intensitätsbewertung

Um den zeitlichen Verlauf der Intensitätswahrnehmung zu erfassen, wurden die Probanden instruiert, bei jedem Reiz die subjektiv empfundene Intensität durch das Eindrücken eines Joysticks anzugeben. Die Präsentation der Düfte erfolgte pseudorandomisiert in vier unterschiedlichen Sequenzen über ein Olfaktometer „OM6b“ (Firma Burghart Messtechnik GmbH, Holm).

5.9 Auswertung der Daten und verwendete statistische Verfahren

Die ersten 66 abgegebenen Reize wurden für die NMP- und ERP-Datenerhebung verwendet. Die folgenden Reize bis 102 wurden ausschließlich für die ERP-Datenerhebung verwendet. Bei einem Teil der Probanden erfolgte ausschließlich die Ableitung von NMPs. Dazu wurden die vorher verwendeten Sequenzen bis Reiznummer 66 verwendet. Um eine bessere NMP-Signalaufzeichnung zu erzielen, wurden die Probanden vor dem Reiz und während der Aufzeichnungsdauer nach Reizabgabe angewiesen, anstelle der velopharyngealen Atmung die Luft anzuhalten. Zunächst wurden in der Software EEGControl die Aufnahmen, die durch Blinzeln oder Kopfbewegungen entstandenen Artefakte enthalten, identifiziert und für die weitere Datenanalyse ausgeschlossen.

Die Vorverarbeitung der Daten erfolgte mit der Software Letswave 6 in Matlab. Hier wurden eine Grundlinienkorrektur von -0,5 s bis 0 s und ein Bandpassfilter von 0,2 bis 15 Hz angewendet.

Außerdem wurden die Signale pro Klasse arithmetisch gemittelt. Im Anschluss erfolgte die Messung von Latenzen und Amplituden der verschiedenen Signalkomponenten. Die Signale wurden von 500 ms vor Reizabgabe bis 4000 ms nach Reizabgabe betrachtet. Für die NMPs wurden die Latenzen (in ms) und Amplituden (in µV) für die Komponenten P1, N1 und P2 ausgemessen. Auch für die ERPs erfolgte die Messung von Amplitude (in µV) und Latenz (in ms) der Komponenten P1, N1 und P2 für die Antwortsignale der Elektroden Fz, Cz und Pz (Frasnelli et al., 2007; Holy et al., 2023; Meusel et al., 2010; Scheibe et al., 2006). Es wurden zudem die Spitze-zu-Werte P1N1 und N1P2 für NMP und ERP (Fz, Cz und Pz) berechnet. Sowohl die Sichtung der Signale zu Beginn, um Artefakte auszuschließen, als auch die Bestimmung und Messung der Amplituden und Latenzen der Komponenten P1, N1 und P2 erfolgten durch zwei unabhängige Betrachter (Yiling Mai, Johanna Göthel). Bei Unstimmigkeiten wurden die Signale vom Supervisor der Studie evaluiert und gegebenenfalls von der weiteren Datenanalyse ausgeschlossen. Die statistische Analyse erfolgte mithilfe der Software SPSS 29.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Die deskriptive Statistik wurde zunächst verwendet, um demografische, psychophysische (Spitzenwert, Anstiegssteilheit und Antwortlatenz für die dynamische Intensitätsbewertung) sowie elektrophysiologische Ergebnisse (Amplituden und Latenzen für ERP und NMP) für jeden Stimulus zu beschreiben.

Für die Duftstoffe in niedriger Konzentration wurde die verallgemeinerte Schätzungsgleichung (GEE) verwendet, um die Bewertung der Düfte sowie die psychophysischen und ERP-/NMP-Antworten zwischen den Duftstoffen zu vergleichen. Die Anwendung der GEE erfolgte aufgrund ihrer Fähigkeit, wiederholte Messungen mit kleiner Probengröße und fehlenden Messwerten zu analysieren (de Melo et al., 2022). Mittels der verallgemeinerten linearen gemischten Modelle (GLMM) wurden die Reizantworten der verschiedenen Düfte in hoher Konzentration verglichen, wobei der Duftstoff als intraindividuelle unabhängige Variable und NMP, ERP sowie die dynamische Intensitätsbewertung als abhängige Variablen festgelegt wurden. Um die Unabhängigkeit der ERP- und NMP-Antworten von der Duftintensität zu gewährleisten, wurde die Intensitätsbewertung jedes Duftes als Kovariable beim Vergleich der ERP- und NMP-Antworten zwischen den Düften festgelegt. Für die statistische Analyse der Messergebnisse wurden verschiedene Testverfahren eingesetzt: der F-Test im Rahmen der Generalisierten Linearen Mischmodelle (GLMM), der t-Test für anschließende paarweise Vergleiche sowie der Wald-Test im Kontext der Generalisierten Schätzgleichungen (GEE).
Der F-Test wird im Allgemeinen verwendet, um Varianzen zwischen zwei oder mehr Gruppen zu vergleichen oder in der Varianzanalyse (ANOVA), um zu prüfen, ob es signifikante Unterschiede zwischen mehreren Gruppen gibt in dieser Arbeit wurde der F-Test eingesetzt, um zu überprüfen, ob sich die verwendeten Duftstoffe signifikant hinsichtlich ihrer Wahrnehmung (z. B. Intensität, Wärme, Kälte, Kitzeln, Schmerzhaftigkeit, Intensitätsverlauf) sowie in ihrem Einfluss auf die Amplituden der NMP-Komponenten N1 und P1N1 sowie der ERP-Komponenten P2 und N1P2 an den Elektrodenpositionen Fz, Cz und Pz unterscheiden. Die Voraussetzungen für die Anwendung des F-Tests sind erfüllt, da sowohl mehrere sensorische Dimensionen als auch verschiedene Amplituden in Bezug auf mehrere Duftstoffe betrachtet wurden. Zudem liegen für jede Duftstoffbedingung Wiederholungsmessungen sowie Daten mehrerer Versuchspersonen vor. Für jede Dimension wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse durchgeführt. Die Hypothesen lauten:

- H0 (Nullhypothese): Alle Duftstoffe haben im Mittel die gleiche Wirkung, z. B. die gleiche Intensität.
- H1 (Alternativhypothese): Mindestens ein Duftstoff unterscheidet sich signifikant.

Der F-Test berechnet eine F-Statistik, die das Verhältnis der zwischen-Gruppen-Varianz zur innerhalb-Gruppen-Varianz darstellt. Ein hoher F-Wert deutet auf starke Unterschiede zwischen den Gruppen hin. Die F-Statistik wird mit einer F-Verteilung verglichen, um den entsprechenden p-Wert zu ermitteln. Ein großer F-Wert in Kombination mit einem kleinen p-Wert führt zur Ablehnung der Nullhypothese. Im Anschluss wurde ein t-Test eingesetzt, um zu analysieren, zwischen welchen Gruppen genau signifikante Unterschiede bestehen.

Der t-Test ermittelt, wie stark sich die Mittelwerte zweier Gruppen unter Berücksichtigung ihrer Streuung unterscheiden. Analog zum F-Test wird auch hier der berechnete t-Wert in eine t-Verteilung eingesetzt, um den p-Wert zu bestimmen. Ein kleiner t-Wert bzw. hoher p-Wert spricht gegen einen signifikanten Unterschied, während ein großer t-Wert bzw. niedriger p-Wert auf signifikante Unterschiede hinweist. Der Wald-Test wurde verwendet, um zu prüfen, ob einzelne Regressionskoeffizienten (β) signifikant von null abweichen. Er beurteilt, ob ein bestimmter Parameter in einem Modell signifikant zum Gesamteffekt beiträgt. In dieser Arbeit diente der Wald-Test der Beurteilung, ob der geschätzte Effekt eines Duftstoffs im Verhältnis zum Standardfehler groß genug ist, um nicht zufällig zu sein. Damit lässt sich feststellen, welche Duftstoffe sich signifikant voneinander unterscheiden. Zusammenfassend prüft der F-Test, ob es globale Unterschiede zwischen den Duftstoffen und ihren jeweiligen Dimensionen gibt. Der t-Test konkretisiert anschließend, welche Duftstoffe sich signifikant voneinander unterscheiden. So kann es sein, dass bestimmte Duftstoffe zwar von der Referenz abweichen, aber nicht signifikant, während andere eine signifikante Differenz aufweisen.
Damit ist es möglich, sowohl Hypothesen zu einzelnen Duftstoffen zu überprüfen als auch eine umfassende statistische Aussage über die Gesamtwirkung zu treffen.
Post-hoc-Tests wurden unter Verwendung der Bonferroni-Korrektur angewendet. Außerdem wurde die Korrelation für wiederholte Messungen verwendet, um die Beziehung zwischen psychophysischen Messungen, NMP- und ERP-Antworten zu untersuchen (Bakdash & Marusich, 2017).

5.10 Verwendete Duftstoffe und Gasgemische

Die Duftstoffe wurden anhand früherer Publikationen ausgewählt: Carvacrol für die Aktivierung des TRPV3-Rezeptors (Niu et al., 2022; Vogt-Eisele et al., 2007), Perillaaldehyd für die Aktivierung des TRPA1-Rezeptors (Bassoli et al., 2009; Cattaneo et al., 2017), Isopulegol für die Aktivierung des TRPM8-Rezeptors (Wang, 2021; Xu et al., 2020) und Cyclohexanon für die TRPV1-Aktivierung (Saunders et al., 2013; Silver et al., 2006; Wijk et al., 1998; Willis et al., 2011). Zusätzlich wurde CO_2 ausgewählt, da es die TRPA1- (Wang et al., 2010) und TRPV1-Rezeptoren (Akiba et al., 2008; Kawai et al., 2014; Kim et al., 2012) aktiviert und bereits, als trigeminaler Stimulus ohne olfaktorische Eigenschaften in chemosensorischen Studien etabliert ist. Phenylethylethanol wurde als olfaktorischer Stimulus eingesetzt (Genovese et al., 2023; Karunanayaka et al., 2024). Um nachzuweisen, dass die ausgewählten Stimuli, wie in vorherigen Studien beschrieben, die entsprechenden menschlichen TRP-Rezeptoren stimulieren, wurde ein zellbasiertes Assay durchgeführt. Dabei kam ein Fluorometer (FLIPR) zum Einsatz, das Veränderungen der intrazellulären Calciumkonzentration misst, die durch die Aktivierung dieser Kanäle hervorgerufen werden.

Die Ergebnisse bestätigten die Zuordnung von Duftstoff und Rezeptor und zeigten außerdem eine Co-Aktivierung des TRPA1-Rezeptors durch die meisten der getesteten chemischen Verbindungen. Obwohl im zellbasierten Assay unterschiedliche Aktivierungsschwellen für die verschiedenen Rezeptoren festgestellt wurden, erfolgte die Auswahl der Konzentrationen der Duftstoffe basierend auf den Intensitätsbewertungen aus Vorversuchen, um die wahrgenommene Intensität der Duftstoffe anzugleichen. Zwei ausführliche Tabellen zu den verwendeten Duftstoffen mit Angabe der verwendeten Konzentration und des jeweiligen aktivierten Rezeptors finden sich im Anhang 14.1 und 14.2.

6 Ergebnisse

6.1 Beschreibung der Probanden

Es wurden zunächst 40 gesunde Probanden für die Aufnahme der elektrophysiologischen Aufnahmen rekrutiert. Nach dem Ausschluss von Teilnehmern aufgrund technischer Schwierigkeiten oder praktischer Gründe, wie beispielsweise durch Atmung, Blinzeln, Gesichtsbewegungen sowie durch elektrische Störsignale aus der Umgebung hervorgerufene Artefakte, konnten in die anschließende Auswertung der Daten die NMP-Daten von 24 Teilnehmern (Alter 25,2 ± 2,7 Jahre, 17 Frauen) und die ERP-Daten von 17 Teilnehmern (Alter 26,7 ± 3,6 Jahre, 12 Frauen) eingeschlossen werden. Weiterhin vervollständigten 10 Teilnehmer (Alter 25,1 ± 2,6 Jahre, 6 Frauen) eine dynamische Intensitätsbewertung. Außerdem wurde zusätzlich zur Hauptstudie die Wahrnehmung der trigeminalen und olfaktorischen Stimuli sowie die Beschreibung dieser von 12 Teilnehmern (Alter 25,2 ± 1,9 Jahre, 6 Frauen) untersucht. Die Punktwerte für die Identifikation waren 14,04 ± 0,86 für die NMP-Untergruppe, 13,88 ± 0,86 für die ERP-Untergruppe und 13,80 ± 1,03 für die Untergruppe der Teilnehmer, die die psychophysische Testung vervollständigt haben. Die Lateralisierungstest-Punktzahl betrug 15,75 ± 3,22 für die NMP-Untergruppe, 16,18 ± 3,89 für die ERP-Untergruppe und 16,30 ± 2,00 für die Untergruppe der Teilnehmer, die die psychophysische Testung komplettiert haben.

6.2 Qualitätsbewertung und Einordnung mit Hilfe von Deskriptoren

Die Bewertung der Duftstoffe hinsichtlich Intensität, Wärme, Kälte, Kitzeln und Schmerzhaftigkeit unterschied sich signifikant ($F = 5{,}46–31{,}71$, p-Werte < 0,01). Hinsichtlich der Angenehmheit wurden CO_2 und Cyclohexanon als weniger angenehm verglichen mit PEA, Perillaaldehyd und Isopulegol bewertet ($t = 3{,}97–9{,}76$, p-Werte < 0,01). CO_2 und Cyclohexanon wurden als am intensivsten ($t = 3{,}05–7{,}57$, p-Werte < 0,05) und schmerzhaftesten ($t = 3{,}74–5{,}90$, p-Werte < 0,05) im Vergleich zu den anderen Duftstoffen eingeordnet. CO_2 wurde als kitzelnder verglichen mit PEA eingeordnet ($t = 4{,}02$, $p = 0{,}02$). Isopulegol wurde weniger warm als PEA und Carvacrol ($t = 3{,}31–5{,}76$, p-Werte < 0,05) und kälter als PEA, Carvacrol, Perillaaldehyd und CO_2 ($t = 3{,}53–6{,}91$, p-Werte < 0,05) wahrgenommen. Hingegen wurde Carvacrol im Vergleich zu den anderen Duftstoffen tendenziell häufiger als wärmer und weniger kalt empfunden. PEA und Isopulegol wurden im Mittel als angenehmer verglichen mit den anderen Duftstoffen bewertet. **Abbildung 12** zeigt die Qualitätsbewertungen (Intensität, Wärme, Kälte, Kitzeln, Schmerzhaftigkeit, Angenehmheit) der Duftstoffe.

Folgende Deskriptoren wurden am häufigsten ausgewählt: „frisch“ (7) und „warm“ (7) für PEA, „warm“ (6) und „kitzelnd“ (6) für Carvacrol, „kitzelnd“ (6) für Perillaaldehyd, „frisch“ (8) für Isopulegol, „stechend“ (8) für Cyclohexanon und „schmerzhaft“ (8) für CO_2.

Die absoluten Häufigkeiten der gewählten Deskriptoren für die Duftstoffe PEA, Carvacrol, Perillaaldehyd, Isopulegol, Cyclohexanon und CO_2 sind **Abbildung 11** zu entnehmen.

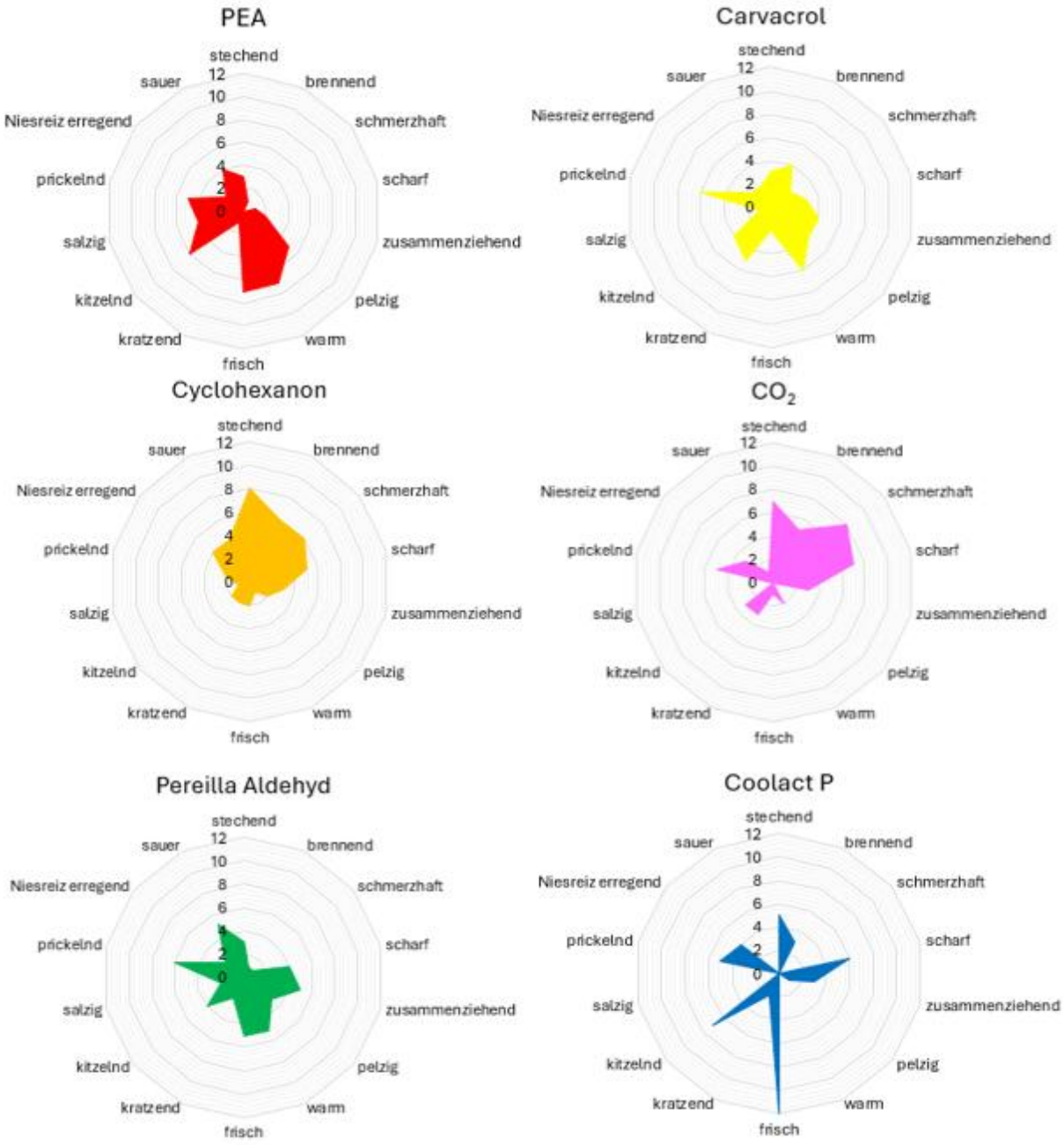

Abbildung 11: Darstellung der absoluten Häufigkeiten der gewählten Deskriptoren für die Duftstoffe PEA, Carvacrol, Cyclohexanon, Perillaaldehyd, Isopulegol und CO_2. Am häufigsten gewählt wurden die Deskriptoren „frisch“ (7) und „warm“ (7) für PEA, „kitzelnd“ (6) und „warm“ (6) für Carvacrol. „stechend“ (8) für Cyclohexanon, „frisch“ (12) für Isopulegol, „kitzelnd“ (6) für Perillaaldehyd und „schmerzhaft“ (8) für CO_2.

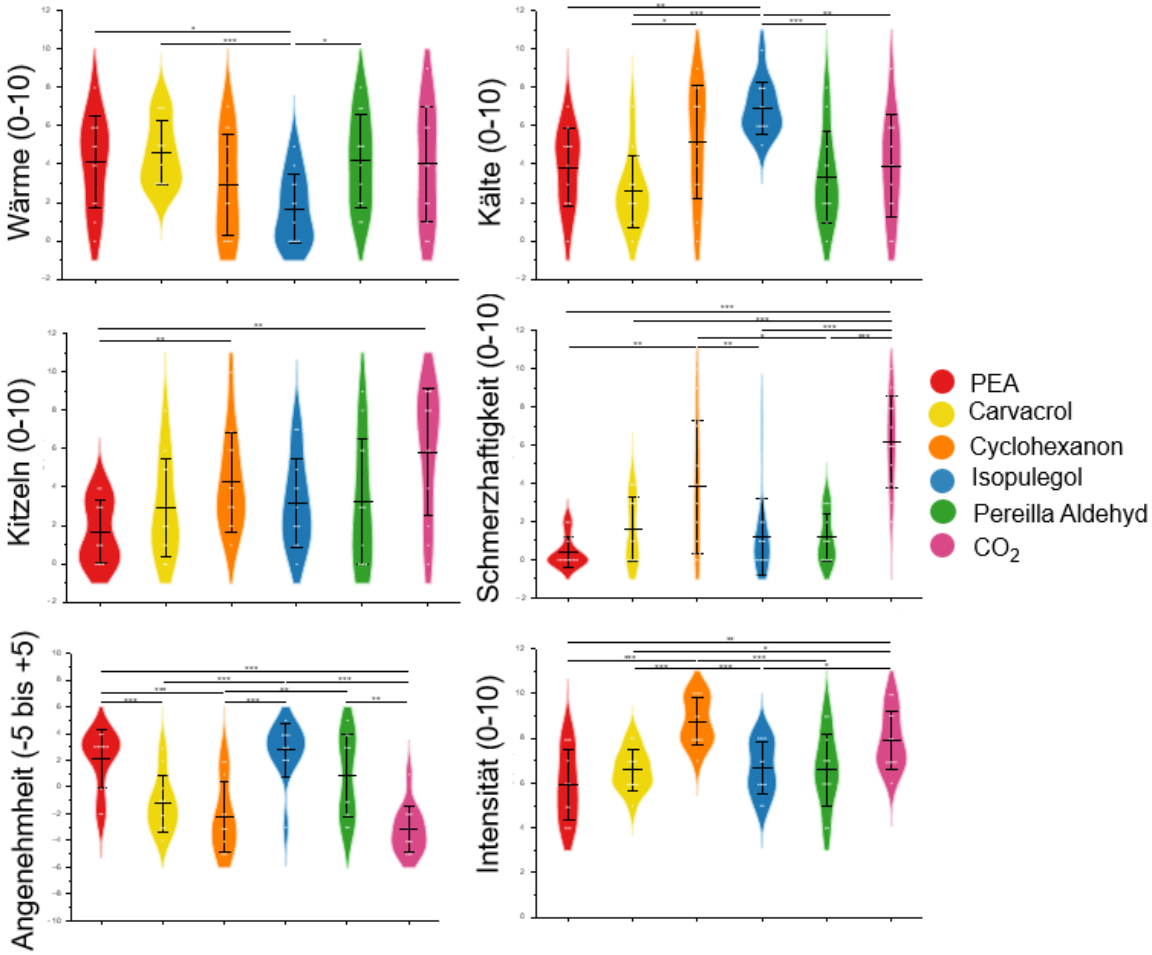

Abbildung 12: Bewertungen der durch die Düfte PEA, Carvacrol, Cyclohexanon, Isopulegol, Perillaaldehyd und CO_2 hervorgerufenen Empfindungen. Erfasst wurden Kälte-, Wärme- und kitzelnde Empfindung, Schmerzhaftigkeit sowie wahrgenommene Intensität (Skala 0–10) und Angenehmheit (Skala –5 bis +5). Die unterschiedlichen Dicken der farbigen Formen repräsentieren die Häufigkeitsverteilung der Bewertungen. Signifikante Unterschiede sind durch schwarze Querlinien markiert, wobei *p < 0,05, **p < 0,01 und ***p < 0,001 anzeigen.

6.3 Dynamische Intensitätsbewertung der Düfte

Es ergaben sich signifikante Unterschiede hinsichtlich des Spitzenwertes, der Latenz und der Steilheit des Anstiegs zwischen den verschiedenen Düften in hoher Konzentration (F = 6,15–13,86, p-Werte < 0,01). Post-hoc-Tests zeigten, dass Cyclohexanon höhere Spitzenwerte als die anderen trigeminalen Stimuli aufwies (t = 3,14–7,76, p-Werte < 0,05), schnellere Antworten als Carvacrol, Isopulegol und CO_2 hervorrief (t = 3,80–5,38, p-Werte < 0,01) und steilere Anstiegskurven als PEA, Carvacrol und Perillaaldehyd zeigte (t = 3,42–4,73, p-Werte < 0,05). Weiterhin waren die Spitzenwerte von CO_2 höher als die von Carvacrol (t = 3,90, p < 0,01) und die von Isopulegol höher als die von Carvacrol und Perillaaldehyd (t = 3,84–6,04, p-Werte < 0,01). PEA wies höhere Spitzenwerte als Carvacrol auf (t = 3,62, p < 0,01).

Es zeigten sich auch signifikante Unterschiede bezogen auf die Spitzenwerte (Wald = 14,24, $p < 0,01$) und Latenzen (Wald = 19,14, $p < 0,01$) zwischen den verschiedenen Düften in niedriger Konzentration. Probanden schätzten die maximale Intensität von CO_2 im Vergleich zu Carvacrol und Perillaaldehyd als niedriger ein (p-Werte < 0,05). Zudem war die Antwortlatenz für CO_2 länger als die für Cyclohexanon ($p < 0,01$). **Abbildung 13** zeigt die Verläufe der dynamischen Intensitätsbewertung für die Duftstoffe Carvacrol, Perillaaldehyd, Isopulegol, Cyclohexanon, CO_2 in hoher und niedriger Konzentration sowie PEA in hoher Konzentration.

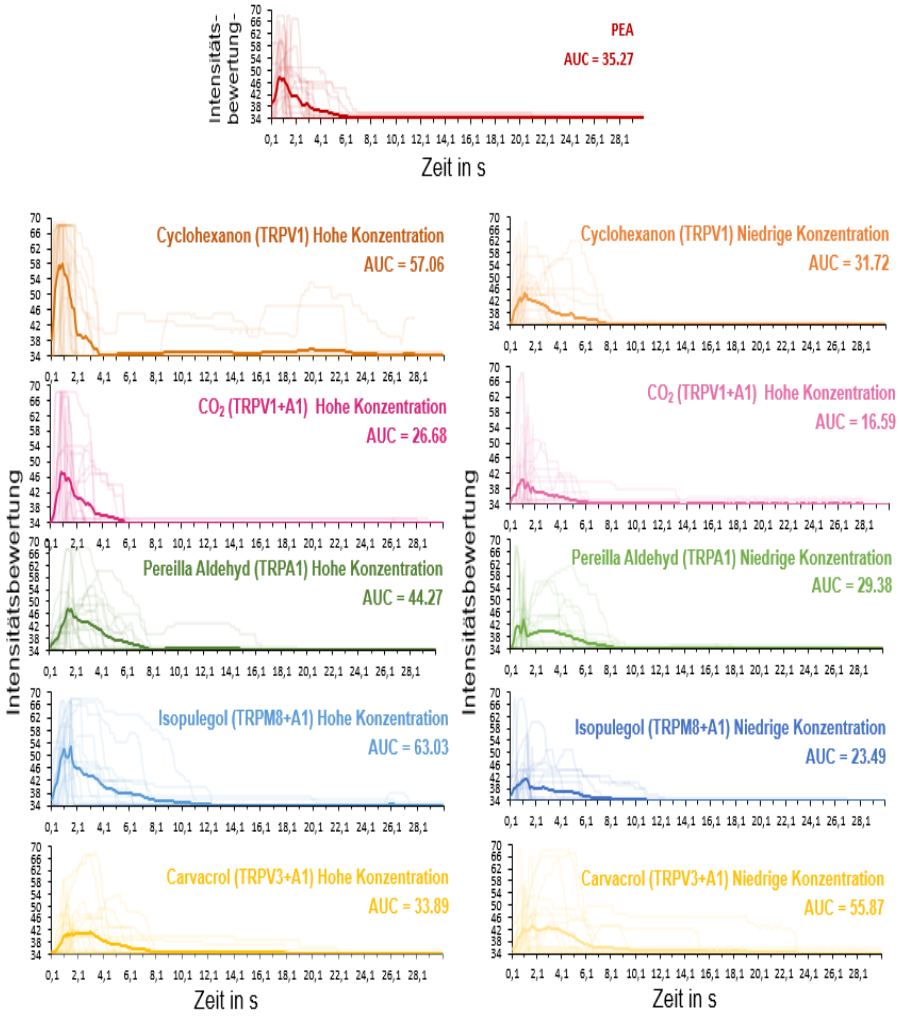

Abbildung 13: Verläufe der dynamischen Intensitätsbewertungen für die Duftstoffe PEA, Cyclohexanon, CO_2, Perillaaldehyd, Isopulegol und Carvacrol. Die helleren Linien repräsentieren die individuellen Verläufe der einzelnen Teilnehmer, während die dunklere Linie den Mittelwert zeigt. Auf der x-Achse ist die Zeit in Sekunden (s) aufgetragen, während die y-Achse die Intensitätsbewertung auf einer Skala von 34 bis 70 darstellt. Zudem ist die Fläche unter der Kurve (*Area Under the Curve*, AUC) unter den jeweiligen Duftüberschriften ersichtlich.

6.4 Periphere Reizantworten – Negative Mukosa Potentiale

Es ergaben sich signifikante Unterschiede bezüglich der NMP-N1- und P1N1-Amplituden (F = 13,51–21,88, p-Werte < 0,01) sowie der P1- und P2-Latenzen zwischen den Duftstoffen in hoher Konzentration.

Post-hoc-Tests zeigten, dass

1. Cyclohexanon größere N1- und P1N1-Amplituden als PEA, Carvacrol, Perillaaldehyd und Isopulegol hervorrief (t = 3,76–7,24, p-Werte < 0,01). Außerdem zeigte Cyclohexanon eine längere Latenzzeit als Perillaaldehyd (P1 und P2, p-Werte < 0,01).
2. CO_2 größere Amplituden verglichen mit PEA (N1 und P1N1), Carvacrol (P1N1), Perillaaldehyd (P1N1) und Isopulegol (P1N1) aufwies (t = 3,28–7,54, p-Werte < 0,05). Des Weiteren konnte für CO_2 eine längere Latenzzeit im Vergleich mit Perillaaldehyd beobachtet werden (P1 p < 0,05).
3. Perillaaldehyd größere N1-Amplituden verglichen mit PEA zeigte (t = 3,22, p = 0,02).

In niedriger Konzentration konnten signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen trigeminalen Stimuli hinsichtlich N1-Amplitude und P1-Latenz (Wald = 16,67 bis 19,60, p-Werte < 0,01) beobachtet werden. Isopulegol wies eine größere N1-Amplitude im Vergleich zu CO_2 (p < 0,05) auf und Cyclohexanon und Isopulegol zeigten eine längere Latenz als Perillaaldehyd (p-Werte < 0,05). Eine schematische Darstellung der verwendeten Ableitpositionen ist **Abbildung 14** zu entnehmen. **Abbildung 15** zeigt die Mittelungen der peripheren Potenzialableitungen für die Duftstoffe Carvacrol, Perillaaldehyd, Isopulegol, Cyclohexanon sowie CO_2 in hoher und niedriger Konzentration und PEA in hoher Konzentration.

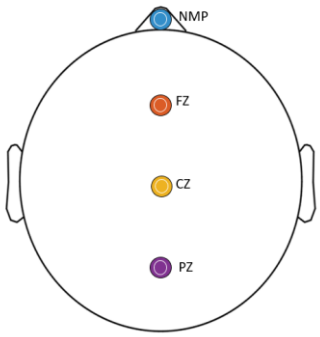

Abbildung 14: Schematische Darstellung der Ableitungspositionen. Blau gekennzeichnet ist die Ableitung der peripheren Potentiale der Nasenschleimhaut, rot gekennzeichnet ist die Position Fz für die Ableitung der zentralen Potentiale, gelb gekennzeichnet ist die Position Cz für die Ableitung der zentralen Potentiale und lila gekennzeichnet ist die Position Pz für die Ableitung der zentralen Potentiale.

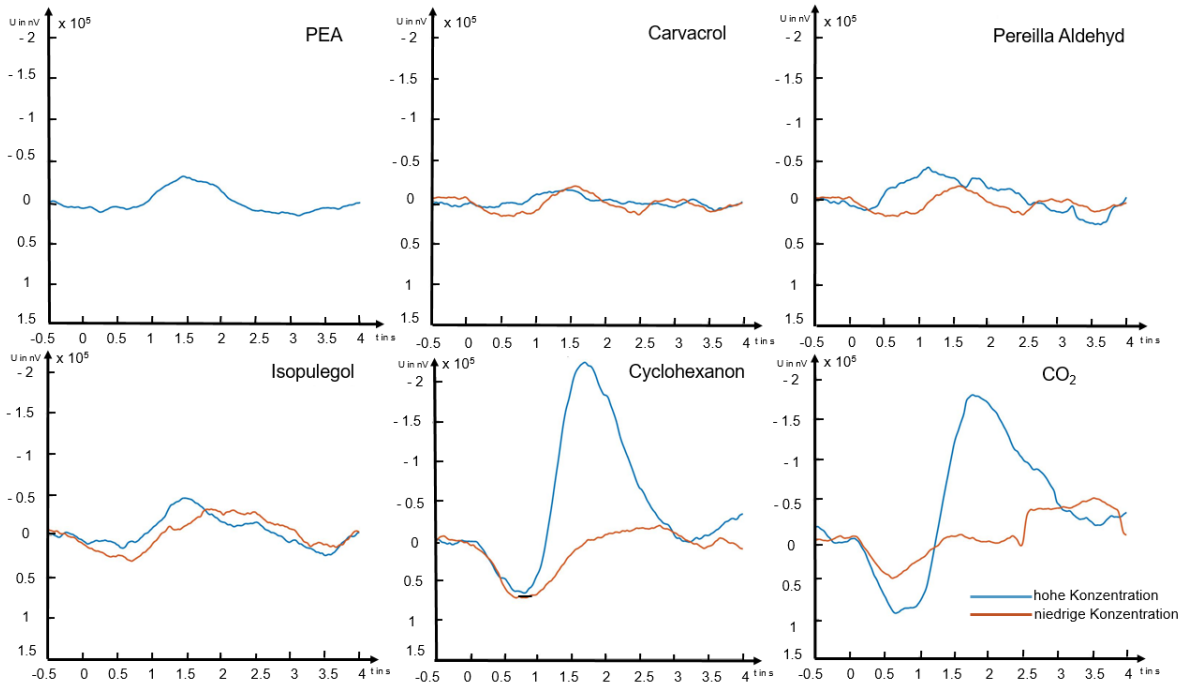

Abbildung 15: Es sind die gemittelten Ableitungen der peripheren Potentiale für die Duftstoffe PEA, Carvacrol, Perillaaldehyd, Isopulegol, Cyclohexanon und CO_2 in niedriger (rot) und hoher Konzentration (blau) dargestellt. Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben.

6.5 Zentrale Reizantworten - Ereigniskorrelierte Potentiale

Zwischen den Duftstoffen in hoher Konzentration wurden signifikante Unterschiede hinsichtlich der P2- und N1P2-Amplitude der Fz (F = 5,38-12,25, p-Werte < 0,01), Cz (F = 6,14-6,20, p-Werte < 0,01) und Pz (F = 3,69-3,89, p-Werte < 0,05) Elektrode beobachtet. Post-hoc-Tests zeigten, dass:

1. CO_2 größere Amplituden als Carvacrol (P2[Cz, und Pz], N1P2[Fz, und Cz], t = 3,53–4,42, p-Werte < 0,05) hervorrief.
2. Cyclohexanon größere Amplituden im Vergleich mit PEA (N1P2[Fz, Cz, und Pz], t = 3,30–3,57, p-Werte < 0,05), Carvacrol (P2[Cz], N1P2[Fz], t = 4,06–4,10, p-Werte = 0,02) und Perillaaldehyd (P2[Fz, Cz], N1P2[Cz, und Fz], t = 3,13–3,95, p-Werte < 0,05) zeigte.

Für die trigeminalen Stimuli in niedriger Konzentration zeigten sich signifikante Unterschiede bezüglich der N1- und P1N1-Amplitude. Post-hoc-Tests ergaben, dass CO_2 (N1 [Cz], P1N1 [Fz und Cz]), Cyclohexanon (N1 [Cz und Pz]) und Perillaaldehyd (N1 [Cz und Pz] sowie P1N1 [Fz, Cz und Pz]) größere Amplituden als Carvacrol (p-Werte < 0,05) zeigten. Zusätzlich wurde ein Haupteffekt der Duftstoffe auf die N1P2-Amplitude (Wald = 27,17, p < 0,05) beobachtet. Dabei konnte für Cyclohexanon verglichen mit Carvacrol ein größerer Effekt beobachtet werden (p = 0,03).

Die **Abbildungen 16 bis 21** stellen die gemittelten Ableitungen der zentralen Potenziale für die Duftstoffe Carvacrol, Perillaaldehyd, Isopulegol, Cyclohexanon sowie CO_2 in hoher und niedriger Konzentration und PEA in hoher Konzentration dar. Zur besseren Vergleichbarkeit der Duftstoffe untereinander sind in **Abbildung 22** die gemittelten Ableitungen der zentralen Potenziale der Duftstoffe in hoher Konzentration zusammengefasst.

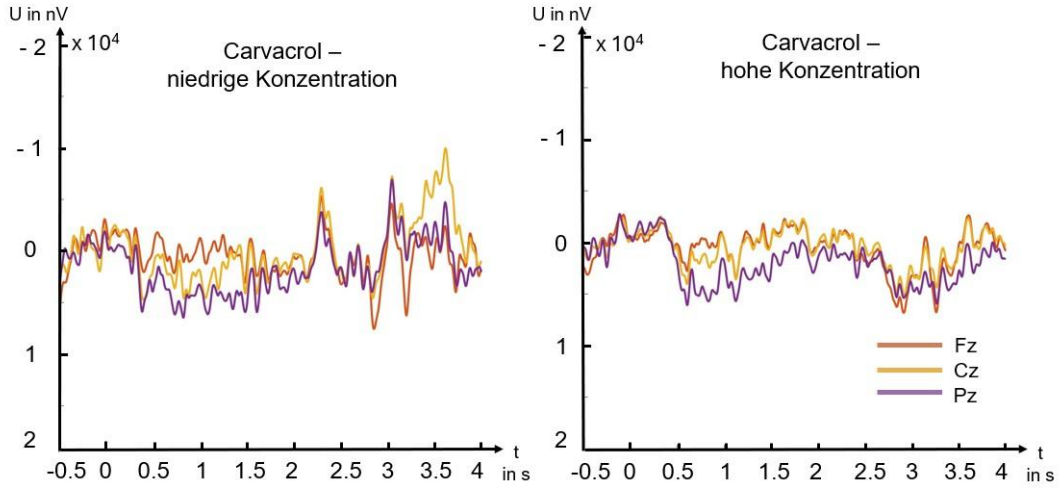

Abbildung 16: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff Carvacrol in niedriger (links) und hoher Konzentration (rechts). Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz - lila.

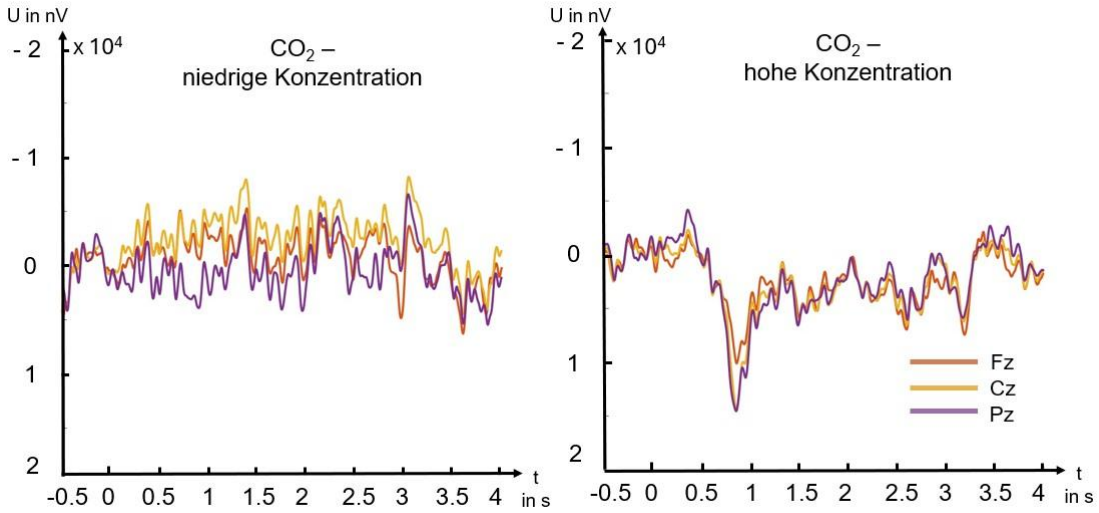

Abbildung 17: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff CO_2 in niedriger (links) und hoher Konzentration (rechts). Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz - lila.

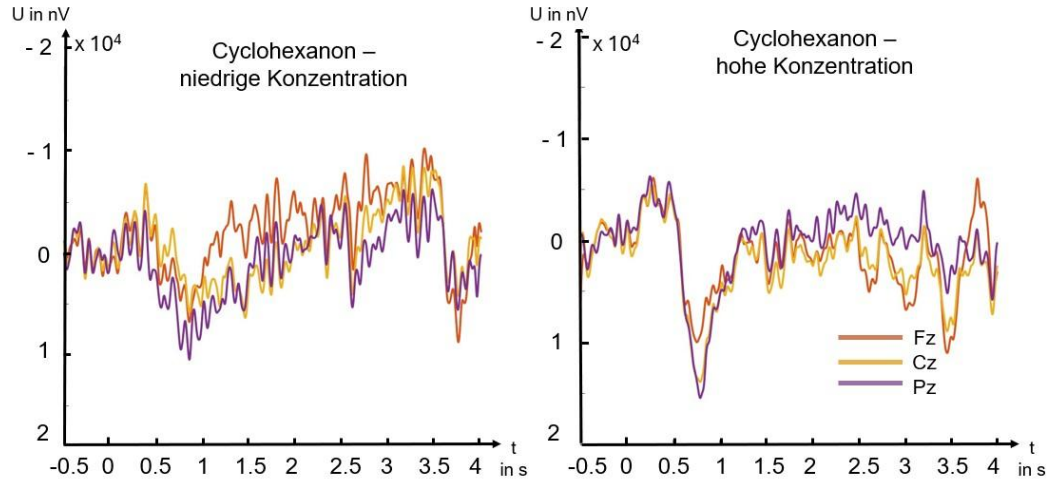

Abbildung 18: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff Cyclohexanon in niedriger (links) und hoher Konzentration (rechts). Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz - lila.

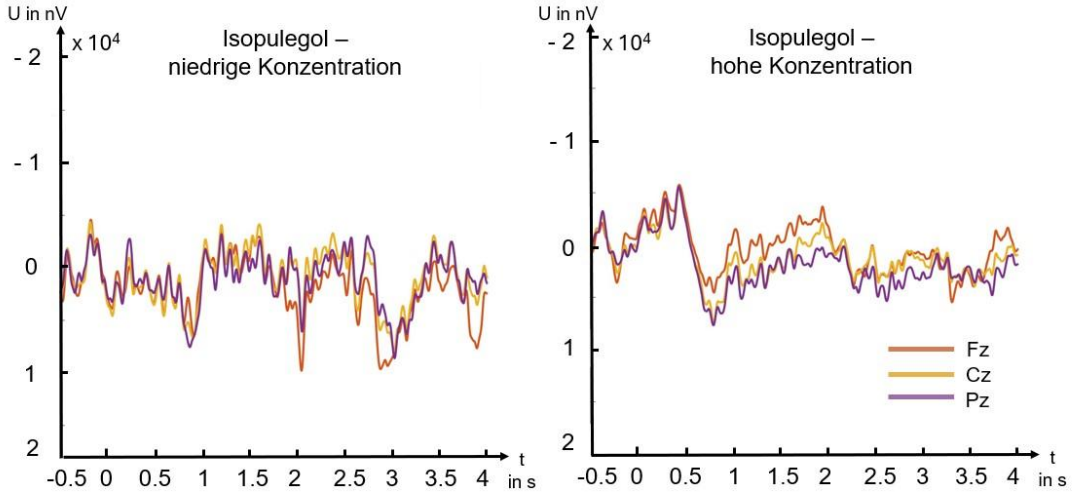

Abbildung 19: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff Isopulegol in niedriger (links) und hoher Konzentration (rechts). Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz - lila.

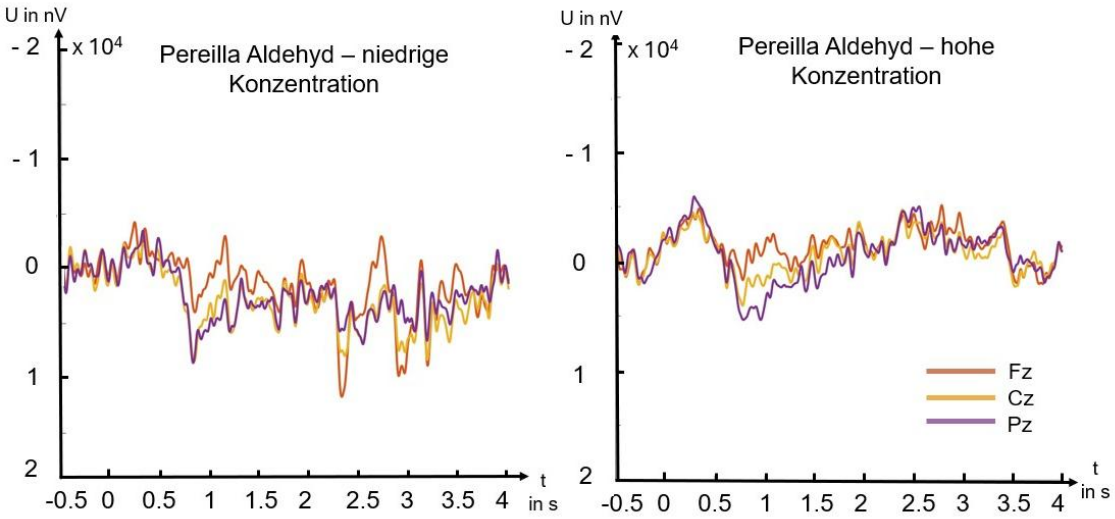

Abbildung 20: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff Perillaaldehyd in niedriger (links) und hoher Konzentration (rechts). Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz - lila.

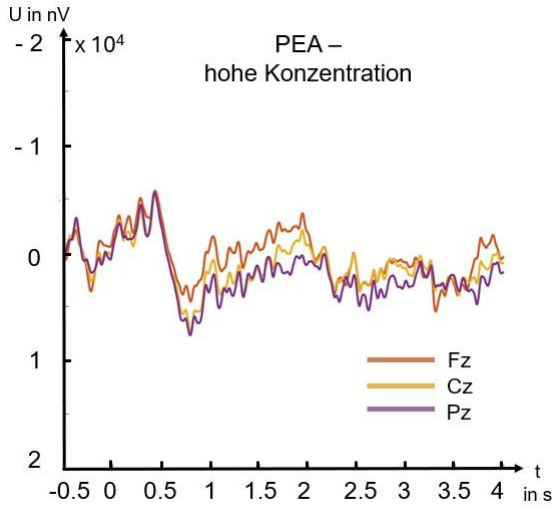

Abbildung 21: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff PEA in hoher Konzentration. Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz – lila.

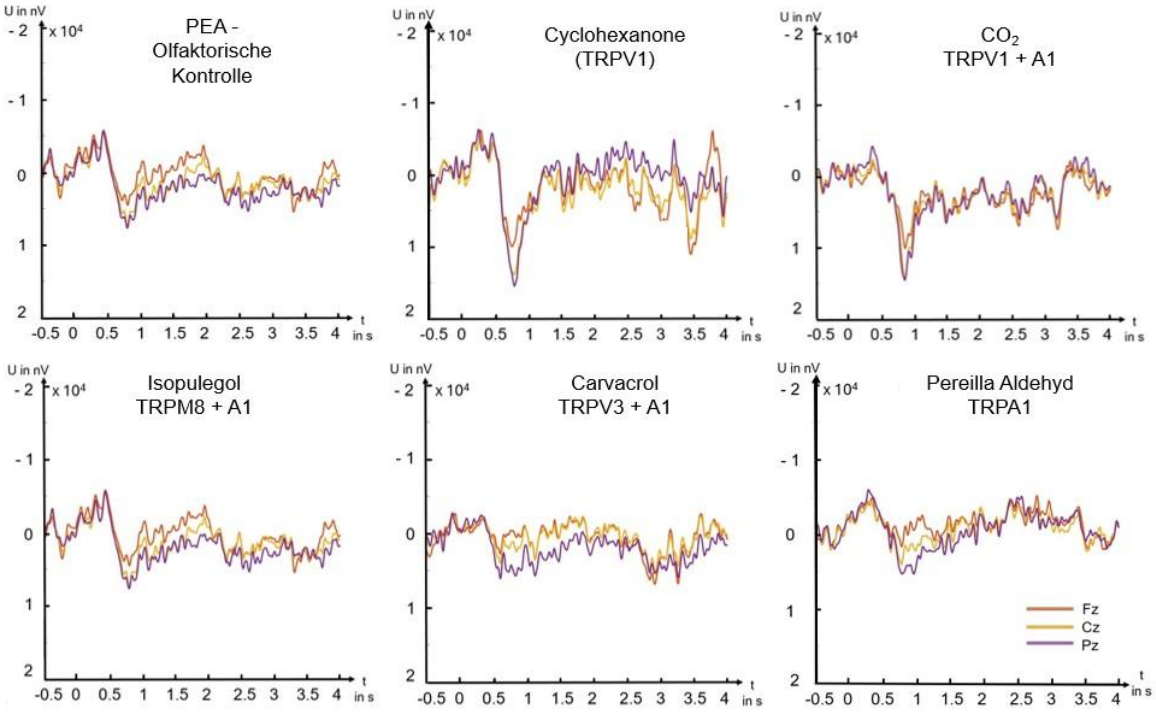

Abbildung 22: Zum Vergleich der Duftstoffe untereinander sind die gemittelten EEG-Ableitungen an den Positionen Fz (orange), Cz (gelb) und Pz (lila) für die Duftstoffe PEA als olfaktorische Kontrolle, Carvacrol (TRPV3 + A1), Perillaaldehyd (TRPA1), Isopulegol (TRPM8 + A1), Cyclohexanon (TRPV1) und CO_2 (TRPV1 + A1) in hoher Konzentration dargestellt. Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Aufgrund der wahrscheinlich höheren Aussagekraft der Ergebnisse der Testungen mit den hohen Konzentrationen, weitere Erklärungen siehe Diskussion, wurden diese hier zum Vergleich gewählt.

6.6 Korrelationsanalyse

NMPs, ERPs und psychophysische Antworten korrelierten signifikant miteinander. Größere NMP-Amplituden korrelierten mit größeren ERP-Amplituden und größeren psychophysischen Reizantworten. Kürzere NMP-Latenzzeiten korrelierten mit kürzeren ERP-Latenzzeiten.

Es wurden folgende signifikante Korrelationen festgestellt:

1. Korrelation von NMP und ERP:
    - Die N1-Amplitude (NMP) korrelierte positiv mit der P2-Amplitude (ERP) an der Elektrodenposition Fz ($r = 0{,}22$, $p = 0{,}04$).
    - Die P1N1-Amplitude (NMP) korrelierte positiv mit der P2-Amplitude (ERP) an der Elektrodenposition Fz und mit der N1P2-Amplitude (ERP) an den Positionen Fz und Pz ($r = 0{,}23$–$0{,}27$, p-Werte $< 0{,}05$).
2. Korrelation von NMP und psychophysischer Reizantwort:
    - Die N1- und N1P1-Amplituden (NMP) korrelierten positiv mit den Spitzenwerten und der Steilheit der psychophysischen Antwort ($r = 0{,}28$–$0{,}52$, p-Werte $< 0{,}05$) und negativ mit der Antwortlatenz ($r = -0{,}38$ bis $-0{,}35$, p-Werte $< 0{,}05$).

3. Korrelation von ERP und psychophysischer Reizantwort:
    - Die P2- und N1P2-Amplitude (ERP) an den Positionen Fz, Cz und Pz korrelierte positiv mit den Spitzenwerten und/oder der Anstiegssteilheit (r = 0,38–0,61, p-Werte < 0,01). Zusätzlich korreliert die P2-Amplitude (ERP) an der Position Fz negativ mit der Antwortlatenz (r =-0,51, p-Werte < 0,01).

6.7 Vergleich mit dem olfaktorischem Stimulus PEA

Cyclohexanon in hoher Konzentration zeigte einen steileren Anstieg der Intensitätsbewertung, größere N1- und P1N1-Amplituden (NMP) und größere N1P2-Amplituden an den Positionen Fz, Cz, und Pz (ERP) als PEA. Die meisten trigeminalen Düfte wiesen eine längere Latenzzeit als PEA auf.
Im Folgenden wird auf spezifische statistische Ergebnisse eingegangen:

1. **„Behavioral responses“-Dynamische Intensitätsbewertung der Düfte**
   Der Spitzenwert der Intensitätsbewertung von PEA war signifikant niedriger verglichen mit dem von Cyclohexanon in hoher Konzentration (Wald = 24,16, p < 0,01), dennoch war er höher als der von Carvacrol in hoher Konzentration, Isopulegol in niedriger Konzentration und CO_2 in niedriger Konzentration (Wald = 8,14 bis 9,92, p-Werte < 0,01). Außerdem war der Anstieg der Intensitätsbewertung von PEA weniger steil im Vergleich mit dem von Cyclohexanon in hoher Konzentration (Wald = 8,45, p-Wert < 0,01).

2. **Periphere Reizantworten – NMP**
   Cyclohexanon zeigte signifikant größere N1- und P1N1-Amplituden in hoher Konzentration (p-Werte < 0,01) und größere P1-Amplituden in niedriger Konzentration. Zudem wies es längere P1-, N1- und P2-Latenzzeiten in hoher Konzentration und längere P1- und N1-Latenzzeiten in niedriger Konzentration verglichen mit PEA auf (p-Werte < 0,05). Perillaaldehyd in hoher Konzentration hatte größere N1-Amplituden als PEA (p = 0,02). Des Weiteren zeigte CO_2 in hoher Konzentration signifikant größere P1- und P1N1-Amplituden und längere P1- und N1-Latenzzeiten (p-Werte < 0,05), wohingegen CO_2 in niedriger Konzentration kleinere N1- und N1P2-Amplituden (p-Werte < 0,05) als PEA aufwies. Isopulegol zeigte längere P1-Latenzzeiten in hoher Konzentration und längere P1- und N1-Latenzzeiten in niedriger Konzentration (p-Werte < 0,05). Carvacrol in hoher Konzentration hatte eine längere N1-Latenz verglichen mit PEA (p < 0,05).

3. Zentrale Reizantworten – ERP

CO_2 in hoher Konzentration zeigte längere P2-Latenzzeiten (Fz, Cz, Pz) als PEA. CO_2 in niedriger Konzentration zeigte größere N1- (Fz und Cz), aber kleinere P2-Amplituden (Fz und Cz) und längere P2-Latenzzeiten (Pz) im Vergleich mit PEA (p-Werte < 0,05). Cyclohexanon in hoher Konzentration zeigte größere N1P2-Amplituden ([Fz, Cz, Pz], p-Werte < 0,05) und längere N1- und P2-Latenzzeiten (Fz, Cz, Pz) im Vergleich mit PEA, wohingegen Cyclohexanon in niedriger Konzentration kleinere P1-Amplituden (Fz), aber größere N1-Amplituden (Cz) und längere P2-Latenzzeiten (Fz, Cz, Pz) als PEA aufwies (p-Werte < 0,05). Isopulegol in hoher Konzentration wies längere P2-Latenzzeiten (Fz, Cz, Pz) auf (p-Werte < 0,05). Perillaaldehyd in hoher Konzentration zeigte längere P2-Latenzzeiten (Pz). Wohingegen Perillaaldehyd in niedriger Konzentration kleinere P1-, aber größere N1-Amplituden (Fz) und längere N1- und P2-Latenzzeiten (Pz) als PEA aufwies (p-Werte < 0,01). Carvacrol in niedriger Konzentration zeigte längere P2-Latenzzeiten (Pz) verglichen mit PEA (p-Werte < 0,01).

7 Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Ausprägung der hervorgerufenen neuralen Aktivität und der psychophysischen Reizantworten ist abhängig vom jeweils aktivierten Rezeptor.

2. Besonders die TRPV1-Aktivierung führt zu ausgeprägten Reizantworten. Cyclohexanon und CO_2 in hoher Konzentration zeigen größere N1- und/oder P1N1-Amplituden (NMP) als andere Duftstoffe. Auch in Bezug auf die zentral abgeleiteten Potenziale weisen die beiden TRPV1-Stimuli größere P2 und/oder N1P2-Amplituden als PEA (Cyclohexanon), Carvacrol (Cyclohexanon, CO_2) und Perillaaldehyd (Cyclohexanon) auf.

3. Cyclohexanon weist höhere Spitzenwerte, steilere Anstiegskurven und kürzere Antwortlatenzen verglichen mit den anderen Duftstoffen in der dynamischen Intensitätsbewertung auf. CO_2 und Isopulegol zeigen höhere Spitzenwerte.

4. Cyclohexanon und CO_2 werden als weniger angenehm, intensiver und schmerzhafter wahrgenommen. Isopulegol wird als am kältesten und am wenigsten warm, während Carvacrol tendenziell häufiger als wärmer und weniger kalt bewertet wird.

5. PEA wird im Mittel als angenehmer bewertet, zeigte flachere Anstiegskurven, weist jedoch einen höheren Spitzenwert als Carvacrol in der dynamischen Intensitätsbewertung auf. Außerdem kann für PEA negative Mukosapotenziale abgeleitet werden, auch wenn die Amplituden tendenziell kleiner sind als die durch die trigeminalen Duftstoffe hervorgerufenen. Zum Teil zeigt PEA kürzere Antwortlatenzen hinsichtlich der peripheren und zentralen Reizantworten.

6. Es kann eine positive Korrelation zwischen NMP- und ERP-Amplituden sowie zwischen NMP- beziehungsweise ERP-Amplituden und Spitzenwerten sowie der Steilheit der Anstiegskurven gezeigt werden. Außerdem korrelierten NMP- beziehungsweise ERP-Amplituden negativ mit den Antwortlatenzen der dynamischen Intensitätsbewertung.

8 Diskussion

Die Studie an gesunden Teilnehmern verglich die Reizantworten von Düften untereinander, die unterschiedliche intranasale TRP-Rezeptoren aktivieren. Weiterhin wurde ein Vergleich mit dem olfaktorischen Stimulus PEA durchgeführt. Zudem wurden die Korrelationen zwischen den psychophysischen, zentralen und peripheren Antworten betrachtet. Im Allgemeinen führte die Aktivierung unterschiedlicher TRP-Rezeptoren bei angeglichener Duftintensität zwischen den Duftstoffen zu verschiedenen psychophysischen und elektrophysiologischen Reizantworten auf peripherer und zentraler Ebene. Bemerkenswerterweise führte die TRPV1-Aktivierung, überwiegend selektiv im Falle von Cyclohexanon und mit Co-Stimulation des TRPA1-Rezeptors bei CO_2, zu ausgeprägteren NMP- und ERP-Amplituden sowie höheren Spitzenwerten der Intensitätsbewertung. Es ist zu beachten, dass obwohl die ausgewählten Düfte die jeweiligen Rezeptoren wie in vorherigen Studien (Cattaneo et al., 2017; Kawai et al., 2014; Niu et al., 2022; Saunders et al., 2013; Wang, 2021; Wang et al., 2010) beschrieben aktivieren, eine Aktivierung weiterer Rezeptoren nicht ausgeschlossen werden kann. Vor allem der TRPA1-Rezeptor wird häufig co-stimuliert. Des Weiteren verfügen die verwendeten Duftstoffe, mit Ausnahme von CO_2, neben den trigeminalen auch über olfaktorische Eigenschaften, daher ergibt sich ein weiterer Forschungsbedarf, um fundierte Schlussfolgerungen für die spezifischen trigeminalen Aktivierungen zu ziehen. Aufgrund der Schwierigkeiten, optimale Duftstoffe auszuwählen, die nur einen Rezeptor aktivieren und keine olfaktorische Komponente aufweisen, würde eine Testung mit anderen Duftstoffen helfen, die Ergebnisse dieser Studie zu validieren. Es sind beispielsweise Duftstoffe geeignet, die gezielt einen bestimmten TRP-Rezeptor aktivieren und sich in ihren sensorischen Eigenschaften von den in dieser Studie verwendeten unterscheiden.

8.1 Starke psychophysische und neuronale Reizantworten bei Aktivierung des TRPV1-Rezeptors

CO_2 und Cyclohexanon lösten im Vergleich zu den anderen in dieser Dissertation verwendeten Duftstoffen stärkere Reizantworten aus. Dieser Trend zeigte sich konsistent auf psychophysischer, peripherer und zentraler Ebene, wie durch die Korrelationsanalyse gezeigt wurde. CO_2 und Cyclohexanon aktivieren den TRPV1-Rezeptor, welcher hauptsächlich für die Wahrnehmung von Schmerz und Irritation verantwortlich ist. Die Testungen zur Bewertung der Duftqualität bestätigten, dass Cyclohexanon und CO_2 verglichen mit den anderen Stimuli als am unangenehmsten, intensivsten, kitzelndsten und schmerzhaftesten bewertet wurden. Diese Ergebnisse waren nicht überraschend, da das Schmerzempfinden von wesentlicher evolutionärer Bedeutung für die Vermeidung von schmerzhaften Reizen und Krankheiten ist (Cervero, 2012).

Starke Reizantworten und die damit einhergehende neuronale Aktivität können so als Signal dienen, um protektive Reflexe wie Niesen auszulösen (Stevens & Cain, 1986). Obwohl CO_2 und Cyclohexanon den TRPV1-Rezeptor aktivieren, stimuliert CO_2 zusätzlich den TRPA1-Rezeptor. RNA-Sequenzierungsstudien berichteten über TRPV1- und TRPA1-Co-Expression auf trigeminalen Ganglienzellen (Nguyen et al., 2017). Es wurde außerdem gezeigt, dass diese Rezeptoren durch dieselben chemischen Verbindungen co-stimuliert werden können (Akiba et al., 2008; Wang et al., 2010). In der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Studie scheint es der Fall zu sein, dass beide Stimuli dieselbe Untergruppe an sensorischen Fasern aktivieren und daher ähnliche Empfindungen hervorrufen, aber durch unterschiedliche Mechanismen – Cyclohexanon über eine selektive Stimulation der TRPV1-Rezeptoren und CO_2 über eine Co-Stimulation von TRPV1- und TRPA1-Rezeptoren. Diese Co-Stimulation könnte die Komplexität der aktuellen Ergebnisse erklären: CO_2 und Cyclohexanon rufen ähnliche Antwortamplituden hervor, wobei Cyclohexanon kürzere Latenzzeiten als CO_2 zeigte. Ähnlich wie CO_2 zeigte Perillaaldehyd eine Co-Stimulation von TRPA1- und TRPV1-Rezeptoren. Aufgrund der geringen Volatilität und molekularen Masse von Perillaaldehyd war nicht davon auszugehen, dass die hervorgerufene TRPV1-Aktivierung von besonderer Bedeutung für die experimentellen Ergebnisse sein würde. Eine weniger ausgeprägte TRPV1-Aktivierung führt demnach auch zu geringer ausgeprägten psychophysischen und neuronalen Reizantworten.

8.2 Abhängigkeit der Reizantworten von der verwendeten Konzentration

Die beschriebenen stärkeren Reizantworten konnten durchgängig während der Testung der Duftstoffe in hoher Konzentration beobachtet werden. Im Gegensatz dazu waren die Ergebnisse bei der Testung der Stimuli in niedriger Konzentration gemischt und weniger konsistent. Beispielsweise zeigten Cyclohexanon und CO_2 größere ERP-Amplituden im Vergleich zu Carvacrol. Bei der psychophysischen Testung und Messung der peripheren Potenziale konnte dagegen keine stärkere Reizantwort beobachtet werden. CO_2 in niedriger Konzentration zeigte, verglichen mit den anderen getesteten Düften, niedrigere Spitzenwerte bei der dynamischen Intensitätsbewertung und wies kleinere NMP-Amplituden auf. Daher scheint die Stimulus-Konzentration einen großen Einfluss auf das Antwortverhalten der trigeminalen Rezeptoren zu haben. Beispielsweise wurde berichtet, dass CO_2 erst ab einer gewissen Konzentrationsschwelle, das heißt 20,6 % ± 9,6 % (v/v) bei einer Stimulus-Dauer von 1000 ms und einem Luftstrom von 140 ml/s, wahrnehmbar ist und in dieser Konzentration weder eine Schmerzwahrnehmung noch eine deutliche NMP-Amplitude auslöst (Thürauf et al., 2002). Die Testungen mit hohen Konzentrationen und die damit einhergehende effektivere Aktivierung des TRPV1-Rezeptors führten zu deutlich ausgeprägteren neuronalen Reizantworten.

Aufgrund der effektiveren Aktivierung der Rezeptoren scheint es sinnvoller zu sein, Schlussfolgerungen hauptsächlich aus der Auswertung der Tests mit den Duftstoffen in hoher Konzentration zu ziehen. Zusätzlich zu den widersprüchlichen Ergebnissen, die in hoher und niedriger Konzentration beobachtet wurden, zeigte sich eine positive Korrelation zwischen der Duftkonzentration und der P1-Amplitude (NMP), sowie ein Anstieg der TRP-Rezeptorexpression mit der Duftkonzentration basierend auf einer chemischen Analyse. Insgesamt unterstreichen die Ergebnisse den Einfluss der Duftkonzentration auf das elektrophysiologische und psychophysische Reizantwortverhalten.

8.3 Bedeutung des TRPM8-Rezeptors für die Temperaturwahrnehmung

Isopulegol, welches den TRPM8-Rezeptor aktiviert, wies verglichen mit Perillaaldehyd (TRPA1) und Carvacrol (TRPV3 + A1) einen höheren Intensitätsspitzenwert bei der dynamischen Intensitätsbewertung auf. Dies könnte darauf hindeuten, dass Duftstoffe, assoziiert mit der Aktivierung des TRPM8-Rezeptors, eine größere Bedeutung für die Wahrnehmungserfahrung im Vergleich mit Düften, die TRPA1- und TRPV3-Rezeptoren aktivieren, haben. Es wurde außerdem als der kälteste und am wenigsten warme unter den getesteten Duftstoffen eingestuft. Übereinstimmend mit vorherigen Studien unterstreichen diese Ergebnisse die Bedeutung des TRPM8-Rezeptors für die Beeinflussung der wahrgenommenen temperaturbezogenen Qualität eines Duftes (McKemy et al., 2002). Die Reizantworten, die durch Isopulegol hervorgerufen wurden, waren jedoch deutlich niedriger als die durch TRPV1-Aktivierung hervorgerufenen. Die TRPV1-Aktivierung scheint dem direkten Schutz zu dienen, wohingegen die Aktivierung von TRPM8 von besonderer Bedeutung für die Temperaturwahrnehmung der Umgebung und damit wesentlich für die Langzeitadaptation an Umweltbedingungen zu sein scheint.

8.4 Co-Stimulation des TRPA1-Rezeptors und Perillaaldehyd als TRP-Kanal Agonist mit wenig reizenden, schmerzhaften Eigenschaften

Hinsichtlich der TRPA1-Aktivierung zeigten die zellbasierten Assays, dass zusätzlich zu Perillaaldehyd und CO_2, für die schon in vorherigen Studien eine Aktivierung beschrieben wurde, auch Isopulegol und Carvacrol den TRPA1-Rezeptor stimulieren. Die weitreichende Aktivierung des TRPA1-Rezeptors durch verschiedene Stimuli lässt eine vielseitige Bedeutung innerhalb des trigeminalen Systems und eine Funktion als Detektor diverser chemischer Verbindungen vermuten. Der TRPA1-Rezeptor wird typischerweise mit Schmerzwahrnehmung und neurogener Entzündung assoziiert, ähnlich wie der TRPV1-Kanal. Es ist jedoch nicht ungewöhnlich, dass einige Agonisten von nozizeptiven Transduktionskanälen, den TRPA1-Kanal eingeschlossen, keine reizenden oder beißenden Eigenschaften aufweisen, wenn sie auf die Haut oder Schleimhaut aufgetragen werden (Viana, 2011).

Bei Perillaaldehyd scheint dies aber der Fall zu sein. Von den Teilnehmern wurde es als weniger schmerzhaft, unangenehm und intensiv eingeordnet als die Duftstoffe, die den TRPV1-Rezeptor aktivieren. Die Stärke des wahrgenommenen Schmerzes und die kitzelnde Empfindung waren vergleichbar mit denen der anderen Stimuli. Der Mangel an schmerzhaften Wahrnehmungseigenschaften und die kleinere neuronale Aktivität, die nach Stimulation mit Perillaaldehyd aufgetreten ist, einhergehend mit den ausgeprägteren Reizantworten von Cyclohexanon und CO_2, könnten auf den Zusammenhang zwischen der Duftqualität und dem Grad der physiologischen und neuralen Aktivität hindeuten. Die nozizeptive Stimulation ruft hierbei ausgeprägtere Reizantworten hervor. Dies betont die Bedeutung der Nozizeption für die Anpassung an die Umwelt.

8.5 Zusammenhang zwischen Amplituden und Latenzzeiten

Die Ergebnisse zeigen eine positive Korrelation zwischen ERP/NMP-Amplituden und den Latenzzeiten. Vorherige Studien behaupteten, dass trigeminale Stimuli wie CO_2 verglichen mit olfaktorischen Stimuli wie PEA größere ERP-Amplituden und kürzere Latenzen hervorrufen könnten (Flohr et al., 2015; Hummel et al., 2000; Stuck et al., 2006). Jedoch stimmen unsere Beobachtungen mit diesen Feststellungen nicht überein. Obwohl dies nicht vollständig verstanden ist, unterstreichen die Ergebnisse die Komplexität der Reizwahrnehmung und neuronalen Verarbeitung. Eine mögliche Erklärung könnte es sein, dass nach dem Auftreten größerer Amplituden vor der nachfolgenden neuronalen Verarbeitung zusätzliche Zeit vom sensorischen System benötigt wird, um zum Ausgangswert zurückzukehren. Für diesen Zusammenhang muss in zukünftigen Studien mehr Evidenz erarbeitet werden.

8.6 Vergleich der trigeminalen Duftstoffe mit dem olfaktorischen Duftstoff PEA sowie Betrachtung der trigeminalen Eigenschaften von PEA

Bei dem Vergleich von verschiedenen Stimuli konnte beobachtet werden, dass nicht alle getesteten trigeminalen Duftstoffe wie zum Beispiel Carvacrol oder Perillaaldehyd größere psychophysische oder NMP/ERP-Antworten als PEA hervorrufen. Es konnte gezeigt werden, dass trigeminale Stimuli typischerweise intensiver wahrgenommen werden und größere ERP-Amplituden aufweisen als PEA (Flohr et al., 2015). Unsere Ergebnisse deuten jedoch darauf hin, dass das Hervorrufen einer stärkeren Reizantwort verglichen mit olfaktorischen Stimuli von der Qualität des trigeminalen Duftes und des aktivierten Rezeptors beeinflusst wird. Darüber hinaus wurde berichtet, dass NMPs nicht aufgenommen werden können als Reizantwort auf einen Stimulus wie Schwefelwasserstoff, der hauptsächlich das olfaktorische System aktiviert (Thürauf et al., 1993). Wir zeichneten jedoch deutliche NMPs für PEA auf, welches als selektiver Stimulus für das olfaktorische System betrachtet wird.

Die Verwendung von PEA in unverdünnter Konzentration im Rahmen der Studie und die dadurch aufgetretene Aktivierung trigeminaler Rezeptoren könnte das Auslösen von NMPs erklären. Es wurde bereits berichtet, dass eine Vielzahl von Duftstoffen eine trigeminale Empfindung auslösen kann, wenn die Konzentration entsprechend hoch genug ist (Doty et al., 1978). Für PEA konnte bereits gezeigt werden, dass es zumindest in hohen Konzentrationen über trigeminale Aktivität verfügt (Frasnelli, Hummel et al., 2011). Des Weiteren konnten Genovese et al. eine Veränderung des intrazellulären Calciums von vom Mausmodel primär kultivierten trigeminalen Neuronen nach Stimulation mit PEA in hohen Konzentrationen nachweisen (Genovese et al., 2023).

8.7 Zusammenhang TRP-Kanal und hervorgerufene Wahrnehmung

CO_2 und Cyclohexanon, die beide den TRPV1-Rezeptor aktivieren, wurden am intensivsten und schmerzhaftesten wahrgenommen. Außerdem zeigten sich höhere Spitzenwerte bei der dynamischen Intensitätsbewertung und im Vergleich eine deutlich ausgeprägtere neuronale Aktivierung. Die ähnlichen hervorgerufenen Reizantworten scheinen in engem Zusammenhang mit dem hauptsächlich aktivierten Rezeptor zu stehen. Viele Chemikalien aktivieren mehrere Rezeptoren gleichzeitig (Frasnelli & Manescu, 2017), doch die hervorgerufene Empfindung scheint hauptsächlich vom aktivierten Rezeptor abhängig zu sein. Den Zusammenhang von Rezeptorbindung und Wahrnehmung konnten auch Frasnelli et al. anhand ihrer Versuche zur Lateralisierung von Duftstoffen zeigen, die unterschiedliche Rezeptoren aktivieren. Die Werte des Lateralisierungstests von Duftstoffen, die denselben Rezeptor agonisieren, korrelieren stärker als die von Duftstoffen, die unterschiedliche Rezeptoren ansprechen (Frasnelli, Albrecht et al., 2011). Zudem wurde Isopulegol, das den „Kälterezeptor“ TRPM8 aktiviert, als am kältesten und am wenigsten warm im Vergleich zu den anderen Duftstoffen eingeordnet. Umgekehrt wurde Carvacrol, welches den TRPV3-Rezeptor aktiviert und dessen Aktivierung mit einer warmen Empfindung assoziiert ist, als am wenigsten kalt und am wärmsten bewertet. Zudem zeigt Carvacrol die am wenigsten ausgeprägten Reizantworten. Dies könnte erklärt werden durch die geringere Bedeutung der TRPV3-Rezeptor-Aktivierung für die Regulation des direkten Schutzes im Vergleich mit der beispielsweise über den TRPV1-Rezeptor vermittelten, ausgeprägten Schmerzempfindung. Zusammengefasst unterstreichen diese Ergebnisse den Zusammenhang, der zwischen Rezeptoraktivierung und hervorgerufener Empfindung besteht.

8.8 Empfehlung für weitere Studienmöglichkeiten

Einige Einschränkungen müssen genannt und in zukünftigen Studien verbessert werden. Die meisten Duftstoffe, außer CO_2, stimulieren nicht nur den Nervus trigeminus, sondern auch den Nervus olfactorius. Diese Co-Stimulation führt zu komplexen zentralnervösen Interaktionen. Da sich diese Studie auf die menschliche Wahrnehmung konzentriert, scheint es sinnvoller, Duftstoffe anhand ihrer sensorischen und psychophysischen Merkmale auszuwählen und nicht ausschließlich aufgrund der Ergebnisse von In-Vitro-Zellantworten. Die für diese Studie ausgewählten Rezeptoren aktivierten die entsprechenden Zielrezeptoren wie beschrieben und riefen deutlich unterschiedliche Wahrnehmungseffekte zwischen den verschiedenen Rezeptortypen hervor. Es ist jedoch zu beachten, dass eine Co-Stimulation auf Rezeptorebene stattgefunden hat. Die Komplexität der Co-Aktivierung und die dadurch hervorgerufenen potenziellen Interaktionen erschweren die Interpretation rezeptorspezifischer Effekte. Es ist daher wichtig, diese beeinflussenden Faktoren zu isolieren, um die Zuverlässigkeit der aktuellen Ergebnisse zu bestätigen. Um den Einfluss olfaktorischer Eigenschaften und zentralnervöse Interaktionen zu vermeiden, könnten zukünftige Studien anderer Duftstoffe, jeweils einen einzelnen Rezeptor stimulierend, mit unterschiedlichen Geruchsmerkmalen verwenden oder Patienten, die von einer kongenitalen Anosmie betroffen sind, einschließen. Neben den rezeptorspezifischen Effekten ist es ebenso bedeutend, die Co-Stimulations-Signalwege zu untersuchen, um ein tieferes Verständnis der trigeminalen Wahrnehmung zu gewinnen. Außerdem führt die starke Reizung durch trigeminale Duftstoffe zügig zu Artefakten. Der eben genannte Punkt und die geringe Anzahl an Stimulationen pro Duft, um die Unannehmlichkeit für die Testperson gering zu halten, führten dazu, dass einige Werte hinsichtlich der NMP- und ERP-Daten fehlen. Obwohl die GEE und GLMM verwendet wurden, um die fehlenden Werte bestmöglich auszugleichen, sollten zukünftige Studien mit einer größeren Teilnehmerzahl und mehr Stimulationen pro Duft arbeiten. Ein weiterer Punkt bezieht sich auf Perillaaldehyd, das den TRPA1-Rezeptor aktiviert, aber keine Schmerzempfindungen auslöst, wie sie durch die Aktivierung des TRPV1-Rezeptors hervorgerufen wird. Zukünftige Studien könnten weitere TRPA1-Rezeptor-Agonisten, die eine intensivere Schmerzwahrnehmung hervorrufen, in verschiedenen Konzentrationen untersuchen, um das Verständnis der durch TRP-Rezeptoren vermittelten Empfindungen zu verbessern.

8.9 Schlussfolgerung

Die Aktivierung verschiedener trigeminaler Rezeptoren ruft unterschiedliche psychophysische sowie periphere und zentrale elektrophysiologische Reizantworten hervor. Obwohl es möglicherweise gemeinsame Mechanismen der TRP-Rezeptor Aktivierung gibt, unterliegen die einzelnen Rezeptoren unterschiedlichen Signalverarbeitungswegen, so dass es nicht sinnvoll ist Schlussfolgerungen von einem Rezeptor auf das gesamte trigeminale System zu übertragen.

Die Stimulation des TRPV1-Rezeptors, assoziiert mit einer reizenden Wahrnehmung, löst verglichen mit den anderen Rezeptoren bei gleich wahrgenommener Intensität stärkere psychophysische Antworten und eine deutlichere zentrale und periphere neurale Aktivierung aus.
Dies hebt die Bedeutung der durch TRPV1 ausgelösten Empfindungen für die Anpassung an die Umwelt und das Meiden gefährlicher Reize hervor. Zukünftige Studien sollten jedoch weitere Testungen mit anderen Duftstoffen durchführen, welche selektiv einen bestimmten Rezeptortyp aktivieren, aber über unterschiedliche Duftqualitäten verfügen, um die Zuverlässigkeit der aktuellen Ergebnisse zu bestätigen und fortführend darauf aufzubauen.

9 Zusammenfassung

Es gibt verschiedene Rezeptoren, die durch trigeminale Duftstoffe aktiviert werden und trigeminale Informationen vermitteln. Von besonderer Bedeutung hierbei sind die *transient receptor potential* (TRP)-Kanäle. Da es bislang nur wenige Studien zum Vergleich des Antwortverhaltens trigeminaler TRP-Rezeptoren untereinander gibt, ist das Ziel dieser Arbeit, die psychophysischen und elektrophysiologischen Reizantworten für den TRPM8-, TRPA1-, TRPV3- und TRPV1-Rezeptor miteinander zu vergleichen.

Insgesamt wurden 40 gesunde Probanden untersucht, wobei elektrophysiologische Potenziale peripher bei 24 Teilnehmern (Alter 25,2 ± 2,7 Jahre, 17 Frauen) sowie zentral bei 17 Teilnehmern (Alter 26,7 ± 3,6 Jahre, 12 Frauen) abgeleitet werden konnten. 10 Teilnehmer absolvierten (Alter 25,1 ± 2,6 Jahre, 6 Frauen) eine dynamische Intensitätsbewertung. Zusätzlich zur Hauptstudie wurde die Wahrnehmung der trigeminalen und olfaktorischen Stimuli sowie deren Beschreibung von 12 Teilnehmern (Alter 25,2 ± 1,9 Jahre, 6 Frauen) untersucht. Vor der Teilnahme an der elektrophysiologischen Untersuchung erfolgte eine Anamnese zum Ausschluss von gesundheitlichen Einschränkungen oder Risikofaktoren für ein vermindertes Riechvermögen. Des Weiteren wurde die normale Geruchsfunktion mittels Identifikationstest und Lateralisierungstest überprüft. Für die intranasale Stimulation wurden 4 trigeminale Duftstoffe verwendet: Carvacrol (TRPV3 und TRPA1), Cyclohexanon (TRPV1), Isopulegol (TRPM8 und TRPA1) sowie Perillaaldehyd (TRPA1). Zusätzlich diente CO_2 (TRPV1 +A1) als trigeminaler Kontrollreiz und Phenylethylalkohol (PEA) als olfaktorischer Kontrollreiz. Die Präsentation der Duftstoffe erfolgte mittels Olfaktometer OM6b (Burghart Messtechnik GmbH, Holm) für jeweils 500 ms bei variierendem Interstimulus-Intervall von 27 s bis 33 s beziehungsweise 17 s bis 23 s. Die zentralen ereigniskorrelierten Potenziale (ERP) wurden an den standardisierten Elektrodenpositionen Fz, Cz und Pz der 10/20-Klassifikation und die peripheren negativen Mukosapotenziale (NMP) wurden direkt von der Nasenschleimhaut der mittleren Nasenmuschel abgeleitet.

Es zeigte sich ein signifikanter Effekt des Duftstoffs auf die NMP-Amplituden ($F = 13{,}51–21{,}88$, $p < 0{,}01$). Dabei rief Cyclohexanon (TRPV1) größere N1- und P1N1-Amplituden hervor als PEA, Carvacrol, Pereillaaldehyd und Isopulegol ($t = 3{,}76–7{,}24$, p-Werte $< 0{,}01$). Auch CO_2 (TRPV1 + A1) führte zu größeren Amplituden im Vergleich zu PEA (N1 und P1N1), Carvacrol (P1N1), Pereillaaldehyd (P1N1) und Isopulegol (P1N1) ($t = 3{,}28–7{,}54$, p-Werte $< 0{,}05$). Ähnliche Unterschiede zeigten sich bei den ERP-Amplituden ($F = 3{,}69–12{,}25$, $p < 0{,}05$): CO_2 induzierte größere Amplituden als Carvacrol (P2 an Cz und Pz; N1P2 an Fz und Cz, $t = 3{,}53–4{,}42$, p-Werte $< 0{,}05$). Cyclohexanon erzeugte größere Amplituden im Vergleich zu PEA (N1P2 an Fz, Cz und Pz, $t = 3{,}30–3{,}57$, p-Werte $< 0{,}05$), Carvacrol (P2 an Cz; N1P2 an Fz, $t = 4{,}06–4{,}10$, p-Wert $= 0{,}02$) und Pereillaaldehyd (P2 an Fz und Cz; N1P2 an Cz und Fz, $t = 3{,}13–3{,}95$, p-Werte $< 0{,}05$).

In der dynamischen Intensitätsbewertung zeigten Cyclohexanon, CO_2 und Isopulegol höhere Spitzenbewertungen ($t = 3{,}14–7{,}76$, p-Werte $< 0{,}05$). Darüber hinaus wies Cyclohexanon steilere Anstiegsraten als PEA, Carvacrol und Pereillaaldehyd auf ($t = 3{,}42–4{,}73$, p-Werte $< 0{,}05$) sowie kürzere Latenzen im Vergleich zu Carvacrol, Isopulegol und CO_2 ($t = 3{,}80–5{,}38$, p-Werte $< 0{,}01$). Cyclohexanon und CO_2 wurden als weniger angenehm, intensiver und schmerzhafter wahrgenommen. Isopulegol wurde als am kältesten und wenigsten warm, umgekehrt wurde Carvacrol tendenziell häufiger als wärmer und weniger kalt bewertet. PEA als olfaktorischer Kontrollreiz wurde im Mittel als angenehmer bewertet, zeigte flachere Anstiegskurven, wies aber einen höheren Spitzenwert als Carvacrol in der dynamischen Intensitätsbewertung auf. Außerdem konnten für PEA negative Mukosapotenziale abgeleitet werden, auch wenn die Amplituden tendenziell kleiner waren als die durch die trigeminalen Duftstoffe hervorgerufenen. Zum Teil zeigte PEA kürzere Antwortlatenzen hinsichtlich der peripheren und zentralen Reizantworten. Es konnte eine positive Korrelation von NMP- und ERP-Amplituden sowie von NMP-Amplituden beziehungsweise ERP-Amplituden und Spitzenwerten sowie Steilheit der Anstiegskurven gezeigt werden. Zudem korrelierten NMP- beziehungsweise ERP-Amplituden negativ mit den Antwortlatenzen der dynamischen Intensitätsbewertung.

Die Aktivierung verschiedener intranasaler trigeminaler Rezeptoren führt zu unterschiedlichen psychophysischen und elektrophysiologischen Reizantworten. Besonders hervorzuheben ist dabei die Stimulation des TRPV1-Rezeptors, die mit einer reizenden, schmerzhaften Wahrnehmung einhergeht. Im Vergleich zu den anderen getesteten Rezeptortypen ruft die Aktivierung von TRPV1 bei gleich wahrgenommener Intensität stärkere psychophysische Reizantworten sowie eine ausgeprägtere zentrale und periphere neuronale Aktivierung hervor. Dies unterstreicht die besondere Bedeutung TRPV1-vermittelter Empfindungen für die adaptive Auseinandersetzung mit der Umwelt und das Vermeiden potenziell gefährlicher Reize. Zukünftige Studien sollten weitere Testungen mit anderen Duftstoffen durchführen, die selektiv jeweils einen bestimmten Rezeptortyp aktivieren, dabei jedoch unterschiedliche Duftqualitäten aufweisen. Dies würde dazu beitragen, die Zuverlässigkeit der aktuellen Ergebnisse zu überprüfen und das Wissen sowie das Verständnis der Reizverarbeitung trigeminalen TRP-Rezeptoren weiter zu vertiefen.

10 Summary

Various receptors are activated by trigeminal odorants and transmit trigeminal information. Of particular importance here are the transient receptor potential (TRP) channels. Since there are few studies to date comparing the response behavior of trigeminal TRP receptors among themselves, the aim of this work is to compare the psychophysical and electrophysiological responses for the TRPM8, TRPA1, TRPV3, and TRPV1 receptors.

A total of 40 healthy subjects were examined. Electrophysiological potentials could be recorded peripherally in 24 participants (age 25.2 ± 2.7 years, 17 women) and centrally in 17 participants (age 26.7 ± 3.6 years, 12 women). Ten participants (age 25.1 ± 2.6 years, 6 women) completed a dynamic intensity rating. Additionally, in addition to the main study, the perception and description of trigeminal and olfactory stimuli were investigated in 12 participants (age 25.2 ± 1.9 years, 6 women). Before participating in the electrophysiological examination, a medical history was taken to exclude health limitations or risk factors for impaired olfactory function. Furthermore, normal olfactory function was verified using an identification test and a lateralization test. For intranasal stimulation, 4 trigeminal odorants were used: Carvacrol (TRPV3 and TRPA1), Cyclohexanone (TRPV1), Isopulegol (TRPM8 and TRPA1), and Perillaldehyde (TRPA1). Additionally, CO_2 (TRPV1+A1) served as a trigeminal control stimulus and phenylethyl alcohol (PEA) as an olfactory control stimulus. The odorants were presented using an Olfactometer OM6b (Burghart Messtechnik GmbH, Holm) for 500 ms each, with varying interstimulus intervals of 27 s to 33 s or 17 s to 23 s. Central event-related potentials (ERPs) were recorded at the standardized electrode positions Fz, Cz, and Pz of the 10/20 classification, and peripheral negative mucosal potentials (NMPs) were recorded directly from the nasal mucosa of the middle turbinate.

A significant effect of the odorant on NMP amplitudes was observed ($F = 13.51–21.88$, $p < 0.01$). Cyclohexanone (TRPV1) evoked larger N1 and P1N1 amplitudes than PEA, Carvacrol, Perillaldehyde, and Isopulegol ($t = 3.76–7.24$, p-values < 0.01). CO_2 (TRPV1 + A1) also led to larger amplitudes compared to PEA (N1 and P1N1), Carvacrol (P1N1), Perillaldehyde (P1N1), and Isopulegol (P1N1) ($t = 3.28–7.54$, p-values < 0.05). Similar differences were observed in ERP amplitudes ($F = 3.69–12.25$, $p < 0.05$): CO_2 induced larger amplitudes than Carvacrol (P2 at Cz and Pz; N1P2 at Fz and Cz, $t = 3.53–4.42$, p-values < 0.05). Cyclohexanone generated larger amplitudes compared to PEA (N1P2 at Fz, Cz, and Pz, $t = 3.30–3.57$, p-values < 0.05), Carvacrol (P2 at Cz; N1P2 at Fz, $t = 4.06–4.10$, p-values = 0.02), and Perillaldehyde (P2 at Fz and Cz; N1P2 at Cz and Fz, $t = 3.13–3.95$, p-values < 0.05). In the dynamic intensity rating, Cyclohexanone, CO_2, and Isopulegol showed higher peak ratings ($t = 3.14–7.76$, p-values < 0.05).

Furthermore, Cyclohexanone exhibited steeper rise rates than PEA, Carvacrol, and Perillaldehyde ($t = 3.42–4.73$, p-values < 0.05), as well as shorter latencies compared to Carvacrol, Isopulegol, and CO_2 ($t = 3.80–5.38$, p-values < 0.01).

Cyclohexanone and CO_2 were perceived as less pleasant, more intense, and more painful. Isopulegol was perceived as the coldest and least warm, conversely, Carvacrol tended to be rated more frequently as warmer and less cold. PEA, as an olfactory control stimulus, was on average rated as more pleasant, showed shallower rise curves, but had a higher peak value than Carvacrol in the dynamic intensity rating. Additionally, negative mucosal potentials could be recorded for PEA, although the amplitudes tended to be smaller than those elicited by trigeminal odorants. In part, PEA showed shorter response latencies regarding peripheral and central responses. A positive correlation was shown between NMP and ERP amplitudes, as well as between NMP amplitudes/ERP amplitudes and peak values and the steepness of the rise curves. Furthermore, NMP/ERP amplitudes negatively correlated with the response latencies of the dynamic intensity rating.

The activation of various intranasal trigeminal receptors leads to different psychophysical and electrophysiological responses. Of particular note is the stimulation of the TRPV1 receptor, which is associated with an irritating, painful sensation. Compared to the other receptor types tested, activation of TRPV1, at the same perceived intensity, evokes stronger psychophysical responses as well as more pronounced central and peripheral neuronal activation. This underlines the particular importance of TRPV1-mediated sensations for adaptive interaction with the environment and the avoidance of potentially dangerous stimuli. Future studies should conduct further tests with other odorants that selectively activate a specific receptor type but exhibit different odor qualities. This would help to verify the reliability of the current results and further deepen knowledge and understanding of stimulus processing by trigeminal TRP receptors.

11 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Topografisch-histologische Gliederung des Naseninnenraums (modifiziert nach Bommas-Ebert et al., 2011) 4

Abbildung 2: Signalweg für die Weitergabe trigeminaler Informationen von der Nasenschleimhaut (A… Trigeminale Nervenendigungen; B… Ganglion trigeminale, in dem sich die Zellkörper der trigeminalen Neurone befinden; C…Hirnstamm - Ort der ersten synaptischen Umschaltung; D… Thalamus - Ort der zweiten synaptischen Umschaltung; E…somatosensorischer Kortex; Der vordere Bereich der Nase wird durch Äste des N. ophthalmicus V1 (Rot) versorgt, während die Innervation des hinteren Abschnitts durch Äste des N. maxillaris V2 (Blau) erfolgt. Die Weitergabe der Information erfolgt in somatotopischer Ordnung.) 7

Abbildung 3: Aufbau einer Untereinheit eines TRPV1-Kanals (1…N-Terminus; 2…C-Terminus; 3…Domänen S5 und S6 mit verbindendender hydrophober Schlaufe, die an der Bildung der Kanalöffnung beteiligt sind; 4…Zellmembran) 10

Abbildung 4: Eine Übersicht über den Ablauf der Studie wird abgebildet. Oben dargestellt ist der Ablauf des ersten Teilabschnitts mit Aufklärung, Einwilligung und Anamnese sowie der Testung des Riechvermögens mit Identifikationstest und anschließender Abfrage von Intensität und Hedonik nach Duftpräsentation mittels Olfaktometer. Unten dargestellt ist der zweite Teilabschnitt mit Lateralisierungs-Test zur Überprüfung der trigeminalen Funktion, Einübung der velopharyngealen Verschlussatmung und Ableitung der peripheren und zentralen Reizantworten nach trigeminaler Stimulation. 22

Abbildung 5: Links in der Abbildung zu sehen ist der Identifikationstest mit den 16 Riechstiften „Sniffin Sticks“ und rechts die Antworttafeln mit je 4 Auswahloptionen pro Duft. 24

Abbildung 6: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips des portablen Olfaktometers (1…Die Luft wird über das laboreigene Verteilungssystem eingespeist und durch einen Aktivkohlefilter von möglichen Kontaminationen gereinigt.; 2…Abhängig von der Ventilposition handelt es sich um den Kompensations- oder Duftluftstrom. Ein Wechsel zwischen der Präsentation von duftfreier und mit Duft angereicherter Luft ist über einen Positionswechsel des Ventils von A nach B möglich.; 3…Der Aspirationsluftstrom wird eingeschaltet während des Interstimulusintervalls und dient der Reinigung des Systems.; 4…Der Trägerluftstrom wird, während der Reizabgabe um den Wert des Aspirationsluftstroms verringert, so ist die Präsentation eines konstanten Luftstroms möglich. Dieser vermischt sich im Mischkopf mit Kompensations- oder Duftluftstrom und wird anschließend zur Nase des Probanden weitergeleitet.) 25

Abbildung 7: Olfaktometer mit angeschlossenem Mischkopf und Atmungssensor (1…Mischkopf; 2…mit Duftstoff beladenes U-Röhrchen, in jede Seite wurde ein mit 1 ml Duftlösung angereicherter Wattestreifen eingelegt; 3…Ausgang zum Probanden;

4…Atmungssensor; 5…Luftstrom für Dufteinheit; 6…Trägerluftstrom; 7…Vakuum; 8…Kompensationsluftstrom) 27
Abbildung 8: „Quetschvorrichtung“ für den Lateralisierungstest 28
Abbildung 9: Dargestellt ist die Position der endoskopisch platzierten Nasenelektrode auf der mittleren Nasenmuschel. In dasselbe Nasenloch wird außerdem der Schlauch für die Duftapplikation eingeführt. Zu sehen sind außerdem die platzierten Elektroden für die Ableitung der zentralen Potentiale an den Positionen Fz, Cz und Pz.....30
Abbildung 10: Aufnahme des in der Studie verwendeten Olfaktometers (A), Aufnahme eines Probanden während der Untersuchung (B), Aufnahme des verwendeten EEG-Verstärkers (C) (1a…Steuerungseinheiten für die Module; 2a…Modul für den Kontrollluftstrom; 3a…Modul für den Verdünnungsluftstrom; 4a… Module für Duftluftströme; 1…Verstärker; 2…Maus für die Verfolgungsaufgabe auf dem Computerbildschirm; 3…Kopfelektrode; 4…Kopfhörer mit White Noise; 5…Brille zur Fixation der Nasenelektrode; 6…Nasenelektrode; 7…“Duftschlauch“). 31
Abbildung 11: Darstellung der absoluten Häufigkeiten der gewählten Deskriptoren für die Duftstoffe PEA, Carvacrol, Cyclohexanon, Perillaaldehyd, Isopulegol und CO_2. Am häufigsten gewählt wurden die Deskriptoren „frisch“ (7) und „warm“ (7) für PEA, „kitzelnd“ (6) und „warm“ (6) für Carvacrol. „stechend“ (8) für Cyclohexanon, „frisch“ (12) für Isopulegol, „kitzelnd“ (6) für Perillaaldehyd und „schmerzhaft“ (8) für CO_2. 38
Abbildung 12: Bewertungen der durch die Düfte PEA, Carvacrol, Cyclohexanon, Isopulegol, Perillaaldehyd und CO_2 hervorgerufenen Empfindungen. Erfasst wurden Kälte-, Wärme- und kitzelnde Empfindung, Schmerzhaftigkeit sowie wahrgenommene Intensität (Skala 0–10) und Angenehmheit (Skala –5 bis +5). Die unterschiedlichen Dicken der farbigen Formen repräsentieren die Häufigkeitsverteilung der Bewertungen. Signifikante Unterschiede sind durch schwarze Querlinien markiert, wobei *p < 0,05, **p < 0,01 und ***p < 0,001 anzeigen. 39
Abbildung 13: Verläufe der dynamischen Intensitätsbewertungen für die Duftstoffe PEA, Cyclohexanon, CO_2, Perillaaldehyd, Isopulegol und Carvacrol. Die helleren Linien repräsentieren die individuellen Verläufe der einzelnen Teilnehmer, während die dunklere Linie den Mittelwert zeigt. Auf der x-Achse ist die Zeit in Sekunden (s) aufgetragen, während die y-Achse die Intensitätsbewertung auf einer Skala von 34 bis 70 darstellt. Zudem ist die Fläche unter der Kurve (Area Under the Curve, AUC) unter den jeweiligen Duftüberschriften ersichtlich. 40
Abbildung 14: Schematische Darstellung der Ableitungspositionen. Blau gekennzeichnet ist die Ableitung der peripheren Potentiale der Nasenschleimhaut, rot gekennzeichnet ist die Position Fz für die Ableitung der zentralen Potentiale, gelb gekennzeichnet ist die Position Cz für die Ableitung der zentralen Potentiale und lila gekennzeichnet ist die Position Pz für die Ableitung der zentralen Potentiale. 41

Abbildung 15: Es sind die gemittelten Ableitungen der peripheren Potentiale für die Duftstoffe PEA, Carvacrol, Perillaaldehyd, Isopulegol, Cyclohexanon und CO_2 in niedriger (rot) und hoher Konzentration (blau) dargestellt. Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. 42
Abbildung 16: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff Carvacrol in niedriger (links) und hoher Konzentration (rechts). Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz - lila. 43
Abbildung 17: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff CO_2 in niedriger (links) und hoher Konzentration (rechts). Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz - lila. 43
Abbildung 18: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff Cyclohexanon in niedriger (links) und hoher Konzentration (rechts). Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz - lila. 44
Abbildung 19: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff Isopulegol in niedriger (links) und hoher Konzentration (rechts). Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz - lila. 44
Abbildung 20: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff Perillaaldehyd in niedriger (links) und hoher Konzentration (rechts). Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz - lila. 45
Abbildung 21: Gemittelte EEG-Ableitungen an den Positionen Fz, Cz und Pz für den Duftstoff PEA in hoher Konzentration. Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Rechts unten ist die Zuordnung von Farbe und Ableitung abgebildet: Ableitung Fz – orange, Cz - gelb und Pz – lila. 45
Abbildung 22: Zum Vergleich der Duftstoffe untereinander sind die gemittelten EEG-Ableitungen an den Positionen Fz (orange), Cz (gelb) und Pz (lila) für die Duftstoffe PEA als olfaktorische Kontrolle, Carvacrol (TRPV3 + A1), Perillaaldehyd (TRPA1), Isopulegol (TRPM8 + A1), Cyclohexanon (TRPV1) und CO_2 (TRPV1 + A1) in hoher Konzentration dargestellt.

Auf der y-Achse ist die Spannung in Nanovolt (nV) und auf der x-Achse die Zeit in Sekunden (s) angegeben. Aufgrund der wahrscheinlich höheren Aussagekraft der Ergebnisse der Testungen mit den hohen Konzentrationen, weitere Erklärungen siehe Diskussion, wurden diese hier zum Vergleich gewählt. 46

12 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stichpunktartige Zusammenfassung der Ein- und Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie 23

Tabelle 2: Antwortmöglichkeiten und die Musterlösung des Identifikationstests mit der korrekten Auswahl in Grün und kursiv 24

Tabelle A 1: Verwendete Duftstoffe der Vorstudie mit portablem Olfaktometer 75

Tabelle A 2: Verwendete Duftstoffe für die Ableitungen der zentralen und peripheren Potentiale 76

13 Abkürzungsverzeichnis

°C ..... *Grad Celsius*
µV ..... *Mikrovolt*
cAMP ..... *cyclisches Adenosinmonophosphat*
cm ..... *Zentimeter*
Cz ..... *Central-zero*
dB ..... *Dezibel*
DEG ..... *Degenerin*
EEG ..... *Elektroenzephalogramm*, *Elektroenzephalographie*
ENaC ..... *Epithelialer Natriumkanal*
ERP ..... *Ereigniskorrelierte Potentiale*
FLIPR ..... *fluorometric imaging plate reader*
fMRT ..... *funktionelle Magnetresonanztomographie*
Fp1 ..... *frontopolar1*
Fp2 ..... *frontopolar2*
Fz ..... *frontal-zero*
Ggl. ..... *Ganglion*
GLMM ..... *Generalisierte lineare Mischmodelle*
G_{olf} ..... *Olfaktorisches G-Protein*, *Olfaktorisches G-Protein*
HNO ..... *Hals-Nasen-Ohren*
Hz ..... *Hertz*
ISI ..... *Interstmilusinterval*
l/min ..... *Liter pro Minute*
M. ..... *Musculus*
ml ..... *Milliliter*
mm ..... *Millimeter*
mmHg ..... *Millimeter Quecksilbersäule*
N. ..... *Nervus*
N1 ..... *Erster negativer Gipfel der Reizantwort*
N1 P2 ..... *Spitze-zu-Spitze-Amplitude zwischen N1 und P2*
Ncl. ..... *Nucleus*
NMP ..... *Negatives Mukosapotential*
ORN ..... *olfaktorische Rezeptorneurone*
P1N1 ..... *Spitze-zu-Spitze-Amplitude zwischen P1 und N1*
P2 ..... *Zweiter positiver Gipfel der Reizantwort*
PEA ..... *Phenylethyl Alkohol*
$PetCO_2$ ..... *Partialdruck des endtidalen CO_2*
Proc. ..... *Processus*
Pz ..... *parietal-zero*
Rr. ..... *Rami*
SCCs ..... *Solitary Chemosensory Cells*, solitary chemosensory cells
tERP ..... *trigeminal-ereigniskorrelierte Potenzial*
TRP ..... *Transient Receptor Potential*
TRPA1 ..... transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1
TRPM8 ..... *transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 8*
TRPV1 ..... *transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 1*
TRPV3 ..... *transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 3*
TRPV4 ..... *transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 4*
V ..... *Volt*
V_1 ..... *Erster Ast des fünften Hirnnerv*
V_2 ..... *Zweiter Ast des fünften Hirnnerv*
V_3 ..... *Dritter Ast des fünften Hirnnerv*
$\dot{V}_I$ ..... *Volumenstrom Inspiration*

Literaturverzeichnis

Akiba, Y., Mizumori, M., Kuo, M., Ham, M., Guth, P. H., Engel, E. & Kaunitz, J. D. (2008). CO2 chemosensing in rat oesophagus. *Gut*, *57*(12), 1654–1664. https://doi.org/10.1136/gut.2007.144378

Albrecht, J., Kopietz, R., Frasnelli, J., Wiesmann, M., Hummel, T. & Lundström, J. N. (2010). The neuronal correlates of intranasal trigeminal function-an ALE meta-analysis of human functional brain imaging data. *Brain Research Reviews*, *62*(2), 183–196. https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2009.11.001

Aumüller, G. & Wennemuth, G. (2017). Nase und Nasennebenhöhlen. In G. Aumüller, G. Aust, J. Engele, J. Kirsch, G. Maio, A. Mayerhofer, S. Mense & D. Reißig (Hrsg.), *Duale Reihe. Anatomie* (4., aktualisierte Auflage, S. 1039–1048). Thieme.

Bakdash, J. Z. & Marusich, L. R. (2017). Repeated Measures Correlation. *Frontiers in psychology*, *8*, 456. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00456

Bandell, M., Macpherson, L. J. & Patapoutian, A. (2007). From chills to chilis: mechanisms for thermosensation and chemesthesis via thermoTRPs. *Current opinion in neurobiology*, *17*(4), 490–497. https://doi.org/10.1016/j.conb.2007.07.014

Bandell, M., Story, G. M., Hwang, S. W., Viswanath, V., Eid, S. R., Petrus, M. J., Earley, T. J. & Patapoutian, A. (2004). Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin. *Neuron*, *41*(6), 849–857. https://doi.org/10.1016/s0896-6273(04)00150-3

Barnett, E. M., Evans, G. D., Sun, N., Perlman, S. & Cassell, M. D. (1995). Anterograde tracing of trigeminal afferent pathways from the murine tooth pulp to cortex using herpes simplex virus type 1. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *15*(4), 2972–2984. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-04-02972.1995

Bassoli, A., Borgonovo, G., Caimi, S., Scaglioni, L., Morini, G., Moriello, A. S., Di Marzo, V. & Petrocellis, L. de (2009). Taste-guided identification of high potency TRPA1 agonists from Perilla frutescens. *Bioorganic & medicinal chemistry*, *17*(4), 1636–1639. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.12.057

Bommas-Ebert, U., Teubner, P. & Voß, R. (2011). *Kurzlehrbuch Anatomie: Und Embryologie* (3., aktualisierte und erweiterte Auflage). *Kurzlehrbuch*. Thieme. http://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:bsz:24-epflicht-1913650

Boonen, B., Startek, J. B. & Talavera, K. (2017). Chemical Activation of Sensory TRP Channels. In D. Krautwurst (Hrsg.), *Topics in Medicinal Chemistry: Bd. 23. Taste and smell* (Bd. 23, S. 73–113). Springer.

Bouvet, J. F., Delaleu, J. C. & Holley, A. (1987). Olfactory receptor cell function is affected by trigeminal nerve activity. *Neuroscience letters*, *77*(2), 181–186. https://doi.org/10.1016/0304-3940(87)90583-0

Boyle, J. A., Heinke, M., Gerber, J., Frasnelli, J. & Hummel, T. (2007). Cerebral activation to intranasal chemosensory trigeminal stimulation. *Chemical senses*, *32*(4), 343–353. https://doi.org/10.1093/chemse/bjm004

Brauchi, S., Orta, G., Salazar, M., Rosenmann, E. & Latorre, R. (2006). A hot-sensing cold receptor: C-terminal domain determines thermosensation in transient receptor potential channels. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *26*(18), 4835–4840. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5080-05.2006

Cain, W. S. (1976). Olfaction and the common chemical sense: some psychophysical contrasts. *Sensory processes*, *1*(1), 57–67.

Cain, W. S. & Murphy, C. L. (1980). Interaction between chemoreceptive modalities of odour and irritation. *Nature*, *284*(5753), 255–257. https://doi.org/10.1038/284255a0

Carskadon, M. A. & Herz, R. S. (2004). Minimal olfactory perception during sleep: why odor alarms will not work for humans. *Sleep*, *27*(3), 402–405.

Caterina, M. J. & Julius, D. (1999). Sense and specificity: a molecular identity for nociceptors. *Current opinion in neurobiology*, *9*(5), 525–530. https://doi.org/10.1016/S0959-4388(99)00009-4

Caterina, M. J., Schumacher, M. A., Tominaga, M., Rosen, T. A., Levine, J. D. & Julius, D. (1997). The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, *389*(6653), 816–824. https://doi.org/10.1038/39807

Cattaneo, A. M., Bobkov, Y. V., Corey, E. A., Borgonovo, G. & Bassoli, A. (2017). Perilla Derived Compounds Mediate Human TRPA1 Channel Activity. *Medicinal & Aromatic Plants*, *06*(01). https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000283

Cervero, F. (2012). *Understanding pain: Exploring the perception of pain*. MIT Press. https://doi.org/10.7551/mitpress/8940.001.0001?locatt=mode:legacy

Chen, A. C. N., Chapman, R. C. & Harkins, S. W. (1979). Brain evoked potentials are functional correlates of induced pain in man. *Pain*, *6*(3), 365–374. https://doi.org/10.1016/0304-3959(79)90054-X

Christie, J. M. & Westbrook, G. L. (2006). Lateral excitation within the olfactory bulb. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *26*(8), 2269–2277. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4791-05.2006

Covington, J., Geisler, M., Morgan C., Ellison, D. & Murphy, C. (1996). Olfactory Bioresponses in Man: Optimal number of trials to obtain a reliable olfactory event-related potential, *21*(4), 489–490. https://doi.org/10.1093/chemse/21.4.481

Dalton, P. (2001). Psychophysical methods in the study of olfaction and respiratory tract irritation. *AIHAJ : a journal for the science of occupational and environmental health and safety*, *62*(6), 705–710. https://doi.org/10.1080/15298660108984678

Dalton, P., Dilks, D. & Hummel, T. (2006). Effects of long-term exposure to volatile irritants on sensory thresholds, negative mucosal potentials, and event-related potentials. *Behavioral neuroscience*, *120*(1), 180–187. https://doi.org/10.1037/0735-7044.120.1.180

Delank, K.-W. (1998). Subjektive und objektive Methoden zur Beurteilung der Richfunktion. *HNO*, *46*(2), 182–190. https://doi.org/10.1007/s001060050222

Doty, R. L., Brugger, W. E., Jurs, P. C., Orndorff, M. A., Snyder, P. J. & Lowry, L. D. (1978). Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiology & behavior*, *20*(2), 175–185. https://doi.org/10.1016/0031-9384(78)90070-7

Filiou, R.-P., Lepore, F., Bryant, B., Lundström, J. N. & Frasnelli, J. (2015). Perception of trigeminal mixtures. *Chemical senses*, *40*(1), 61–69. https://doi.org/10.1093/chemse/bju064

Finger, T. E., Böttger, B., Hansen, A., Anderson, K. T., Alimohammadi, H. & Silver, W. L. (2003). Solitary chemoreceptor cells in the nasal cavity serve as sentinels of respiration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*(15), 8981–8986. https://doi.org/10.1073/pnas.1531172100

Finger, T. E., Getchell, M. L., Getchell, T. V. & Kinnamon, J. C. (1990). Affector and Effector Functions of Peptidergic Innervation of the Nasal Cavity. In B. G. Green, J. R. Mason & M. R. Kare (Hrsg.), *Chemical senses: v. 2. Irritation* (S. 1–17). Dekker.

Flohr, E. L. R., Boesveldt, S., Haehner, A., Iannilli, E., Sinding, C. & Hummel, T. (2015). Time-course of trigeminal versus olfactory stimulation: evidence from chemosensory evoked potentials. *International journal of psychophysiology : official journal of the International*

Organization of Psychophysiology, *95*(3), 388–394. https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2015.01.014

Frasnelli, J., Albrecht, J., Bryant, B. & Lundström, J. N. (2011). Perception of specific trigeminal chemosensory agonists. *Neuroscience*, *189*, 377–383. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.04.065

Frasnelli, J. & Hummel, T. (2007). Interactions between the chemical senses: trigeminal function in patients with olfactory loss. *International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology*, *65*(3), 177–181. https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2007.03.007

Frasnelli, J., Hummel, T., Berg, J., Huang, G. & Doty, R. L. (2011). Intranasal localizability of odorants: influence of stimulus volume. *Chemical senses*, *36*(4), 405–410. https://doi.org/10.1093/chemse/bjr001

Frasnelli, J., Schuster, B. & Hummel, T. (2007). Subjects with congenital anosmia have larger peripheral but similar central trigeminal responses. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, *17*(2), 370–377. https://doi.org/10.1093/cercor/bhj154

Frasnelli, J. & Hummel, T. (2003). Age-related decline of intranasal trigeminal sensitivity: is it a peripheral event? *Brain research*, *987*(2), 201–206. https://doi.org/10.1016/s0006-8993(03)03336-5

Frasnelli, J. & Manescu, S. (2017). The intranasal trigeminal system. In A. Buettner (Hrsg.). *Springer Handbook of Odor* (S. 881–895). Springer International Publishing.

Frasnelli, J., Ungermann, M. & Hummel, T. (2008). Ortho- and Retronasal Presentation of Olfactory Stimuli Modulates Odor Percepts. *Chemosensory Perception*, *1*(1), 9–15. https://doi.org/10.1007/s12078-007-9000-2

Genovese, F., Xu, J., Tizzano, M. & Reisert, J. (2023). Quantifying Peripheral Modulation of Olfaction by Trigeminal Agonists. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *43*(47), 7958–7966. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0489-23.2023

Handwerker, H. O., Iggo, A. & Zimmermann, M. (1975). Segmental and supraspinal actions on dorsal horn neurons responding to noxious and non-noxious skin stimuli. *Pain*, *1*(2), 147–165. https://doi.org/10.1016/0304-3959(75)90099-8

Hatt, H. (2004). Molecular and cellular basis of human olfaction. *Chemistry & biodiversity*, *1*(12), 1857–1869. https://doi.org/10.1002/cbdv.200490142

Hernandez, A. K. & Hummel, T. (2023). Intranasal trigeminal function in chronic rhinosinusitis: a review. *Expert review of clinical immunology*, *19*(8), 921–938. https://doi.org/10.1080/1744666X.2023.2231149

Holy, R., Janouskova, K., Vasina, L., Maute, E., Kalfert, D., Maminak, K., Augste, E., Hlozek, J., Schulz, H., Funda, D. & Astl, J. (2023). Olfactory event-related potentials (OERPs) and trigeminal event-related potentials (TERPs) - a pilot study in Czech participants with normal sense of smell. *Journal of applied biomedicine*, *21*(4), 167–173. https://doi.org/10.32725/jab.2023.020

Hummel, T., Gruber, M., Pauli, E. & Kobal, G. (1994). Chemo-somatosensory event-related potentials in response to repetitive painful chemical stimulation of the nasal mucosa. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, *92*(5), 426–432. https://doi.org/10.1016/0168-5597(94)90020-5

Hummel, T., Klimek, L., Welge-Lüssen, A., Wolfensberger, G., Gudziol, H., Renner, B. & Kobal, G. (2000). Chemosensorisch evozierte Potentiale zur klinischen Diagnostik von Riechstörungen [Chemosensory evoked potentials for clinical diagnosis of olfactory disorders]. *HNO*, *48*(6), 481–485. https://doi.org/10.1007/s001060050602

Hummel, T. & Kobal, G. Olfactory Event-Related Potentials. In *Simon, Nicolelis (Hg.) 2002 – Methods in chemosensory research* (S. 430–450).

Hummel, T. & Kobal, G. (1990). Brain responses to chemical stimulation of the trigeminal nerve in man. In B. G. Green, J. R. Mason & M. R. Kare (Hrsg.), *Chemical senses: v. 2. Irritation* (S. 123–139). Dekker.

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. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, *256*(1), 16–21. https://doi.org/10.1007/s004050050115

Hummel, T., Kraetsch, H. G., Pauli, E. & Kobal, G. (1998). Responses to nasal irritation obtained from the human nasal mucosa. *Rhinology*, *36*(4), 168–172.

Hummel, T., Livermore, A., Hummel, C. & Kobal, G. (1992). Chemosensory event-related potentials in man: relation to olfactory and painful sensations elicited by nicotine. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, *84*(2), 192–195. https://doi.org/10.1016/0168-5597(92)90025-7

Hummel, T., Schiessl, C., Wendler, J. & Kobal, G. (1996). Peripheral electrophysiological responses decrease in response to repetitive painful stimulation of the human nasal mucosa. *Neuroscience letters*, *212*(1), 37–40. https://doi.org/10.1016/0304-3940(96)12767-1

Hummel, T., Sekinger, B., Wolf, S. R., Pauli, E. & Kobal, G. (1997). 'Sniffin' sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chemical senses*, *22*(1), 39–52. https://doi.org/10.1093/chemse/22.1.39

Hummel, T. & Welge-Lüssen, A. (2008). Erfassung des Riech- und Schmeckvermögens: Psychophysische Untersuchung des Riechvermögens. In T. Hummel & A. Welge-Lüssen (Hrsg.). *Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie und therapeutische Ansätze* (1. Auflage, S. 44–54). Thieme.

Hummel, T. & Frasnelli, J. (2019). The intranasal trigeminal system. *Handbook of clinical neurology*, *164*, 119–134. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63855-7.00008-3

Hummel, T., Futschik, T., Frasnelli, J. & Hüttenbrink, K.-B. (2003). Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli. *Toxicology letters*, *140-141*, 273–280. https://doi.org/10.1016/s0378-4274(03)00078-x

Jones, A. S., Crosher, R., Wight, R. G., Lancer, J. M. & Beckingham, E. (1987). The effect of local anaesthesia of the nasal vestibule on nasal sensation of airflow and nasal resistance. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences*, *12*(6), 461–464. https://doi.org/10.1111/j.1365-2273.1987.tb00233.x

Joshi, A., Thaploo, D., Yan, X., Zang, Y., Warr, J. & Hummel, T. (2021). Habitual Exposure to Trigeminal Stimuli and Its Effects on the Processing of Chemosensory Stimuli. *Neuroscience*, *470*, 70–77. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2021.07.006

Karunanayaka, P. R., Lu, J., Elyan, R., Yang, Q. X. & Sathian, K. (2024). Olfactory-trigeminal integration in the primary olfactory cortex. *Human brain mapping*, *45*(10), e26772. https://doi.org/10.1002/hbm.26772

Kaulich, E., Grundy, L. J., Schafer, W. R. & Walker, D. S. (2023). The diverse functions of the DEG/ENaC family: linking genetic and physiological insights. *The Journal of physiology*, *601*(9), 1521–1542. https://doi.org/10.1113/JP283335

Kawai, M., Zhao, J., Ishiguro, H. & Takeyama, H. (2014). Carbon dioxide-pneumoperitoneum in rats reduces ischemia/reperfusion-induced hepatic apoptosis and inflammatory responses by stimulating sensory neurons. *Molecular medicine reports*, *10*(3), 1303–1308. https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2329

Kim, K. S., Yoo, H. Y., Park, K. S., Kim, J. K., Zhang, Y.-H. & Kim, S. J. (2012). Differential effects of acute hypoxia on the activation of TRPV1 by capsaicin and acidic pH. *The journal of physiological sciences : JPS*, *62*(2), 93–103. https://doi.org/10.1007/s12576-011-0185-4

Kobal, G., van Toller, S. & Hummel, T. (1989). Is there directional smelling? *Experientia*, *45*(2), 130–132. https://doi.org/10.1007/BF01954845

Kobal, G [Gerd]. (1981). *Elektrophysiologische Untersuchungen des menschlichen Geruchssinns*. Zugl.: Erlangen-Nürnberg, Univ., Habil.-Schr. *Thieme-Copythek*. Thieme.

Kwak, J. (2012). Capsaicin Blocks the Hyperpolarization-Activated Inward Currents via TRPV1 in the Rat Dorsal Root Ganglion Neurons. *Experimental Neurobiology*, *21*(2), 75–82. https://doi.org/10.5607/en.2012.21.2.75

Lang, J. (1989). *Clinical anatomy of the nose, nasal cavity, and paranasal sinuses*. Thieme Medical; Georg Thieme.

Laska, M., Distel, H. & Hudson, R. (1997). Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects. *Chemical senses*, *22*(4), 447–456. https://doi.org/10.1093/chemse/22.4.447

Liu, L., Pugh, W., Ma, H. & Simon, S. A. (1993). Identification of acetylcholine receptors in adult rat trigeminal ganglion neurons. *Brain research*, *617*(1), 37–42. https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90609-q

Livermore, A., Hummel, T. & Kobal, G. (1992). Chemosensory event-related potentials in the investigation of interactions between the olfactory and the somatosensory (trigeminal) systems. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, *83*(3), 201–210. https://doi.org/10.1016/0013-4694(92)90145-8

Mackenzie, R. A., Burke, D., Skuse, N. F. & Lethlean, A. K. (1975). Fibre function and perception during cutaneous nerve block. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, *38*(9), 865–873. https://doi.org/10.1136/jnnp.38.9.865

Macpherson, L. J., Dubin, A. E., Evans, M. J., Marr, F., Schultz, P. G., Cravatt, B. F. & Patapoutian, A. (2007). Noxious compounds activate TRPA1 ion channels through covalent modification of cysteines. *Nature*, *445*(7127), 541–545. https://doi.org/10.1038/nature05544

Macpherson, L. J., Hwang, S. W., Miyamoto, T., Dubin, A. E., Patapoutian, A. & Story, G. M. (2006). More than cool: Promiscuous relationships of menthol and other sensory compounds. *Molecular and cellular neurosciences*, *32*(4), 335–343. https://doi.org/10.1016/j.mcn.2006.05.005

Mai, Y., Hernandez, A. K., Konstantinidis, I., Haehner, A. & Hummel, T. (2024). Normative data for the lateralization task in the assessment of intranasal trigeminal function. *Rhinology.* https://doi.org/10.4193/Rhin24.063

Mattle, H. & Fischer, U. (2021). Zusatzuntersuchungen in der Neurologie: Elektrophysiologische Untersuchungsmethoden. In H. Mattle & U. Fischer (Hrsg.). *Kurzlehrbuch Neurologie* (5., überarbeitete Auflage, S. 95–103). Georg Thieme Verlag KG.

McKemy, D. D., Neuhausser, W. M. & Julius, D. (2002). Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature*, *416*(6876), 52–58. https://doi.org/10.1038/nature719

Meusel, T., Negoias, S., Scheibe, M. & Hummel, T. (2010). Topographical differences in distribution and responsiveness of trigeminal sensitivity within the human nasal mucosa. *Pain*, *151*(2), 516–521. https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.08.013

Mignot, C., Faria, V., Hummel, T., Frost, M., Michel, C. M., Gossrau, G. & Haehner, A. (2023). Migraine with aura: less control over pain and fragrances? *The journal of headache and pain*, *24*(1), 55. https://doi.org/10.1186/s10194-023-01592-3

Moran, D. T., Rowley, J. C., Jafek, B. W. & Lovell, M. A. (1982). The fine structure of the olfactory mucosa in man. *Journal of neurocytology*, *11*(5), 721–746. https://doi.org/10.1007/BF01153516

Müller G. (1988). *Schmerzkorrelierte evozierte Potentiale nach Stimulation der menschlichen Nasenschleimhaut mit verschiedenen Kohlendioxid Konzentrationen.*

Nguyen, M. Q., Wu, Y., Bonilla, L. S., Buchholtz, L. J. von & Ryba, N. J. P. (2017). Diversity amongst trigeminal neurons revealed by high throughput single cell sequencing. *PloS one*, *12*(9), e0185543. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185543

Nishino, T., Tagaito, Y. & Sakurai, Y. (1997). Nasal inhalation of l-menthol reduces respiratory discomfort associated with loaded breathing. *American journal of respiratory and critical care medicine*, *156*(1), 309–313. https://doi.org/10.1164/ajrccm.156.1.9609059

Niu, C., Sun, X., Hu, F., Tang, X. & Wang, K. (2022). Molecular determinants for the chemical activation of the warmth-sensitive TRPV3 channel by the natural monoterpenoid carvacrol. *The Journal of biological chemistry*, *298*(3), 101706. https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101706

Ojha, P., Singh, V. & Thacker, A. (2017). Odor-induced modulation of electroencephalogram waves in healthy controls. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, *7*(9), 1. https://doi.org/10.5455/njppp.2017.7.0413411052017

Oleszkiewicz, A., Schriever, V. A., Croy, I., Hähner, A. & Hummel, T. (2019). Updated Sniffin' Sticks normative data based on an extended sample of 9139 subjects. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, *276*(3), 719–728. https://doi.org/10.1007/s00405-018-5248-1

Peier, A. M., Reeve, A. J., Andersson, D. A., Moqrich, A., Earley, T. J., Hergarden, A. C., Story, G. M., Colley, S., Hogenesch, J. B., McIntyre, P., Bevan, S. & Patapoutian, A. (2002). A heat-sensitive TRP channel expressed in keratinocytes. *Science (New York, N.Y.)*, *296*(5575), 2046–2049. https://doi.org/10.1126/science.1073140

Rombaux, P., Mouraux, A., Bertrand, B., Guerit, J. M. & Hummel, T. (2006). Assessment of olfactory and trigeminal function using chemosensory event-related potentials. *Neurophysiologie clinique = Clinical neurophysiology*, *36*(2), 53–62. https://doi.org/10.1016/j.neucli.2006.03.005

Sakatani, H., Kono, M., Shiga, T., Kuwazoe, H., Nanushaj, D., Matsuzaki, I., Murata, S.-I., Miyajima, M., Okada, Y., Saika, S. & Hotomi, M. (2023). The Roles of Transient Receptor Potential Vanilloid 1 and 4 in Olfactory Regeneration. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, *103*(4), 100051. https://doi.org/10.1016/j.labinv.2022.100051

Saunders, C. J., Li, W. Y., Patel, T. D., Muday, J. A. & Silver, W. L. (2013). Dissecting the role of TRPV1 in detecting multiple trigeminal irritants in three behavioral assays for sensory irritation. *F1000Research*, *2*, 74. https://doi.org/10.12688/f1000research.2-74.v1

Schaefer, M. L., Böttger, B., Silver, W. L. & Finger, T. E. (2002). Trigeminal collaterals in the nasal epithelium and olfactory bulb: a potential route for direct modulation of olfactory information by trigeminal stimuli. *The Journal of comparative neurology*, *444*(3), 221–226. https://doi.org/10.1002/cne.10143

Scheibe, M., Schmidt, A. & Hummel, T. (2012). Investigation of the topographical differences in somatosensory sensitivity of the human nasal mucosa. *Rhinology*, *50*(3), 290–293. https://doi.org/10.4193/Rhino11.224

Scheibe, M., Zahnert, T. & Hummel, T. (2006). Topographical differences in the trigeminal sensitivity of the human nasal mucosa. *Neuroreport*, *17*(13), 1417–1420. https://doi.org/10.1097/01.wnr.0000224764.61959.e8

Schünke, M. (2018). *Prometheus* (5., vollständig überarbeitete Auflage). Georg Thieme Verlag.

Servos, P., Engel, S. A., Gati, J. & Menon, R. (1999). fMRI evidence for an inverted face representation in human somatosensory cortex. *Neuroreport*, *10*(7), 1393–1395. https://doi.org/10.1097/00001756-199905140-00002

Sezille, C., Messaoudi, B., Bertrand, A., Joussain, P., Thévenet, M. & Bensafi, M. (2013). A portable experimental apparatus for human olfactory fMRI experiments. *Journal of neuroscience methods*, *218*(1), 29–38. https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2013.04.021

Silver, W. L., Clapp, T. R., Stone, L. M. & Kinnamon, S. C. (2006). TRPV1 receptors and nasal trigeminal chemesthesis. *Chemical senses*, *31*(9), 807–812. https://doi.org/10.1093/chemse/bjl022

Stevens, J. C. & Cain, W. S. (1986). Aging and the perception of nasal irritation. *Physiology & behavior*, *37*(2), 323–328. https://doi.org/10.1016/0031-9384(86)90241-6

Stuck, B. A., Frey, S., Freiburg, C., Hörmann, K., Zahnert, T. & Hummel, T. (2006). Chemosensory event-related potentials in relation to side of stimulation, age, sex, and stimulus concentration. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, *117*(6), 1367–1375. https://doi.org/10.1016/j.clinph.2006.03.004

Thuerauf, N., Kaegler, M., Dietz, R., Barocka, A. & Kobal, G. (1999). Dose-dependent stereoselective activation of the trigeminal sensory system by nicotine in man. *Psychopharmacology*, *142*(3), 236–243. https://doi.org/10.1007/s002130050885

Thürauf, N., Friedel, I., Hummel, C. & Kobal, G. (1991). The mucosal potential elicited by noxious chemical stimuli with CO2 in rats: is it a peripheral nociceptive event? *Neuroscience letters*, *128*(2), 297–300. https://doi.org/10.1016/0304-3940(91)90283-y

Thürauf, N., Hummel, T., Kettenmann, B. & Kobal, G. (1993). Nociceptive and reflexive responses recorded from the human nasal mucosa. *Brain research*, *629*(2), 293–299. https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)91333-n

Thürauf, N., Günther, M., Pauli, E. & Kobal, G. (2002). Sensitivity of the negative mucosal potential to the trigeminal target stimulus CO2. *Brain research*, *942*(1-2), 79–86. https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)02697-5

Tombola, F., Pathak, M. M. & Isacoff, E. Y. (2006). How does voltage open an ion channel? *Annual review of cell and developmental biology*, *22*, 23–52. https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.21.020404.145837

Tremblay, C. & Frasnelli, J. (2018). Olfactory and Trigeminal Systems Interact in the Periphery. *Chemical senses*, *43*(8), 611–616. https://doi.org/10.1093/chemse/bjy049

Viana, F. (2011). Chemosensory properties of the trigeminal system. *ACS chemical neuroscience*, *2*(1), 38–50. https://doi.org/10.1021/cn100102c

Voets, T., Owsianik, G., Janssens, A., Talavera, K. & Nilius, B. (2007). TRPM8 voltage sensor mutants reveal a mechanism for integrating thermal and chemical stimuli. *Nature chemical biology*, *3*(3), 174–182. https://doi.org/10.1038/nchembio862

Vogt-Eisele, A. K., Weber, K., Sherkheli, M. A., Vielhaber, G., Panten, J., Gisselmann, G. & Hatt, H. (2007). Monoterpenoid agonists of TRPV3. *British journal of pharmacology*, *151*(4), 530–540. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707245

Waldmann, R., Champigny, G., Bassilana, F., Heurteaux, C. & Lazdunski, M. (1997). A proton-gated cation channel involved in acid-sensing. *Nature*, *386*(6621), 173–177. https://doi.org/10.1038/386173a0

Wang, G. (2021). Ligand-stereoselective allosteric activation of cold-sensing TRPM8 channels by an H-bonded homochiral menthol dimer with head-to-head or head-to-tail. *Chirality*, *33*(11), 783–796. https://doi.org/10.1002/chir.23364

Wang, Y. Y., Chang, R. B. & Liman, E. R. (2010). TRPA1 is a component of the nociceptive response to CO2. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for*

Neuroscience, *30*(39), 12958–12963. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2715-10.2010

Welge-Lüssen, A. (1999). Chemosensorisch evozierte Potentiale. Anwendung und Bedeutung im klinischen Alltag [Chemosensory evoked potentials. Applications and significance in routine clinical practice]. *HNO*, *47*(5), 453–455. https://doi.org/10.1007/s001060050403

Widdicombe, J. G. (2011). Reflexes from the Upper Respiratory Tract. In Y. S. Prakash (Hrsg.). *Comprehensive Physiology* (S. 363–394). Wiley.

Wijk, R. de, Cain, W. S., Pilla-Caminha, G. & Senses, C. (1998). Human psychophysical and neurophysiological measurements on ethanol. *Chem Senses*(23), Artikel 586, 51.

Willis, D. N., Liu, B., Ha, M. A., Jordt, S.-E. & Morris, J. B. (2011). Menthol attenuates respiratory irritation responses to multiple cigarette smoke irritants. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *25*(12), 4434–4444. https://doi.org/10.1096/fj.11-188383

Witt, M. & Hansen, A. (2008a). Strukturelle und funktionelle Grundlagen des Riechens: Peripherie: Von der Riechschleimhaut zum Bulbus olfactorius. In T. Hummel & A. Welge-Lüssen (Hrsg.). *Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie und therapeutische Ansätze* (1. Auflage, S. 12–20). Thieme.

Witt, M. & Hansen, A. (2008b). Strukturelle und funktionelle Grundlagen des Riechens: Zentrale: verschlungene Pfade der Riechbahn. In T. Hummel & A. Welge-Lüssen (Hrsg.). *Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie und therapeutische Ansätze* (1. Auflage, S. 20–26). Thieme.

Xu, H., Delling, M., Jun, J. C. & Clapham, D. E. (2006). Oregano, thyme and clove-derived flavors and skin sensitizers activate specific TRP channels. *Nature neuroscience*, *9*(5), 628–635. https://doi.org/10.1038/nn1692

Xu, L., Han, Y., Chen, X., Aierken, A., Wen, H., Zheng, W., Wang, H., Lu, X., Zhao, Z., Ma, C., Liang, P., Yang, W., Yang, S. & Yang, F. (2020). Molecular mechanisms underlying menthol binding and activation of TRPM8 ion channel. *Nature Communications*, *11*(1), 3790. https://doi.org/10.1038/s41467-020-17582-x

Yu, F. H. & Catterall, W. A. (2004). The VGL-chanome: a protein superfamily specialized for electrical signaling and ionic homeostasis. *Science's STKE : signal transduction knowledge environment*, *2004*(253), re15. https://doi.org/10.1126/stke.2532004re15

Zimmermann, M. (1968). Dorsal root potentials after C-fiber stimulation. *Science (New York, N.Y.)*, *160*(3830), 896–898. https://doi.org/10.1126/science.160.3830.896

Zubcevic, L. & Lee, S.-Y. (2019). The role of π-helices in TRP channel gating. *Current opinion in structural biology*, *58*, 314–323. https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.06.011bek

14 Anhang

14.1 **Tabelle A1:** Verwendete Duftstoffe der Vorstudie mit portablem Olfaktometer

Klassen	**Duftstoffe**	**Konzentration in % (Flussgeschwindigkeit in ml/min)**	**Aktivierter TRP-Rezeptor**
1.1	2-Phenylethanol (CAS 60-12-8, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen)	100 (2500)	wenig TRPA1 (Takasago, Paris, Frankreich)
1.2	2-Phenylethanol	50 (2500)	wenig TRPA1
2.1	Perillaaldehyd (CAS 18031-40-8, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen)	50 (2500)	TRPA1 (Takasago, Paris, Frankreich)
2.2	Perillaaldehyd	25 (2500)	TRPA1
3.1	L-Menthyl-Acetat (CAS 2623-23-6, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen)	50 (2500)	TRPA1 (Takasago, Paris, Frankreich)
3.2	L-Menthyl-Acetat	25 (2500)	TRPA1
4.1	L-Menthol (CAS 2216-51-5, Takasago, Paris, Frankreich)	50 (4000)	TRPA1 + TRPM8 (Takasago, Paris, Frankreich)
4.2	L-Menthol	25 (4000)	TRPA1 + TRPM8
5.1	Isopulegol (CAS 7786-67-6, Takasago, Paris, Frankreich)	50 (2500)	TRPA1 + TRPM8 (Takasago, Paris, Frankreich)
5.2	Isopulegol	25 (2500)	TRPA1 + TRPM8
6.1	Thymol (CAS 89-83-8, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen)	50 (4000)	TRPV3 (Takasago, Paris, Frankreich)
6.2	Thymol	25 (4000)	TRPV3
7.1	Carvacrol (CAS 499-75-2, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen)	100 (4000)	TRPV3 + TRPA1 (Takasago, Paris, Frankreich)
7.2	Carvacrol	50 (4000)	TRPV3 + TRPA1
8.1	Cyclohexanon (CAS 108-94-1, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen)	50 (700)	TRPV1 (Takasago, Paris, Frankreich)
8.2	Cyclohexanon	25 (700)	TRPV1
9.1	Vanillyl Ethyl Ether (CAS 13184-86-6, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen)	100 (4000)	TRPV1+TRPA1 (Takasago, Paris, Frankreich)
9.2	Vanillyl Ethyl Ether	50 (4000)	TRPV1+TRPA1

14.2 Tabelle A2: Verwendete Duftstoffe für die Ableitungen der zentralen und peripheren Potentiale

Klassen	**Duftstoff mit Konzentration (Flussgeschwindigkeit)**	**Aktivierter TRP-Rezeptor**
1	2-Phenylethanol/100% (6 l/min)	TRPA1 (geringe Aktivierung) (Takasago, Paris, Frankreich)
2	Carvavrol 50% (3 l/min)	TRPV3 + TRPA1 (Takasago, Paris, Frankreich)
3	Carvacrol 10% (0,6 l/min)	TRPV3 + TRPA1
4	Perillaaldehyd 50% (3 l/min)	TRPA1 (Takasago, Paris, Frankreich)
5	Perillaaldehyd 16,7% (1 l/min)	TRPA1
6	Isopulegol 50% (3 l/min)	TRPA1 + TRPM8 (Takasago, Paris, Frankreich)
7	Isopulegol 6,67% (0,4 l/min)	TRPA1 + TRPM8
8	Cyclohexanon 50% (3 l/min)	TRPV1 (Takasago, Paris, Frankreich)
9	Cyclohexanon 6,67% (0,4 l/min)	TRPV1
10	CO_2 45% (2,7 l/min) (AIRLIQUIDE Medical GmbH, Düsseldorf)	TRPV1 + TRPA1 (Takasago, Paris, Frankreich)
11	CO_2 6,67% (0,4 l /min	TRPV1 + TRPA1

14.3 Anamnesebogen

Unterschiede in der Verarbeitung von Düften mit und ohne trigeminale Komponente

Datum: .....PbdID.....

Anamnese-Fragebogen

Geschlecht:	☐ weiblich	☐ männlich	Jahrgang: .....
ich fühle mich gesund:	☐ nein	☐ ja	
Rauchen:	☐ nein	☐ ja → wie viel (Anzahl Packyears)?	
Alkohol:	☐ nein	☐ gelegentlich	☐ regelmäßig
Drogen:	☐ nein	☐ ja → welche?	
Medikamente:	☐ nein	☐ ja → welche?	
Nasenoperation:	☐ nein	☐ ja	
falls ja, genauere Angaben:			
Polypen in der Nase:	☐nein	☐ ja	
falls ja, genauere Angaben:			
Asthma:	☐ nein	☐ ja	
Schädel-Hirn-Trauma:	☐ nein	☐ ja	
falls ja, genauere Angaben:			
Morbus Parkinson in der Familie		☐ nein	☐ ja
Morbus Alzheimer in der Familie		☐ nein	☐ ja
Andere neurologische Erkrankungen:		☐ nein	☐ ja
falls ja, genauere Angaben:			
Andere chronische Erkrankungen:		☐ nein	☐ ja
falls ja, genauere Angaben:			

Körpergewicht (kg) ..... Körpergröße (cm).....

14.4 Fragebogen zur trigeminalen Wahrnehmung

Alter: ……..

Geschlecht: ☐ m ☐ w ☐ d

1. Leiden Sie momentan unter allergischen Problemen mit der Nase (z.B. Heuschnupfen)?
☐ nein ☐ ja

2. Besteht bei Ihnen derzeit eine Infektion der oberen Atemwege?
☐ nein ☐ ja

3. Haben Sie eine chronische Nasennebenhöhlenentzündung?
☐ nein ☐ ja

4. Haben Sie chronische Erkrankungen? (z.B. Diabetes mellitus, Bluthochdruck, Nierenerkrankungen)
☐ nein ☐ ja: was genau?, weit wann?
……
5. Schätzen Sie Ihr Riech- oder Schmeckvermögen als vermindert ein?
☐ nein ☐ ja

6. Wie schätzen Sie Ihr derzeitiges Riechvermögen ein? (bitte markieren)

sehr schlecht sehr gut

7. Wie empfindlich sind Sie in der Nase für Stechendes und Brennendes, z.B. Kohlensäure, Essig oder Putzmittel?
☐ sehr ☐ mehr als normal ☐ normal ☐ wenig ☐ gar nicht

8. Rauchen Sie?
☐ nein ☐ ja seit wann? Wie viele Zig. pro Tag?

Wenn nein, waren Sie Raucher?
☐ nein ☐ ja Von wann bis wann? Wie viele Zig./Tag?

9. Trinken Sie Alkohol?
☐ nein ☐ ja – ☐ gelegentlich ☐ regelmäßig

10. Bitte bewerten Sie Ihre Nasenatmung für <u>beide Nasenlöcher</u>.

sehr schlecht sehr gut

Bedeutung der trigeminalen Funktion

	Absolut zutreffend	Trifft teilweise zu	Eher nicht zutreffend	Trifft überhaupt nicht zu
Stechende oder brennende Gerüche wie Rauch, Essig oder Nagellackentferner rufen starke Emotionen in mir hervor.				
Wenn ich einen frischen Minz-Kaugummi gekaut habe, habe ich das Gefühl, dass ich besser Luft durch die Nase bekomme.				
Ich meide kohlensäurehaltigen Getränke, weil sie in der Nase z.B. beim Aufstoßen zu stark brennen.				
Ich schätze meine Nasenatmung als sehr gut ein.				
Ich gehe nicht gerne in eine Sauna, weil ich heiße Luft in der Nase als stark brennend wahrnehme.				
Beim Zwiebelschneiden tränen mir die Augen sehr stark.				
Stechende oder brennende Gerüche lösen bei mir Husten oder Niesen aus.				
Ich meide brennende, stechende Gerüche (z.B. Ammoniak oder Chlor).				
Wenn ich etwas Beißendes oder Stechendes rieche, denke ich voller Panik an Situationen, in denen mir so etwas ähnliches passiert ist.				
Im Winter ist mir die kalte Luft in der Nase ausgesprochen unangenehm.				
Wenn ich Meerrettich esse, finde ich das Beißen in der Nase besonders störend.				
Brennende oder stechende Gerüche können bei mir zu unangenehmen Empfindungen/Schmerzen im Gesicht führen.				
Ich nehme die Kohlensäure in Getränken bewusst und intensiv war.				
Wenn es um leicht kitzelnde oder stechende Gerüche geht, ist meine Nase viel empfindlicher für das Stechende und Beißende als die Nase anderer Leute.				
Ich benutze nur Zahnpasta mit sehr mildem Minzgeruch.				

Bitte bewerten Sie den Reiz hinsichtlich der folgenden Parameter:

Angenehmheit	-5 bis +5
Intensität	0 bis 10
Wärme	0 bis 10
Kälte	0 bis 10
Kitzeln	0 bis 10
Schmerz	0 bis 10

Bitte beschreiben Sie den Reiz hinsichtlich der folgenden Begriffe:

- stechend
- brennend
- schmerzhaft
- scharf
- zusammenziehend
- pelzig
- warm
- frisch
- kratzend
- kitzelnd
- salzig
- prickelnd
- Niesreiz-erregend
- sauer