

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

Riechtraining mit spezifischen Anosmikern bezüglich
Androstenon, Isovaleriansäure und Trimethylamin

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

von

Anna Schmidt
aus Weida

Dresden 2016

1. Gutachter:.....

2. Gutachter:.....

Tag der mündlichen Prüfung:

gez:.....

Vorsitzender der Promotionskommission

Inhaltsverzeichnis

1 Einführung.....	7
1.1 olfaktorische Wahrnehmung – das Riechen.....	7
1.1.1 Makroanatomie.....	8
1.1.2 Mikroanatomie.....	8
1.1.3 Neuroanatomie.....	10
1.1.4 Anosmie und spezifische Anosmie.....	12
1.2 Funktionsmechanismus der Riechrezeptoren.....	12
1.2.1 Odorant-Bindungsproteine.....	13
1.2.2 Signaltransduktion.....	13
1.2.3 Vorstellung spezieller olfaktorischer Rezeptoren.....	16
1.3 olfaktorisches Lernen.....	19
2 Fragestellungen und Hypothesen.....	20
3 Material und Methoden.....	21
3.1 Studiendesign.....	21
3.1.1 Allgemeines Studiendesign.....	21
3.1.2 Teilnehmer.....	21
3.2 Duftstoffe.....	22
3.2.1 Herstellung.....	22
3.2.2 Androstenon.....	23
3.2.3 Trimethylamin.....	24
3.2.4 Isovaleriansäure.....	24
3.3 Untersuchungsablauf.....	25
3.3.1 Vorbereitung.....	25
3.3.2 Durchführung „Screening“ inklusive Mundabstrich.....	25
3.3.3 Häusliches Training.....	28
3.3.4 Recall Anosmiker.....	28
3.3.5 Auswertung Mundabstrich.....	30
3.4 Statistische Auswertung.....	30
4 Ergebnisse.....	31
4.1 Probanden, die an der Studie teilnahmen.....	31

4.2 Auswertung Identifikationstest.....	32
4.3 Auswertung Schwellentest „Screening“	32
4.3.1 Schwellentest Androstenon	33
4.3.2 Schwellentest Isovaleriansäure	34
4.3.3 Schwellentest Trimethylamin	35
4.4 Auswertung „Recall“	36
4.5 Statistische Analyse	38
4.5.1 Vergleich männliche und weibliche Probanden.....	38
4.5.2 Vergleich Raucher und Nichtraucher	40
4.5.3 Überblick Altersverteilung	41
4.6 Auswertung Mundabstriche.....	42
4.6.1 Genetische Grundlagen der spezifischen Anosmie.....	43
4.6.2 Aktivierung TAAR5 durch Trimethylamin	44
5 Dikussion.....	46
5.1 Interpretation der Ergebnisse	46
5.1.1 Verteilung des Auftretens spezifischer Anosmien innerhalb der Testgruppe.....	46
5.1.2 Abhängigkeit der Ergebnisse von verschiedenen Einflussfaktoren	48
5.1.3 Trainingseffekt.....	49
5.2 Erklärungsansätze von genetischen Ursachen für das Auftreten von spezifischen Anosmien.....	54
5.2.1 Polymorphismus der olfaktorischen Rezeptoren.....	54
5.2.2 Einfluss der Moleküle	56
5.2.3 Vererbung der spezifischen Anosmie	57
5.3 Methodenkritik und Fehlermöglichkeiten	58
5.4 Ausblick im Zusammenhang mit der aktuellen Forschung.....	59
6 Zusammenfassung	61
6.1 Deutsche Zusammenfassung.....	61
6.2 Englische Zusammenfassung (summary)	63
Literaturverzeichnis	65
Anhang.....	80
Tabellenverzeichnis.....	87
Abbildungsverzeichnis.....	88
Danksagung	Fehler! Textmarke nicht definiert.
Lebenslauf.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.

Erklärung zur Eröffnung des Promotionsverfahrens**Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Erklärung zur Einhaltung rechtlicher Vorschriften**Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ANOVA	Analysis of Variance
ATP	Adenosintriphosphat
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
EOG	Elektroolfaktogramm
GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor (G protein-coupled receptor)
IVA	Isovaleriansäure (isovaleric acid)
MRT	Magnetresonanztomografie
MW	Mittelwert
o.g.	oben genannt
OERP	olfaktorisch evoziertes Potential (olfactory event-related potential)
OR	Olfaktorischer Rezeptor
ORF	offener Leserahmen (open reading frame)
ORN	Olfaktorisches Rezeptorneuron
SD	Standardabweichung (standard deviation)
SE	Standardfehler des Mittelwerts
TAAR	Trace amine-associated receptor
Tab.	Tabelle
TMA	Trimethylamin
u.a.	unter anderem
VN1R	Vomeronasal Receptor, Klasse 1
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

1 Einführung

Der menschliche Organismus verfügt über fünf komplex miteinander korrespondierende Sinne, die es ihm ermöglichen, die ihn umgebende Welt sowohl bewusst als auch unbewusst wahrzunehmen, auf sie zu reagieren und unmittelbar mit ihr in Beziehung zu treten: er sieht, hört, fühlt, schmeckt und riecht.

Die Modi der Verarbeitung der visuellen, auditiven, taktilen, gustatorischen und olfaktorischen Reize unterliegen multifaktoriellen, z.T. genetisch determinierten Bedingungen, was bei unterschiedlichen Individuen zu in Qualität und Intensität differierenden Wahrnehmungen führen kann.

Das Wahrnehmen von Duftstoffen wird durch olfaktorische Rezeptoren in der Riechschleimhaut der Nase ermöglicht. Bis heute wurden insgesamt rund 950 menschliche Riechrezeptoren entdeckt (Buck & Axel 1991, Glusman et al. 2000), von denen jedes Individuum jeweils nur einen gewissen Teil entwickelt, so dass aus dem individuellen Repertoire an olfaktorischen Rezeptoren eine ebenso individuelle Duftstoffwahrnehmung resultiert (Menashe et al. 2003).

Menschen mit einer spezifischen oder partiellen Anosmie verfügen über ein normales Riechvermögen, können jedoch im Gegensatz zu anderen Personen bestimmte Duftstoffe überhaupt nicht wahrnehmen.

Was sind die Ursachen für ein solches partielles Wahrnehmungsdefizit, und lässt es sich beheben?

1.1 olfaktorische Wahrnehmung – das Riechen

Besonders an kalten, trockenen Wintertagen kann man den Weg der Atemluft durch die Nasenlöcher (Nares) mit ihren Nasenhaaren (Vibrissae) in die Nasenhaupthöhle (Cavitas nasi) spüren. Von dort gelangt der Luftstrom über den oberen Nasengang (Meatus nasi superior) zur ca. 2cm² großen (Schünke 2009) Riechschleimhaut am Dach der Nasenhöhle, wo die mitgeführten Duftmoleküle wahrgenommen werden können. Erst die Interaktion von Duftmolekül und Riechrezeptor in den Zilien der Riechsinneszellen ermöglicht das Riechen, wobei chemische Struktur (z.B. funktionelle Gruppen), Größe und Konzentration der Moleküle eine entscheidende Rolle bei der Aktivierung der olfaktorischen Rezeptoren und schließlich bei der Qualität des Riecheindrucks spielen. Durch den Kontakt des Duftmoleküls mit verschiedenen Rezeptoren wird ein Aktionspotential ausgelöst, das über

Axone zum Bulbus olfactorius weitergeleitet wird. Dort werden die Signale transformiert und wiederum an zentrale olfaktorische Strukturen, wie dem Nucleus olfactorius anterior, piriformen Cortex, der Amygdala, dem ventralen Striatum, der Inselrinde und dem entorhinalen Cortex, übermittelt, wo eine bestimmte Riechwahrnehmung entsteht.

1.1.1 Makroanatomie

Beim Atmen gelangt der Luftstrom durch das Nasenloch in den Nasenvorhof (Vestibulum nasi) und weiter in die Nasenhöhle (Cavitas nasi). Diese wird durch die Nasenscheidewand (Septum nasi) vertikal in eine linke bzw. rechte geteilt, die ihrerseits durch drei übereinanderliegende Nasenmuscheln (Conchae nasales) horizontal untergliedert werden. Unterhalb jeder Nasenmuschel verläuft ein Nasengang (Meatus nasi), der über die hintere Nasenöffnung (Choane) mit dem Pharynx verbunden ist.

Das zyklische und wechselseitige Ab- und Anschwellen der Nasenschleimhaut im sogenannten Nasenzyklus beeinflusst den Luftstrom durch die Nasenhöhle und ermöglicht Duftmolekülen unterschiedlicher Sorptionsqualität die optimale Bindung an die in der olfaktorische Mucosa befindlichen Riechrezeptoren (Sobel et al. 1999, Gottfried 2009).

1.1.2 Mikroanatomie

Die *Riechschleimhaut* (olfaktorisches Epithel) überzieht eine Fläche von ungefähr 1cm² in der oberen Nasenmuschel, am Nasenseptum und in der postdorsalen Mulde der Nasenhöhle und trägt die olfaktorischen Rezeptoren (Lovell et al. 1982, Jafek 1983). Das restliche ca. 60 cm² umfassende Cavum nasi ist mit respiratorischem Epithel ausgekleidet, das mit zunehmendem Alter auch das olfaktorische Epithel ersetzt (Smith 1942, Paik et al. 1992, Jafek et al. 2002). Die Hauptaufgabe des respiratorischen Epithels besteht darin, die Atemluft für den Eintritt in die Lunge anzuwärmen (31-34°C) und anzufeuchten (90-95%) (Elad et al. 2008). Wie in Abbildung 1 zu sehen, ist das mehrreihige Riechepithel mit 70 µm dicker als das respiratorische (45 µm) und besteht aus bipolaren olfaktorischen Rezeptorneuronen (ORN), Stützzellen, Bindegewebszellen, mikrovillären Zellen und Basalzellen. Bipolare ORN und Stützzellen breiten sich über die gesamte Epitheldicke aus. Von der apikalen Fläche der Zellen erstrecken sich Mikrovilli in die das Epithel bedeckende Schleimschicht (Mucus), die es von der Luft in der Nasenhöhle trennt (Mai & Paxinos 2001).

Abb. 1: Histologischer Querschnitt durch das Septum nasi mit Darstellung des respiratorischen und olfaktorischen Epithels; das Riechepithel ist deutlich höher als das respiratorische (Abbildung von: Institut für Anatomie und Zellbiologie, Abteilung für Molekulare Neurowissenschaft Philipps Universität Marburg (Bette et al., o. Jahr)

Die tubuloalveolären *Bowman'schen Drüsen* (Glandulae olfactoriae) in der Lamina propria sind vermutlich durch die Abgabe eines serösen Sekretes für die Schleimbildung (Jafek 1983) an der olfaktorischen Signalübertragung beteiligt (Mai & Paxinos 2001). Der Schleim enthält reversibel bindende Duftstoff-Bindungs-Proteine (OBP), mit deren Hilfe auch Duftstoffe mit hydrophoben Eigenschaften zu den olfaktorischen Rezeptoren gelangen und dort zur Rezeptoraktivierung führen können (Lüllmann-Rauch 2006).

Die *bipolaren Rezeptorneurone*, deren Zellkörper eine breite Schicht in der Mitte des olfaktorischen Epithels belegen, sind primäre Sinneszellen. Ihr Dendrit zieht zur Oberfläche des Epithels, während das dünne Axon (0,2-0,3 µm) in die Lamina propria verläuft. Die Axone gruppieren sich in kleine Bündel (Fila) und gelangen zusammen durch die Lamina cribriformis zum Riechkolben (Mai & Paxinos 2001).

Die kolbenförmigen *mikrovillären Zellen* liegen in der apikalen Zone des Epithels; ihr sich verjüngender Hals endet in einem Büschel von ca. 8-12 Mikrovilli. Das Axon dieser bipolaren Zellen führt zur Basallamina (Witt & Hansen 2009). Die Funktion dieser Zellart ist beim Menschen noch nicht erforscht. Es wird allerdings vermutet, dass sie als chemorezeptive Zellen fungieren (Moran et al. 1982a).

Die *olfaktorischen Rezeptorneurone* (ORN), die die sensorische Information des Duftmoleküls in ein neuronales Signal umwandeln, haben bis in den Riechschleim reichende dendritische Fortsätze (Witt & Hasen 2009). Sie befinden sich in der mittleren Schicht des olfaktorischen Epithels, der postdorsalen Mulde der Nasenhöhle, des Septums und der superioren Nasenmuschel (Lovell et al. 1982, Jafek 1983, Nakashima et al. 1984). Es wird vermutet, dass es rund 950 menschliche Riechrezeptoren gibt (Buck & Axel 1991, Glusman et al. 2000), die beim Menschen auf allen Chromosomen außer 20 und Y verschlüsselt sind, wobei die meisten olfaktorischen Rezeptorgene in mehreren großen Gen-Clustern auf Chromosom 11 (Glusman et al. 2001) liegen. Alle ORNs exprimieren nur ein Allel von nur einem Riechrezeptorgen (Ishii et al. 2001, Mombaerts 2004b). Studien an Nagetieren haben gezeigt, dass ORNs im olfaktorischen Epithel in 4 Zonen organisiert sind, die jeweils verschiedene Gruppen von Duftrezeptoren repräsentieren. Innerhalb jeder Zone werden spezifische Rezeptoren einer Art von den Neuronen gebildet (Ressler et al. 1993, Mori et al. 1999).

Anders als ähnliche Zellen im benachbarten respiratorischen Epithel sondern die säulenförmigen *Bindegewebszellen* des olfaktorischen Epithels keinen Mucus ab. Ihre vollständige Funktion ist noch nicht geklärt (Mai & Paxinos 2001), es wird jedoch vermutet, dass sie eine gliaähnliche Stützfunktion für die Rezeptorneurone haben (Jafek 1983).

Die *Basalzellen* liegen in der untersten Zone des olfaktorischen Epithels. Sie sind undifferenzierte Stammzellen, die sich mitotisch teilen, in Rezeptorneurone oder Stützzellen differenzieren und durch Turnover oder Beschädigung untergehen (Moran et al. 1982b).

1.1.3 Neuroanatomie

Der paarig angelegte, in sechs konzentrischen Schichten strukturierte *Bulbus olfactorius* ist ein vorgelagerter Teil des Telencephalon (Schünke 2009, Mai & Paxinos 2001) und hat bei einem jungen Erwachsenen ein Volumen von 50-60mm³ je Seite (Turetsky et al. 2000).

Abb. 2: Lage des Bulbus olfactorius mit Fila olfactoria; sagittaler Schnitt durch die Nase; modifizierte Abbildung aus: Atlas der Anatomie des Menschen (Netter et al. 2006).

Die von den olfaktorischen Rezeptorneuronen (ORN) ausgehenden Fila olfactoria erreichen ihn durch die 1-2mm großen Öffnungen der Lamina cribrosa des Os ethmoidale (Witt & Hansen 2009). Die ORN bilden das erste Neuron der menschlichen Riehbahn, die Gesamtheit ihrer Axone (Filae) den Nervus olfactorius, den ersten Hirnnerven. Über das Stratum fibrosum des Riechkolbens gelangen die Filae zu den Glomeruli im Stratum glomerulosum und bilden dort Synapsen mit den Mitral- und Büschelzellen, deren Axone als Tractus olfactorius zum olfaktorischen Kortex ziehen (2. Neuron) (Benninghoff et al. 2008). Bei Makrosmatikern (z.B. Hund) teilt sich der Tractus olfactorius vor der Substantia perforata anterior in eine Stria olfactoria medialis und lateralis – die mediale Struktur ist in der menschlichen Riehbahn nicht nachweisbar (Sakamoto et al. 1999). Beim Menschen, der zu den Mikrosmatikern zählt, zieht die laterale Stria olfactoria zum Corpus amygdaloideum, Gyrus ambiens und Gyrus semilunaris, die als Riechzentrum betrachtet werden. In der als primäre Riechrinde bezeichneten Area prepiriformis liegen die dritten Neurone des primären olfaktorischen Cortex (Schünke 2009).

Das olfaktorische System ist das einzige sensorische System, das ohne primäre Umschaltung im Thalamus zum Cortex gelangt. Während starke emotionale Reaktionen auf Geruchseindrücke durch umfangreiche Projektionen der Stria olfactoria auf Neurone des limbischen Systems erklärt werden, werden vegetative Reaktionen auf Duftstoffe auf Projektionen zum Hypothalamus zurückgeführt (Schünke 2009, Witt & Hansen 2009).

1.1.4 Anosmie und spezifische Anosmie

Die spezifische Anosmie (auch partielle Anosmie) unterscheidet sich vom kompletten Verlust der Riechfunktion (Anosmie) durch die verminderte Sensibilität nur einem bestimmten Stoff gegenüber und hat keinerlei pathologische Bedeutung (Hummel & Welge-Lüssen 2009). Amoore beschrieb 1977 die spezifische Anosmie als einen Zustand bei Personen mit einer ansonsten normalen Riechwahrnehmung. Sie können einen bestimmten Duftstoff bei einer Konzentration nicht wahrnehmen, bei der andere Menschen ihn sicher erkennen (Amoore 1977).

In den späten 70er Jahren gab es relativ viele Untersuchungen zur spezifischen Anosmie. Man erhoffte sich über diesen Weg mehr über die primären Düfte zu erfahren und somit über die dazugehörigen Rezeptoren (Amoore 1967, Amoore 1971).

1.2 Funktionsmechanismus der Riechrezeptoren

Die unbeweglichen Zilien des Epithels tragen Duftrezeptoren, die den chemischen Impuls des Duftmoleküls zu einem neuronalen Signal umwandeln (Witt & Hansen 2009, Mai & Paxinos 2011). Die Riechsinneszellen haben einen Lebenszyklus von 3-6 Wochen und regenerieren sich ständig. Sie sind neuronalen Ursprungs und damit eines der wenigen Beispiele regenerationsfähiger Neurone beim Menschen (Draguhn 2010).

Die olfaktorischen Rezeptoren (OR) gehören zu der Gruppe der G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCR) und bilden eine sehr große Familie von Rezeptorproteinen. Innerhalb der Gruppe der GPCR gehören sie zur Klasse der rhodopsin-ähnlichen Rezeptoren (Mombaerts 2004a). Die olfaktorischen Rezeptorproteine weisen eine transmembranöse Struktur mit sieben α -Helices auf und besitzen eine Peptidkette mit einer Länge von ca. 330 Aminosäuren (Buck & Axel 1991, Witt & Hansen 2009). Verschiedene Studien versuchten die Bindungsstelle des Liganden an den OR zu identifizieren. So wurden bei Untersuchungen mehrere Molekülreste in der zweiten bis siebenten transmembranösen Helix gefunden und die zweite extrazelluläre Schleife stellt einen möglichen Bestandteil der Bindungsstelle für Liganden dar (Man et al. 2004). Andere Ergebnisse vermuten an den transmembranösen Helices drei, fünf und sechs der ORs eine mögliche Bindungsstelle für Duftstoffe (Abaffy et al. 2007, Gelis et al. 2012). Ausgehend von der Gegebenheit, dass die meisten Duftmoleküle nur eine stark polare funktionelle Gruppe besitzen, wird angenommen, dass diese bestimmte Gruppe Wasserstoffbrücken oder ähnliche dipolare Bindungen zu der

polaren Seite des OR bildet. Daher werden diese funktionellen Gruppen auch osmophile Gruppen der Duftstoffe genannt (Kraft 2005).

Abgesehen von der möglichen Bindungsstelle ist bekannt, dass jeder OR ein spezifisches Ligandenspektrum hat, was die Grundlage für die Duftdiskrimination (Triller et al. 2008, Saito et al. 2009) darstellt.

1.2.1 Odorant-Bindungsproteine

Als Bestandteil des Sekretes der Bowman-Drüse dient das duftstoffbindende Protein (OBP) der reversiblen Bindung von Duftstoffen (Liganden) an den olfaktorischen Rezeptor (Pelosi 2001). Es hilft hydrophoben Molekülen durch den Riechschleim zu den OR zu gelangen (Steinbrecht 1998, Tegoni et al. 2000, Ronnett & Moon 2002) und kann dabei strukturell unterschiedliche Duftmoleküle binden (Pevsner et al 1986, Tegoni et al 2000).

1.2.2 Signaltransduktion

Es gibt mehrere Theorien darüber, wie das Riechen funktioniert – wie Duftmoleküle mit Rezeptoren interagieren, wie sie ihre Eigenschaften an sie übermitteln und wie eine Riechwahrnehmung entsteht. Wieso z.B. Benzaldehyd und Blausäure trotz ganz unterschiedlicher Molekülform einen fast gleichen Geruch haben, der an Marzipan erinnert, oder die Isomere Vanillin und Isovanillin ganz verschieden riechen (Arctander 1994). Die meisten in der Natur vorkommenden Düfte sind Molekülkomplexe oder eine Mischung aus vielen verschiedenen Molekülen, die – wie auch die Mehrzahl der monomolekularen Duftstoffe - verschiedene Rezeptoren zur gleichen Zeit aktivieren (Malnic et al. 1999). Im Folgenden sollen drei verschiedene Theorien der Molekül-Rezeptor-Interaktion vorgestellt werden:

Weak-Shape-Theorie

Die Weak-Shape-Theorie wird auch als odotope Theorie bezeichnet. Sie sagt aus, dass die Form eines Moleküls von einem spezifischen Rezeptor erkannt wird, der daraufhin festlegt welcher Duft wahrgenommen wird. Im Gegensatz zum klassischen Schlüssel-Schloss-Prinzip binden die Rezeptoren jedoch nur einen kleinen Teil des Duftmoleküls, sodass viele verschiedene Moleküle denselben Rezeptor aktivieren können (Sell 2006). Somit kann jeder OR verschiedene Duftstoffe binden und jeder Duft wird durch die Aktivierung einer spezifischen Kombination von mehreren ORs wahrgenommen (Buck & Axel 1991).

Molekül-Volumen-Theorie

Diese Theorie basiert auf der Grundlage der Weak-Shape-Theorie und beschreibt ergänzend die entscheidende Rolle des Volumens eines Duftmoleküls. Saberi und Seyed-allaei entdeckten 2015 bei Taufliegen (*Drosophila*), dass die Reaktion der ORN auch vom molekularen Volumen des Duftstoffes abhängt. Dabei kann das Volumen die Qualität der Wahrnehmung des Stoffes über kombinatorische Verschlüsselungen beeinflussen. So hat jeder Rezeptor ein bevorzugtes Molekularvolumen, das durch das Volumen der Bindungsseite des Rezeptors bestimmt ist. Zusätzlich wird eine gewisse Flexibilität des Rezeptors beschrieben, die aus der Steifigkeit bzw. Verformbarkeit der Bindungsstelle resultiert.

Aus diesen Entdeckungen bei *Drosophila* schließen die beiden auf ein analoges Geschehen bei Wirbeltieren; weitere Forschungen dazu stehen noch aus (Saberi & Seyed-allaei 2015).

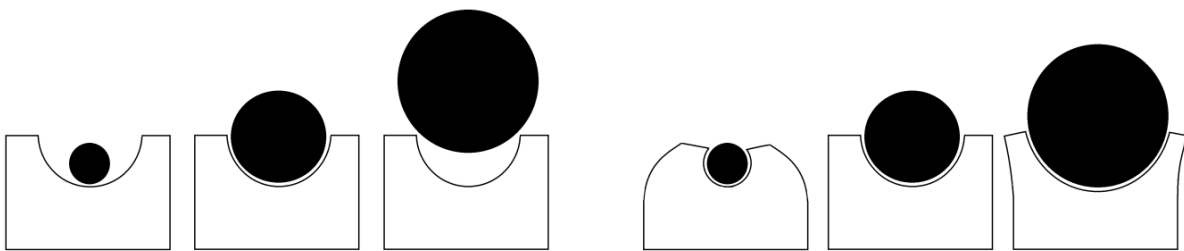


Abb. 3 a) Bindungsstelle Volumen

b) Bindungsstelle Flexibilität

jeder Rezeptor hat ein bevorzugtes Molekularvolumen, aber zugleich auch eine gewisse Flexibilität; modifizierte Abbildung aus: Olfactory receptors are sensitive to molecular volume of odorants (Saberi & Seyed-allaei 2015).

Zugleich spielt das molekulare Gewicht des Duftes eine entscheidende Rolle bei seiner Wahrnehmung. Duftstoffe haben ein molekulares Gewicht von maximal $400 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Schwerere Moleküle sind geruchlos. Partielle Anosmien treten häufig im Zusammenhang von Duftmolekülen mit einem Gewicht nahe der „Maximumgröße“ auf, z.B. große Moschusdüfte wie Pentadecanolid oder Tonalid (Turin 1996). Auch Laura Puschmann zeigte in ihrer Dissertationschrift mittels Intensitätsbewertungen, dass ihre Probanden eine intensivere Geruchswahrnehmung für kleinere Duftmoleküle als für größere hatten (Puschmann 2013).

Vibrationstheorie

Die heutige Forschung über die Vibrationstheorie des Riechens basiert auf der Theorie von Dyson aus dem Jahr 1938. Er nahm an, dass olfaktorische Organe molekulare Vibrationen

aufspüren können (Dyson 1938). Später wurde vermutet, dass der Geruch eines Moleküls durch intramolekulare Vibrationen bestimmt ist (Turin 1996, Rinaldi 2007). Die verschiedenen Vibrationsfrequenzen werden von unterschiedlichen ORs wahrgenommen, was erklären würde, warum ähnliche Moleküle unterschiedlich und verschiedene Moleküle wiederum gleich riechen (Rinaldi 2007).

Die Weak-Shape-Theorie wird am häufigsten vertreten. Je nachdem, wie Molekül und Rezeptor interagieren, muss der chemische Reiz in ein neuronales Signal umgewandelt werden. Bindet das Molekül an den olfaktorischen Rezeptor, so wird die in den Riechrezeptoren exprimierte α -Untereinheit $G\alpha_{olf}$ aktiviert, welche wiederum die Adenylylzyklase III anregt (Draguhn 2010). Diese bildet das zyklische Adenosinmonophosphat (cAMP), woraufhin unspezifische olfaktorische Kationenkanäle geöffnet werden und Na^+ und Ca^{2+} in die Zelle einströmen. Aufgrund des Ca^{2+} -Einstroms wird ein Chloridkanal geöffnet, sodass Cl^- aus der Zelle strömt. Dies führt zu einem depolarisierenden Rezeptorpotential, bis schließlich oberhalb des Schwellenpotentials von -50 mV das analoge Sensorpotential in ein digitales Aktionspotential umgewandelt und zum Bulbus olfactorius geleitet werden kann (Witt & Hansen 2009). Im Anschluss werden die Ionenkanäle durch einströmendes Ca^+ geschlossen. Dieser Mechanismus ist auch bei der Adaptation an andauernde Gerüche beteiligt (Draguhn 2010).

Abb. 4: olfaktorische Signalübertragung; durch ein G-Protein und die Adenylylcyklase werden Kationenkanäle geöffnet; abgeänderte Abbildung nach: Physiologie (Draguhn 2010).

1.2.3 Vorstellung spezieller olfaktorischer Rezeptoren

Buck und Axel entdeckten 1991, dass Duftstoffe von spezifischen Rezeptoren erkannt werden. Sie stellten fest, dass die OR Familie in 172 Subfamilien unterteilt werden kann, deren Mitglieder verwandte Proteinsequenzen haben und wahrscheinlich strukturell verwandte Düfte wahrnehmen können. Für diese Arbeit erhielten sie 2004 den Nobelpreis für Physiologie und Medizin (Buck & Axel 1991). ORs, die zur gleichen Subfamilie gehören, können Düfte mit ähnlichen Strukturen erkennen, was vermuten lässt, dass jede Subfamilie der Erkennung einer bestimmten Duftstoffklasse dient (Malnic et al. 1999, Kajiya et al 2001). 2004 konnten Malnic et al. 636 OR-Gene, 339 intakte und 297 OR-Pseudogene, beim Menschen finden. Ihre Ergebnisse zeigten, dass 38 chromosomale Loci einen oder mehrere intakte OR-Gene beherbergen und diese damit wahrscheinlich an der Funktion der Riechwahrnehmung beteiligt sind (Malnic et al 2004). Bei der Betrachtung der individuellen Genvariation fällt auf, dass die meisten OR-Gene aus einem offenen Leserahmen (open reading frame; ORF) bestehen, der ungefähr 1000 bp lang ist und keine Introns beinhaltet (Sosinsky et al 2000). Hinzu kommt, dass eine große Anzahl an variablen Funktionsverlusten (loss-of-function) innerhalb der OR-Genen vorliegen kann (MacArthur et al 2012). Daher ist es möglich, dass beim Menschen ein bestimmtes OR-Protein in etwa 10 verschiedenen Variationen existiert. Eine einzige Person exprimiert 490 bis 570 verschiedene OR-Protein-Varianten (Olender et al 2012, Kuklan 2014), was darauf schließen lässt, dass kein OR Repertoire dem anderen gleicht (Menashe et al. 2003) und dass die genetischen Unterschiede des menschlichen OR-Repertoires zur unterschiedlichen Wahrnehmung gleicher Düfte bei verschiedenen Personen führen können (Hasin-Brumshtein et al. 2009). Der olfaktorische Rezeptor bildet die erste Stufe in der olfaktorischen Wahrnehmung (Buck & Axel 1991) und wahrscheinlich stellt sein Polymorphismus die molekulare Basis für die duftspezifischen Schwellenunterschiede beim Menschen dar (Menashe et al. 2007). Krautwurst fasst das menschliche olfaktorische Rezeptorrepertoire in drei Familien zusammen: 1) olfaktorische Riechrezeptoren (OR) 2) vomeronasale Rezeptoren Typ 1 (VN1R) und 3) TAARs (Trace amine-associated receptors) (Krautwurst 2008). Insgesamt geht man von 413 potentiell funktionalen ORs, sieben potentiell funktionalen TAARs und fünf potentiell funktionalen VN1R beim Menschen aus (Krautwurst 2008, Olender et al. 2012). VN1R sind G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs) und können hauptsächlich im Vomeronasalorgan gefunden werden, das vermutlich keinerlei Funktion beim Menschen hat (Young et al 2005).

Die verschiedenen ORs werden immer nach einem bestimmten Muster benannt. Dem Hauptsymbol „OR“ folgt die Nummer der OR Familie, ein Buchstabe für deren Subfamilie, eine weitere Zahl für den spezifischen Rezeptor und falls notwendig ein „P“, um die pseudogenetische Sequenz anzuzeigen (Kuklan 20014).

Riechrezeptor OR7D4

Der Riechrezeptor OR7D4 wird selektiv im menschlichen Nasenepithel exprimiert (Zhang et al. 2007). Ein zellbasierendes Screening, bei dem eine Expressionsbibliothek (eine besondere Art der Genbank) der menschlichen OR verwendet wurde, identifizierte OR7D4 als einen Hauptrezeptor für Androstenon (Lunde et al. 2012). So vermuten Keller et al. eine Korrelation zwischen der Fähigkeit, diesen Stoff wahrzunehmen und dem Auftreten genetischer Variationen im menschlichen OR7D4. Dieser Rezeptor sei ein erblicher Faktor, der die Androstenonwahrnehmung signifikant beeinflusst. Bei ihren Untersuchungen stellten die Autoren fest, dass die bekannte Variation OR7D4 WM des Rezeptors zwei nicht gleiche Einzelnukleotid-Polymorphismen enthält, welche durch den Austausch von zwei Aminosäuren R88W und T133M (im Folgenden als „RT“ bezeichnet) erkennbar sind. Der Austausch von Aminosäuren in einer OR-Peptidsequenz könne folglich die Funktion des Rezeptors in vitro stark beeinflussen (Keller et al 2007, Gelis et al. 2012, Jaeger et al. 2013). Probanden mit dem RT/WM oder WM/WM Genotyp weisen bei den Testungen eine geringere Sensitivität gegenüber Androstenon und Androstadienon auf und empfinden den Stoff weniger unangenehm als Testpersonen mit dem Genotyp RT/RT. Zugleich räumt Keller ein, dass ein Polymorphismus in der OR7D4 Protein-Codingsequenz nicht alleinig für eine spezifische Anosmie gegenüber Androstenon verantwortlich sein kann (Keller et al 2007). Keller und Lunde erklären 40% der auftretenden Unterschiede in der Wahrnehmung von Androstenon beim Menschen mit der Variation des OR7D4 Genotyps (Keller et al 2007, Lunde et al. 2012).

Auch Zhuang et al. konnten einen Zusammenhang zwischen diesem Rezeptor und der Riechwahrnehmung für die Steroide Androstenon und Androstadienon in vivo nachweisen (Zhuang et al. 2009).

Riechrezeptor TAAR5

TAARs (Trace amine-associated receptors) gehören zu der spezifischen Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs) bei Wirbeltieren. Menschen besitzen sieben funktionelle TAAR-Gene und zwei TAAR-Pseudogene. Bei Mäusen geschieht die Signaltransduktion bei den TAARs ebenso wie bei den ORs über den charakteristischen $G\alpha_{olf}$ abhängigen Transduktionsmechanismus (Liberles & Buck 2006). Im Gegensatz zum humanen TAAR1, das z.B. im Magen, in der Niere, Lunge und im Gehirn exprimiert wird (Borowsky et al. 2001), werden TAAR2-9 der Maus ausschließlich in kleinen Teilen der olfaktorischen Neurone im olfaktorischen Epithel exprimiert. So fungieren die TAARs als chemosensorische Rezeptoren bei der Maus (Liberles & Buck 2006).

Das Ligandenspektrum der TAARs besteht hauptsächlich aus flüchtigen Aminen. So reagieren beispielsweise mTAAR3 auf Isoamylamin, mTAAR5 auf Trimethylamin (TMA), mTAAR7 auf N-Methylpiperidin (Liberles & Buck 2006, Liberles 2009, Ferrero et al. 2012) und mTAAR4 auf β -Phenylethylamin (Ferrero et al. 2011). TMA und Isoamylamin können im männlichen Mausurin nachgewiesen werden und fungieren vermutlich als Pheromone (Nishimura et al. 1989).

Es wird angenommen, dass die Anzahl der vorhandenen, intakten TAAR-Gene zwischen den Wirbeltierspezies stark variiert (Hashiguchi & Nishida 2007); beispielsweise wurden in einer weiteren Studie 5 funktionelle menschliche TAAR nachgewiesen, beim Zebrafisch hingegen 57 (Gloriam et al. 2005).

Beim Menschen wurde ebenfalls eine spezifische Aktivierung des Rezeptors TAAR5 durch TMA nachgewiesen. Es wird allgemein vermutet, dass das humane TAAR5 ein molekularer Sensor für die Wahrnehmung von flüchtigen Aminen ist und an spezifischen Anosmien beteiligt ist (Wallrabenstein et al. 2013).

Riechrezeptoren OR11H4, OR11H6 und OR11H7P

Menashe et al. entdeckten, dass der Funktionsverlust des Rezeptors OR11H7P zu einer erhöhten Erkennungsschwelle bei Isovaleriansäure (IVA) führt. Daraus schlussfolgerten sie einen Zusammenhang zwischen der Funktionsfähigkeit von OR11H7P und der Wahrnehmung von IVA. So waren Probanden mit zwei zerrissenen OR11H7P Allelen (sogenannte Pseudogene) weniger sensitiv gegenüber Isovaleriansäure. Nur in Anwesenheit eines intakten OR11H7P-Allels konnte eine Riechwahrnehmung stattfinden. Der Genotyp von OR11H7P erkläre 8% der Schwellenunterschiede bei der Wahrnehmung von Isovaleriansäure (Menashe et al. 2007).

Des Weiteren stellten sie fest, dass die Rezeptoren OR11H4 und OR11H6 ebenso auf IVA reagieren und somit potentielle Rezeptorkandidaten für die Wahrnehmung von IVA sind (Menashe et al. 2007). Diese Feststellung würde mit der Auffassung übereinstimmen, dass OR-Proteine derselben Subfamilie dazu tendieren, ähnliche Duftstoffe zu binden (Malnic et al. 1999). Allerdings konnten diese genetischen Zusammenhänge in einer späteren Studie nicht bestätigt werden (McRae et al. 2013).

Fortführende Forschung identifizierte einen weiteren Rezeptor als potentiellen Sensor für IVA. OR51E1 zeigte bei den Testungen von Mainland et al. eine dosisabhängige Aktivierung und zählt nun ebenso zu den möglichen Kandidaten, die für die Wahrnehmung von Isovaleriansäure verantwortlich sind (Mailand et al. 2013).

1.3 olfaktorisches Lernen

Der menschliche Lern- oder Gedächtnisvorgang wird durch die Modifikation der synaptischen Übertragung zwischen den Neuronen beeinflusst. Solch eine Modifikation wird wiederum als Gedächtnis gespeichert. Die adaptive Anpassung von synaptischen Prozessen wird zusammenfassend synaptische Plastizität genannt, die allgemein als der Umbau einer Struktur in Abhängigkeit von seiner Verwendung definiert ist (Pape 2010).

Der Hippocampus stellt für das Lernen eine wichtige Struktur dar. Er ist an der Übertragung von Gedächtnisinhalten in den Speicher des sekundären Gedächtnisses beteiligt (Huppelsberg & Walter 2009). Beim Menschen findet ausschließlich im Bulbus olfactorius und im Gyrus dentatus des Hippocampus eine Genese von neuen Nervenzellen statt (Palmer et al. 1999, Lledo et al. 2006). Die olfaktorischen Rezeptoren im Riechepithel werden etwa alle 60 Tage bei Säugetieren erneuert (Wehner et al. 2007), beim Menschen sind diesbezüglich keine Daten bekannt (Witt & Hansen 2009).

In einer Studie wurde herausgefunden, dass der Ursprung der Plastizität des olfaktorischen Epithels zentral liegt. Bei der Testung mit Androstenon wurde den spezifisch anosmischen Probanden ein Nasenloch verdeckt. Es wurde festgestellt, dass es den Probanden am Ende möglich war, den Duft über beide Nasenlöcher wahrzunehmen, obwohl die Epithelien beider Nasenhälften peripher nicht miteinander verbunden sind. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass das Riechlernen über einen Mechanismus im Gehirn stattfindet, der die Informationen von beiden Nasenhälften teilt und zusammenfügt (Mailand et al. 2002).

Nissant et al. untersuchten die Auswirkung von adulter Neurogenese im Riechkolben bei Mäusen. Sie entdeckten eine Plastizität bei den glutamatergen Synapsen auf GABA-bildenden Interneuronen. Ein Teil der stimulierenden Synapsen auf adult-geborenen Körnerzellen zeigten eine Langzeitpotenzierung, dementsprechend eine langandauernde Verstärkung der synaptischen Übertragung auf nachgeschaltete Strukturen, kurz nachdem die Synapsen im Riechkolben angekommen sind (Nissant et al. 2009).

Frisch erzeugte, adult-geborene olfaktorische Interneurone durchleben unterschiedliche erfahrungsabhängige, synaptische Modifikationen, verglichen mit ihren bereits im Riechkolben vorhandenen ausgereiften Nachbarzellen und liefern eine mögliche Grundlage für die Erforschung von neurogenese-abhängigen olfaktorischen Lernen beim Erwachsenen. Dies lässt vermuten, dass neugeborene Körnerzellen eine größere Tendenz zur synaptischen Plastizität haben als bereits vorhandene, damit neuen Düften gegenüber reaktionsfreudiger sind (Magavi et al. 2005) und dementsprechend das Diskriminationslernen verbessern (Mouret et al. 2008). Es ist aber nicht ausgeschlossen, dass auch bereits vorhandene Neurone andere Formen von Plastizität durchleben (Nissant et al. 2009).

2 Fragestellungen und Hypothesen

Ziel der vorliegenden prospektiven klinischen Studie war es, die Verteilung des Vorkommens einer spezifischen Anosmie bezüglich Androstenon, Trimethylamin und Isovaleriansäure innerhalb einer gesunden Population zu ermitteln. Zusätzlich sollte mithilfe eines dreimonatigen, häuslichen, eigenständigen und regelmäßigen Trainings nachgewiesen werden, ob es möglich ist, dass identifizierte spezifische Anosmiker in der Lage sind, das Wahrnehmen dieser Duftstoffe zu trainieren und zu erlernen.

Parallel wurden in Zusammenarbeit mit Dr. Günter Gisselmann vom Lehrstuhl für Zellphysiologie der Ruhr-Universität Bochum die genetischen Grundlagen einer solchen spezifischen Anosmie untersucht, wofür DNA-Proben von den am Training und Recall teilnehmenden Probanden verwendet wurden. Besonderes Augenmerk galt dabei dem Polymorphismus olfaktorischer Rezeptorgene, von dem vermutet wird, dass er allgemein durch den Austausch von Aminosäuren in der Peptidsequenz des Rezeptors für das Auftreten spezifischer Anosmien verantwortlich ist (Olender et al. 2012).

Bisherige Studien haben bestimmte olfaktorische Rezeptoren identifiziert, die an der Wahrnehmung der drei Testduftstoffe beteiligt sind (Keller et al. 2007, Menashe et al. 2007, Lunde et al. 2012, Mainland et al. 2013, Wallrabenstein et al. 2013). So wurde zu Beginn dieser Untersuchungen angenommen, dass die DNA der olfaktorischen Rezeptoren Polymorphismen aufweist, die ihre Funktionalität beeinflussen und eine spezifische Anosmie zur Folge haben. Daher bestand die Frage, ob solche Polymorphismen auch bei den Probanden nachzuweisen sind, die als spezifische Anosmiker identifiziert wurden.

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

3.1.1 Allgemeines Studiendesign

Die Daten wurden im Rahmen einer prospektiven Studie von September 2011 bis September 2012 mit insgesamt 180 Probanden erhoben. Die Studie umfasst mindestens einen und maximal zwei Termine, die jeweils 30 Minuten dauerten und ein optionales, häusliches Training über den Zeitraum von 3 bis 4 Monaten.

Probanden, die sowohl am ersten Termin als auch am Training teilnahmen, wurden mit einem zeitlichen Abstand von ca. 3 bis 5 Monaten zwischen beiden Versuchsteilen getestet.

Alle Testpersonen wurden über den Ablauf und die Ziele der Studie sowie mündlich als auch schriftlich aufgeklärt und unterschrieben eine Einverständniserklärung. Sie erhielten eine finanzielle Aufwandsentschädigung von 7 € pro Testung.

Vor Beginn der Probandentestung wurde das Studienprotokoll der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät „Carl Gustav Carus“ der TU Dresden vorgelegt und von dieser genehmigt (EK 40022009). Die Studie wurde unter den Gesichtspunkten der Deklaration von Helsinki durchgeführt (Spiegel 2005).

3.1.2 Teilnehmer

Die Teilnehmer wurden mittels Aushängen in der TU Dresden, einer Annonce bei Ebaykleinanzeigen und über persönliche Kontakte gesucht. Ihre Auswahl erfolgte zufällig und auf freiwilliger Basis. Alle Probanden mussten folgenden Kriterien entsprechen:

Alter zwischen 18 und 45 Jahren

- kein Vorliegen einer Schwangerschaft
- keine akute oder ausgeprägte chronische Entzündung der Nase und der Nasennebenhöhlen
- keine weiteren Erkrankungen im HNO-Bereich
- keine wesentlichen gesundheitlichen Beeinträchtigungen wie Multiple Sklerose, Morbus Parkinson, Niereninsuffizienz

In die Untersuchung wurden insgesamt 180 Probanden, davon 46 Männer (25,6%) und 134 (74,4%) Frauen im Alter zwischen 18 und 45 Jahren (25,2 MW), aufgenommen. Drei Studienteilnehmer wurden aufgrund des zu hohen Alters von der Auswertung ausgeschlossen.

Die ersten zwei Tests wurden bei allen 180 Teilnehmern durchgeführt; Ziel war es, die Testpersonen auf ein normales Riechvermögen hin zu untersuchen und Anosmiker bezüglich der Teststoffe herauszufinden (Screening). Bei diesem Screening wurden 23 spezifische Anosmiker identifiziert. Sie wurden gebeten, ein häusliches Training über einen Zeitraum von 3 Monaten durchzuführen, danach wurden sie zu einem zweiten Untersuchungstermin eingeladen (Recall). Von den 23 Personen, die am Training teilnahmen, folgten 19 dem Recall, deren Trainingsergebnisse in die Studie einbezogen werden konnten.

3.2 Duftstoffe

Für die Versuchsreihe wurden die Stoffe Androstenon, Trimethylamin und Isovaleriansäure in flüssiger Form verwendet. Die Duftstoffe sind dafür bekannt, dass sie nicht von allen Menschen wahrgenommen werden können, was auf eine spezifische Anosmie zurückgeht (Amoore & Forrester 1976, Amoore 1977, Griff & Reed 1995, Keller et al. 2007, Lunde et al. 2012). Amoore zählte sie zu den primären Duftstoffen und beobachtete bei ihnen neben 1-Pyrrolin, Isobutanal und ω -Pentadecalacton einen maximalen anosmischen Defekt (Amoore 1977).

3.2.1 Herstellung

Zur Verdünnung der oben genannten Stoffe wurde das geruchsneutrale und farblose Lösungsmittel 1,2-Propanediol verwendet.

Von der Klinik-Apotheke des Universitätsklinikums „Carl Gustav Carus“ wurden von den Ausgangskonzentrationen von Trimethylamin und Isovaleriansäure jeweils eine Verdünnungsreihe im Verhältnis Duftstoff : Lösungsmittel (1,2-Propanediol) von $1:10^{10}$ bis $1:10$ und von Androstenon von $1:10^{10}$ bis $1:10^3$ hergestellt. Somit ergaben sich bei den erstgenannten Stoffen jeweils 10 Konzentrationsstufen und bei Androstenon 8. Ca. 4ml jeder Lösungsstufe wurden in braune Flaschen einem Fassungsvermögen von 10ml und schwarzen Schraubdeckeln gefüllt.

Für den Schwellentest wurden pro Konzentrationsstufe zusätzlich zwei Flaschen mit 4ml geruchlosem 1,2-Propandiol befüllt.

Nach der 88. und 141. Probandentestung wurde die gesamte Verdünnungsreihe durch die Klinikapotheke neu angefertigt, um ein Verfälschen der Ergebnisse durch Verlust der Duftintensität der Probe oder äußere Einflüsse wie z.B. versehentliches Berühren der Probandennase, zu mindern.

60 Medizinflaschen á 50ml wurden mit je 5ml 1,2-Propylenglycol, 0,2ml Androstenon, Trimethylamin oder Isovaleriansäure und einem Mulltupfer für das Training zu Hause vorbereitet, sodass pro Stoff 20 Flaschen zur Verfügung standen.

3.2.2 Androstenon

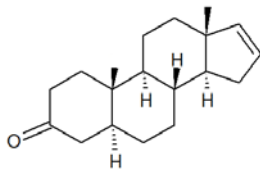


Abb. 5: Strukturformel Androstenon

Androstenon ist ein Steroid mit einer relativen Molmasse (M_r) von 272, 43 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ und kann sowohl als süßlich-blumiger als auch stechend-urinöser Duft wahrgenommen werden (Beets & Theimer 1970, Van Toller et al. 1983). Beim Menschen wird es im Axelhaar, im männlichen apokrinen Sekret (Labows & Preti 1992), im Speichel (Bird & Gower 1983) und im Urin (Brooksbank et al. 1974) gefunden. Bei Frauen scheint Androstenon nur in geringeren Konzentrationen vorhanden zu sein (Zeng et al. 1996).

Ca. 40% der Allgemeinbevölkerung sind laut Studien diesem Stoff gegenüber partiell anosmisch (Hummel et al. 1991, Pause et al. 1999, Schmidt et al. 2007).

3.2.3 Trimethylamin

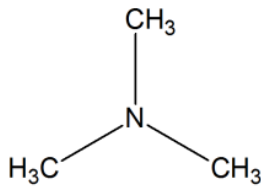


Abb. 6: Strukturformel Trimethylamin

Trimethylamin (TMA), das einfachste tertiäre Amin, ist ein in Wasser und Alkohol sehr leicht lösliches farbloses, fisch- oder tranartig riechendes Gas mit einer relativen Molmasse (M_r) von 59, 11 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Hartmann-Schreier 2005).

Trimethylamin-Oxid wird im zirkulierenden Blut von Knochenfischen in hohen Konzentrationen gefunden. Mit dem Tod eines Fisches setzt die bakterielle Zersetzung ein, wobei TMA frei wird und der typisch fischige Geruch entsteht. Die Konzentration von freiem TMA gilt daher als weitverbreiteter Index für die Frische von gehandeltem Fisch (Jones 1967).

Studien zufolge sind 7% der Allgemeinbevölkerung spezifisch anosmisch gegenüber TMA (Amoore & Forrester 1976, Schmidt et al. 2007).

3.2.4 Isovaleriansäure

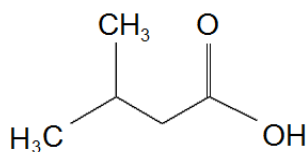


Abb. 7: Strukturformel Isovaleriansäure

Isovaleriansäure (3-Methylbuttersäure) ist eine ölige, farblose Flüssigkeit mit einer relativen Molmasse (M_r) von 102,13 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Jahn 2014), deren schweißähnlicher Geruch an schwitzende Füße erinnert (Amoore 1977). 3-Methylbuttersäure findet sich in den Baldrianwurzeln, in den Beeren des Schneeballs, in Engelwurz und im Analdrüsensekret von Mardern wieder und sie prägt die Aromen von Käse, Kaffee und Weinen (Holscher et al. 1995).

Rund 2-3 % der Allgemeinbevölkerung sind laut Studien anosmiker für diesen Stoff (Whissell-Buechy 1973, Amoore 1977, Schmidt et al. 2007).

3.3 Untersuchungsablauf

3.3.1 Vorbereitung

Bevor die Testung der Probanden beginnen konnte, wurden alle Teilnehmer gebeten, die Einwilligungserklärung durchzulesen und zu unterschreiben. Sie wurden zuvor sowohl mündlich als auch schriftlich über die Dauer, den Inhalt und die Ziele der Studie sowie über den Datenschutz durch den Untersucher aufgeklärt. Dabei wurde deutlich darauf hingewiesen, dass die Teilnahme freiwillig ist und ein Abbruch oder Unterbrechen ohne Nennen von Gründen jederzeit möglich ist.

Für jede Testperson wurde eine Allgemeinanamnese und Angaben über die Vorgeschichte bezüglich eventuell bestehender oder früherer Krankheiten, Medikamenteneinnahmen sowie Alkohol- und Nikotinkonsum erhoben. Außerdem erfolgte eine Selbsteinschätzung des Riech- und Schmeckvermögens sowie die Einschätzung der Nasenatmung durch die Teilnehmer.

Die Probanden wurden gebeten, eine Stunde vor der Testung keine Nahrung mehr zu sich zu nehmen, nur Wasser zu trinken und nicht zu rauchen. Während der Testung wurde auf ein ruhiges und geruchsneutrales Umfeld geachtet, um ablenkende Faktoren zu minimieren. Während der Testung trug der Untersucher geruchlose Baumwollhandschuhe.

3.3.2 Durchführung „Screening“ inklusive Mundabstrich

Der erste Teil der Probandentestung gliederte sich in den Identifikations- und Schwellentest und die Entnahme eines Mundabstriches. Ziel war es, unter den 180 Teilnehmern spezifische Anosmiker für die Stoffe Isovaleriansäure, Trimethylamin und Androstenon zu finden.

Identifikationstest

Begonnen wurde mit dem Identifikationstest, um Normosmiker zu identifizieren und Hyposmiker von der Studie ausschließen zu können. Dabei wurden 12 sogenannte „Sniffin' Sticks“ mit 12 verschiedenen Düften verwendet. Jeder Stift wurde ca. 2cm unterhalb der Nase des Probanden für zwei Sekunden präsentiert. Der Proband hatte die Aufgabe, den dargebotenen Duft aus vier Antwortmöglichkeiten zu bestimmen, die ihm auf Antwortkarten vorgegeben waren. Eine Entscheidung musste getroffen werden. Probanden mit weniger als

10 richtig identifizierte Düfte wurden vom weiteren Verlauf der Studie ausgeschlossen, da vermutet werden musste, dass ihr allgemeines Riechvermögen bereits ungenügend ist.



Abb. 8: Identifikationstest; bestehend aus 12 „Sniffin‘ Sticks“

Schwellentest

Ziel des Schwellentestes war es, die Konzentrationsstufe zu finden, bei der der Teststoff von der Testperson sicher wahrgenommen wird.

Um bei den Versuchen eine visuelle Beeinflussung der Entscheidung zu vermeiden, trugen die Probanden bei diesem Teil eine schwarze Schlafbrille zur Verdeckung der Augen. Für den Test wurden 84 befüllte Flaschen eingesetzt - jeweils 30 Fläschchen für die Stoffe Trimethylamin und Isovaleriansäure und 24 für Androstenon, deren Herstellung unter 3.2.1 beschrieben wurde. Stellvertretend für den Schwellentest aller drei Stoffe wird im Folgenden der für Trimethylamin (TMA) erläutert.

Gestartet wurde mit der niedrigsten Konzentration ($1:10^{10}$). Der Untersucher präsentierte nacheinander und in randomisierter Reihenfolge drei Flaschen 2 cm unterhalb der Nase des Probanden, woraus dieser das Gefäß mit TMA identifizieren musste. Die anderen zwei Flaschen enthielten das geruchsneutrale 1,2-Propandiol. Eine erneute Präsentation der

Behältnisse war nicht möglich. Der Versuchsteilnehmer wurde per „Forced-Choice“-Auswahlverfahren gebeten sich für eine Flasche zu entscheiden, in der er TMA vermutete. Erkannte der Getestete TMA, so wurde dieselbe Verdünnung ($1:10^{10}$) ein zweites Mal geprüft. Konnte die richtige Flasche nun nicht mehr ermittelt werden, wurde eine Konzentrationsstufe höher dargeboten, in diesem Fall $1:10^9$. Beim richtigen Benennen wurde diese Stufe ($1:10^9$) ein zweites Mal getestet, beim Nichterkennen hingegen wieder um eine Konzentration erhöht ($1:10^8$). Sobald der Proband das Behältnis mit TMA zweimal nacheinander richtig identifizieren konnte, wurde die Verdünnungsstufe wieder verringert. Dieser Vorgang signalisierte den Startpunkt der Schwellentestung. Nun wurden solange niedrigere Konzentrationen angeboten, bis es dem Probanden nicht mehr möglich war, zweimal nacheinander die korrekte Flasche zu benennen. War dies der Fall, so erhöhte sich die Konzentration wieder um eine Verdünnungsstufe. Dieser Vorgang wurde so oft wiederholt, bis entweder 7 sogenannte Wendepunkte durchlaufen wurden oder der Proband viermal nacheinander zwei korrekte Antworten gab. Die Schwelle wurde nun anhand des Mittelwertes der letzten vier Wendepunkte berechnet (Hummel et al. 1997).

	▲	▼	▲	▼	▲	▼	▲
1							
2							
3							
4							
5							XX
6	XX		XX		XX		-
7	-	XX	X-	X-		X-	
8	X-	X-					
9	-						
10	-						

Tab. 1: Beispiel einer Schwellentestung; Die Ziffern 1 bis 10 geben die Duftstoffkonzentration ($1:10^1 - 1:10^{10}$) an; die Pfeile zeigen dem Untersucher an, ob jeweils eine höhere oder niedrigere Konzentration jeweils notwendig ist. Wendepunkte sind mit roten Kreisen markiert, der Startpunkt ist grau hinterlegt; „x“ bedeutet Flasche mit Teststoff erkannt, „-“ nicht erkannt.

Mundabstrich

Im Anschluss an die Testung wurde dem Versuchsteilnehmer aus Höhe der Interkalarlinie mithilfe eines DNA-Swabs der Firma Isohelix ein Mundabstrich entnommen. Die Probe

wurde unmittelbar im Anschluss an den Versuch in einem Gefrierschrank bei einer Temperatur von -20°C aufbewahrt.

Die Abstriche wurden mit Trockeneis gekühlt zur weiteren Analyse an die Ruhr-Universität Bochum, Fakultät für Biologie und Biotechnologie, Lehrstuhl für Zellphysiologie geschickt.



Abb. 9: Isohelix DNA-Swab

3.3.3 Häusliches Training

Probanden, die bei den Stoffen TMA und Isovaleriansäure eine Schwelle $\leq 4,25$ und bei Androstenon ≤ 4 aufwiesen, zeigten eine spezifische Anosmie auf und wurden gebeten, am zweiten Teil der Studie teilzunehmen, dem Training zu Hause. Dazu wurde ihnen eine Flasche mit einer Probe des jeweiligen Stoffes mitgegeben (Herstellung s. 3.2.1), an der sie zweimal täglich, morgens und abends, für ca. 5 Sekunden riechen sollten. Nach drei Monaten war das Training beendet und die Versuchsteilnehmer wurden zu einem Recall-Termin einbestellt.

3.3.4 Recall Anosmiker

Nach dem häuslichen Training wurde die Geruchsschwelle des Probanden bezüglich des Stoffes, für den er beim ersten Versuchsteil eine spezifische Anosmie gezeigt hatte, ein zweites Mal getestet. Der Ablauf erfolgte analog des unter 3.3.2 beschriebenen Schwellentestes. Erneut wurde die niedrigste zuverlässig unterscheidbare Konzentration ermittelt, die somit die Riechschwelle darstellt (Wysocki et al. 1989).

Im Anschluss wurden die Ergebnisse des ersten und zweiten Schwellentestes miteinander verglichen.

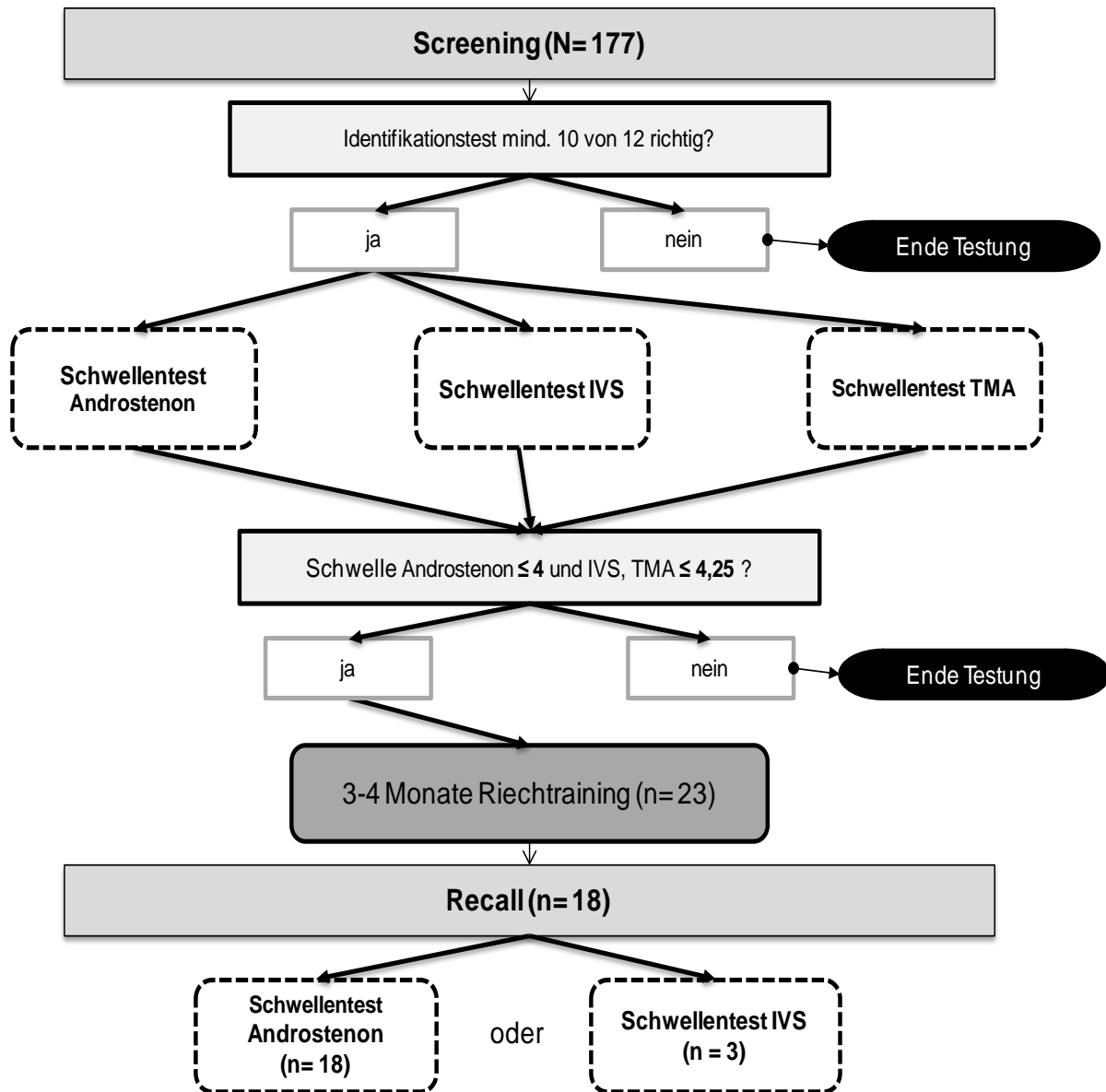


Abb. 10: Flussdiagramm Untersuchungsablauf

3.3.5 Auswertung Mundabstrich

Die Untersuchung erfolgte mithilfe einer Hochdurchsatz-Sequenzierung am Lehrstuhl für Zellphysiologie der Ruhr-Universität Bochum. Anhand der DNA der bukkalen Zellen konnten die Allelfrequenzen der genetischen Varianten in den offenen Leserahmen aller menschlichen Geruchsrezeptoren bestimmt werden. Anschließend wurden die Frequenzen aus den Proben von spezifischen Anosmikern mit denen zufällig ausgewählter Probanden ohne spezifische Anosmie verglichen (Kuklan 2014).

3.4 Statistische Auswertung

Bei der statistischen Auswertung wurde das Programm IBM SPSS Statistics Standard (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) sowie Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corp., Redmond, Washington, USA) verwendet.

Die Korrelationsanalyse nach Pearson zur Überprüfung von Zusammenhängen erfolgte mit einem festgelegten Signifikanzniveau von $p < 0,05$ (zweiseitig). Zur Untersuchung der Auswirkung eines Faktors auf mehrere Zielgrößen wurden multifaktorielle Varianzanalysen ANOVA durchgeführt. Des Weiteren wurden Standardfehler (SD), Standardabweichungen (SE) und Mittelwerte (MW) für die deskriptive Statistik berechnet.

4 Ergebnisse

4.1 Probanden, die an der Studie teilnahmen

Für die Studie meldeten sich insgesamt 180 gesunde Probanden - 46 Männer und 134 Frauen. Drei von ihnen mussten aufgrund der Überschreitung des Altersmaximums (45 Jahre) ausgeschlossen werden, so dass für die statistische Auswertung 177 Probanden erfasst werden konnten. 22 Probanden gaben an, regelmäßig zu rauchen. Das Durchschnittsalter betrug 24,77 Jahre (Minimum 18; Maximum 45).

	n	Prozent
Probandenübersicht		
Gesamt	177	100
Männlich	46	26
Weiblich	131	75,9
Raucher	22	12,4
Alkohol - regelmäßig	5	2,8
Krankheitsanamnese		
NNH-Entzündung	2	1,1
Heuschnupfen	36	20,3
Kopfschmerz	15	8,5
Unfall mit Kopfbeteiligung	10	5,6
häufige Erkältung/Grippe/Schnupfen	11	6,2
Nasenpolyp	3	1,7
behinderte Nasenatmung	1	0,6
Nerven-/Hirnerkrankung	1	0,6
Hepatitis	1	0,6
Diabetes mellitus	0	0
Hyperthyreose	0	0
Medikamente		
Antikontrazeptiva	56	31,6
Andere	15	8,5
Selbsteinschätzung Riechen		
sehr gut	19	10,7
deutlich besser	16	9
etwas besser	19	10,7
normal	116	65,5
schlecht	7	4

Tab. 2: Probandenübersicht

4.2 Auswertung Identifikationstest

Der Identifikationstest zu Beginn einer Probandentestung, bei dem mindestens 10 von insgesamt 12 Sniffin' Sticks richtig erkannt werden mussten, diente dem Aussortieren jener Teilnehmer, die von Beginn an eine verringerte Riechwahrnehmung hatten.

Alle 177 Probanden bestanden den Test und konnten an den weiteren Riechtesten teilnehmen. Durchschnittlich wurden 11,31 (SD 0,72) von 12 Düften richtig identifiziert.

4.3 Auswertung Schwellentest „Screening“

Das sogenannte „Screening“ diente der Identifikation spezifischer Anosmiker bezüglich Androstenon, Trimethylamin (TMA) und Isovaleriansäure (IVS) mit der Hilfe von drei Schwellentests. Wurde eine spezifische Anosmie nachgewiesen, so konnten die Probanden an einem häuslichen Training teilnehmen, mit dem die Möglichkeit des Erlernens der Wahrnehmung des zutreffenden Stoffes nachgewiesen werden sollte. Der Ablauf eines solchen Schwellentests wurde unter 3.3.2 erläutert. Die genauen Ergebnisse werden tabellarisch im Anhang dargestellt.

Unter den 177 Probanden wurden 46 mit einer spezifischen Anosmie gefunden; 34 Frauen und 12 Männer. 44 waren gegenüber Androstenon anosmisch, 3 gegenüber IVS und einer gegenüber TMA. Zwei Probanden waren sowohl gegenüber IVS als auch gegenüber Androstenon spezifisch anosmisch.

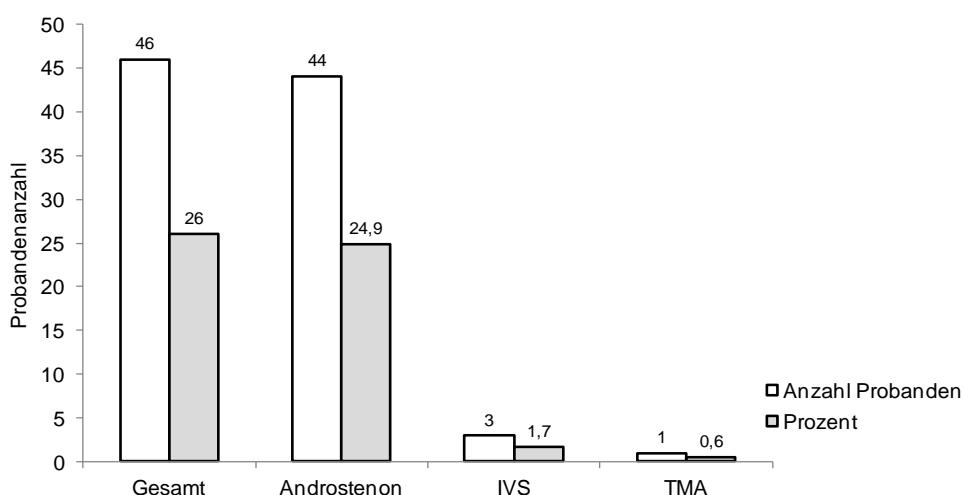


Abb. 11: Verteilung spezifische Anosmie; Dargestellt wurden die Anzahl der Probanden mit spezifischer Anosmie und die prozentuale Verteilung unter den Gesamtteilnehmern (N=177).

4.3.1 Schwellentest Androstenon

Der Schwellentest für Androstenon umfasste 8 Konzentrationsstufen. Dabei war 10 die niedrigste Konzentration (Duftstoff : Lösungsmittel = 1:10¹⁰) und 3 die höchste (Duftstoff : Lösungsmittel = 1:10³). Der Durchschnittsschwellenwert betrug 7,15 (SD 2,83) und war damit der höchste von allen drei zu testenden Stoffen. Rund ein Drittel aller Probanden konnten Androstenon bei der geringsten Konzentration (1:10¹⁰) wahrnehmen und wies somit keinerlei Defizite bei der Wahrnehmung des Stoffes auf. Die meisten dieser Teilnehmer beschrieben den dargebotenen Duft als stechenden, an Schweiß erinnernden Geruch.

21 Testteilnehmer hingegen hatten eine Riechschwelle von 1:10⁶ bis 1:10⁴ und daraus schlussfolgernd eine verringerte Sensitivität gegenüber Androstenon. Diese Probanden beschrieben den wahrgenommenen Duft vorwiegend als blumig oder süßlich.

Unter den 177 Probanden hatten 44 eine Schwelle ≤ 4 und wiesen somit eine spezifische Anosmie auf. Der durchschnittliche Schwellenwert der identifizierten spezifischen Anosmiker betrug 3,18 (SD 0,26). Unter diesen 44 Testpersonen befanden sich vier Männer und 18 Frauen mit einem Durchschnittsalter von 25,18 (SD 4,81) Jahren. Zwei Teilnehmer (Proband Nr. 5 und Nr. 6) waren zugleich spezifische Anosmiker bezüglich Isovaleriansäure.

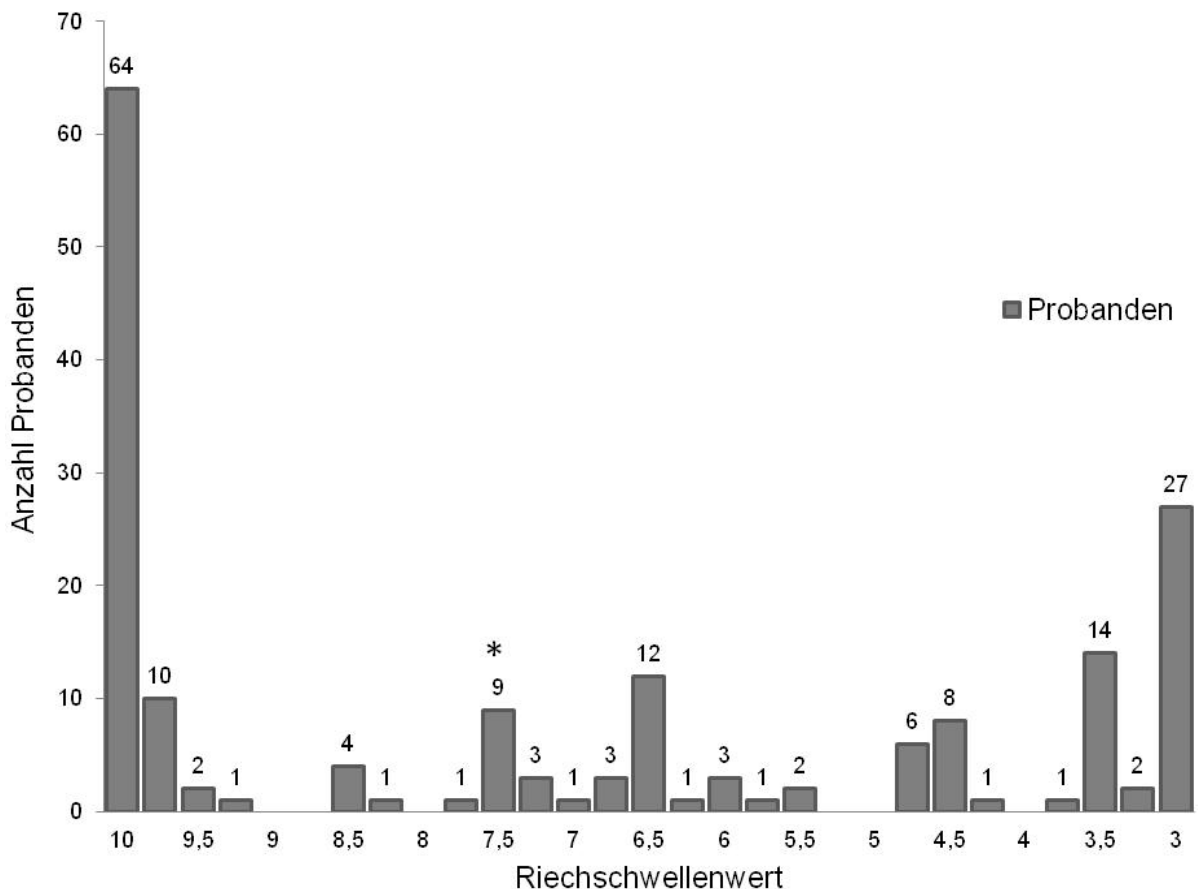


Abb. 12: Verteilung der Riechschwellen von Androstenon; N=177, * zeigt den Median an.

4.3.2 Schwellentest Isovaleriansäure

Dieser Schwellentest bestand aus 10 Konzentrationsstufen, wobei 10 die niedrigste (Duftstoff : Lösungsmittel = 1:10¹⁰) und 1 die höchste (Duftstoff : Lösungsmittel = 1:10¹) Konzentration war. Das Durchschnittsergebnis aller Schwellenwerte von Isovaleriansäure (IVS) betrug 8,71 (SD 2,3). Zwei Drittel der Testpersonen erreichten eine Wahrnehmungsschwelle von 1:10¹⁰ bis 1:10⁹ und konnten daraus schlussfolgernd den Stoff ohne Einschränkungen wahrnehmen. Die höchste Riechschwelle lag bei 1,5. Die Riechschwelle von 31 Probanden lag zwischen 1:10⁶ und 1:10^{4,25}. Sie wiesen somit eine verringerte Sensitivität gegenüber IVS auf. Bei drei der 177 Probanden lag die Schwelle bei $\leq 4,25$, so dass sie als spezifische Anosmiker bezüglich IVS einzuordnen waren. Der Durchschnittsschwellenwert dieser drei Teilnehmer – zwei Frauen und ein Mann - betrug 2,75 (SD 1,39), ihr Altersdurchschnitt lag bei 31,33 (SD 1) Jahren. Proband Nr. 5 und Nr. 6 wiesen parallel eine spezifische Anosmie bezüglich Androstenon auf.

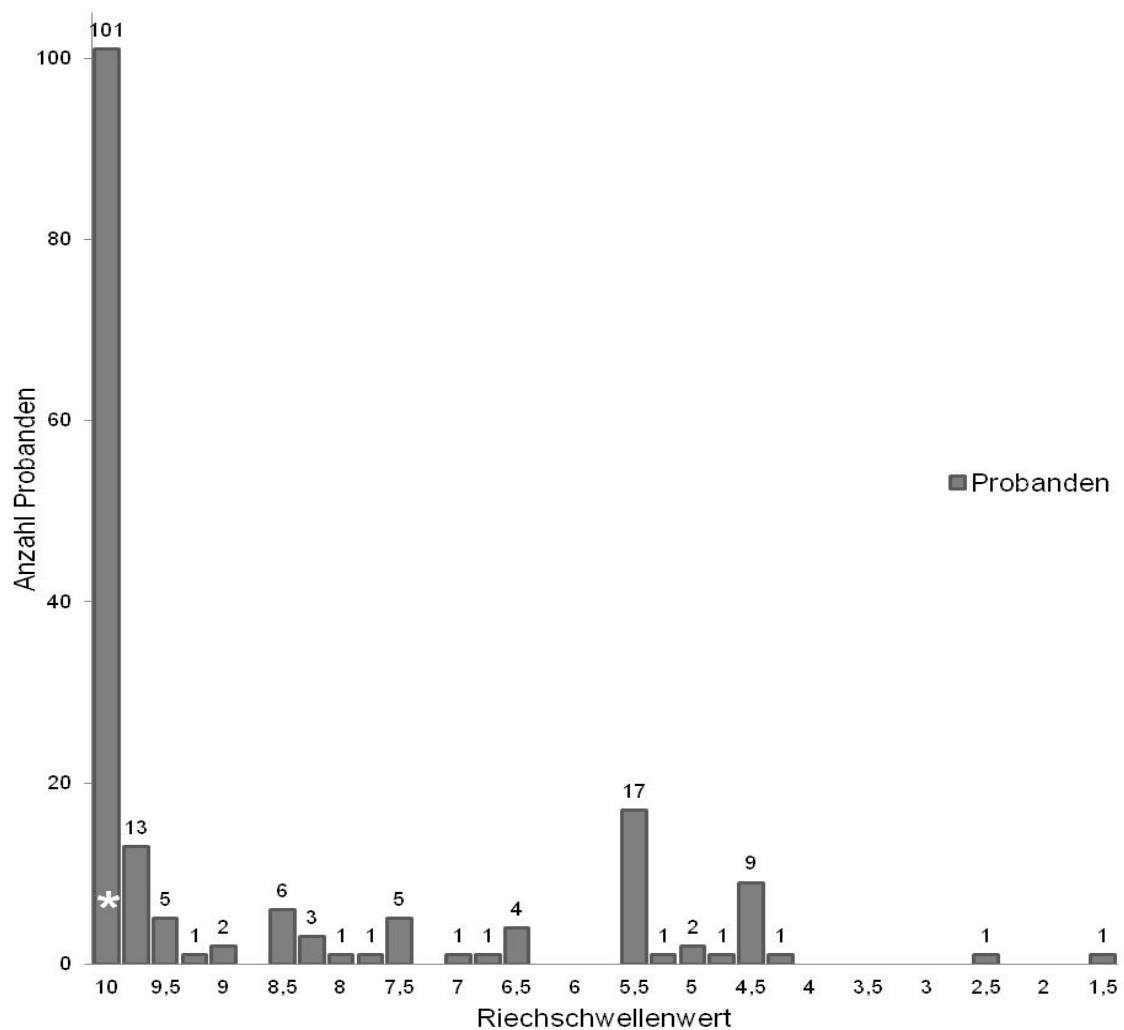


Abb. 13: Verteilung der Riechschwellen von Isovaleriansäure; N=177, * zeigt den Median an.

4.3.3 Schwellentest Trimethylamin

Der Schwellentest für Trimethylamin (TMA) umfasste ebenfalls 10 Verdünnungsstufen; 10 stand für die niedrigste (Duftstoff : Lösungsmittel = 1:10¹⁰) und 1 für die höchste (Duftstoff : Lösungsmittel = 1:10¹) Konzentration. Der Durchschnittsschwellenwert der 177 Probanden für Trimethylamin betrug 9,01 (SD 1,37) und war damit der niedrigste aller drei durchschnittlichen Gesamtschwellenwerte. Die durchschnittliche Sensitivität der Probanden gegenüber TMA war unter den drei zu testenden Stoffen am höchsten. Dies zeigte sich in der großen Probandenanzahl, die eine Wahrnehmungsschwelle von 1:10¹⁰ - 1:10⁹ erreichten. Bei lediglich 6 Teilnehmern konnte eine Riechschwelle unter 1:10⁶ nachgewiesen werden und nur eine weibliche, 26-jährige Testperson (Proband Nr. 47) erreichte eine Schwelle unter 1:10⁴, was eine spezifische Anosmie bezüglich TMA anzeigte; ihre Riechschwelle betrug 1. Da sie sich gegen die Teilnahme am Training entschied, lagen von ihr keine Recallergebnisse für die Auswertung vor.

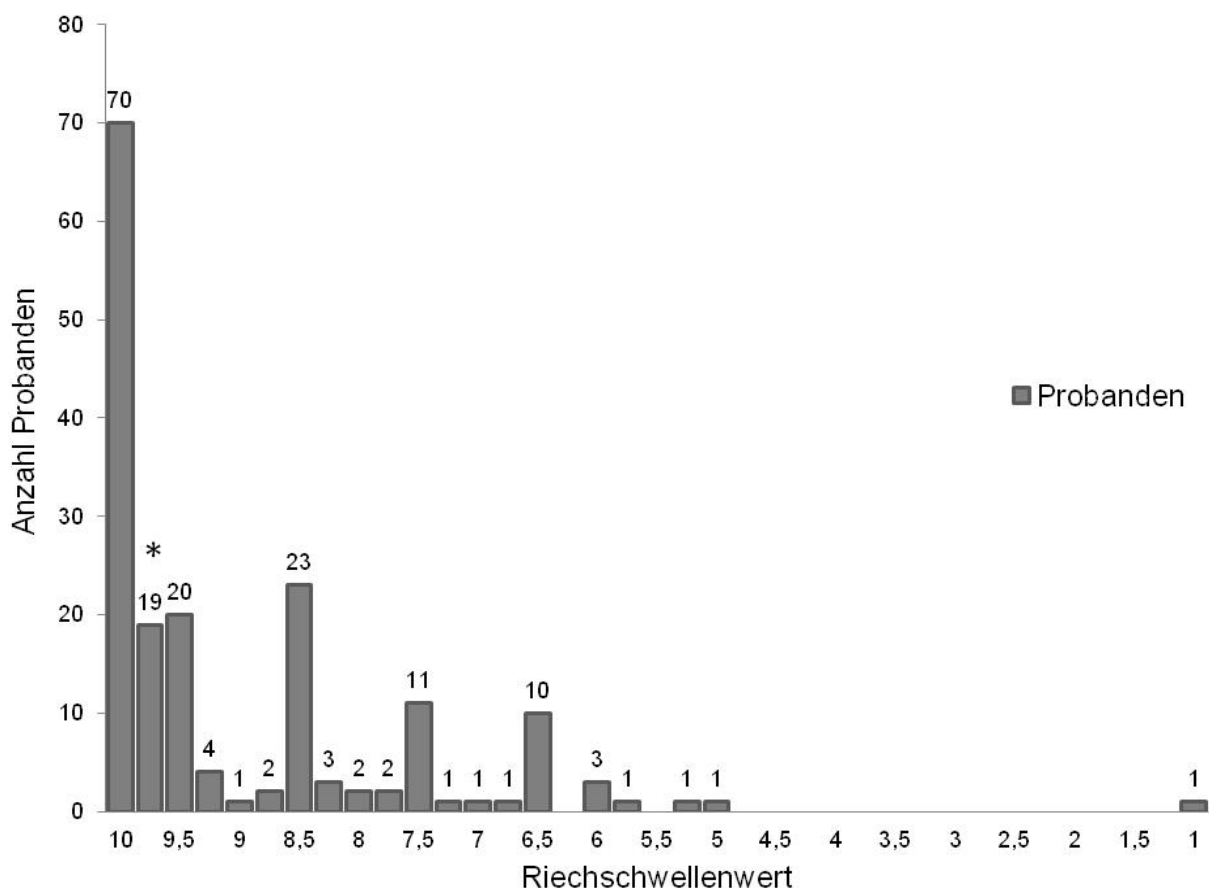


Abb. 14: Verteilung der Riechschwellen von Trimethylamin; N=177, * zeigt den Median an.

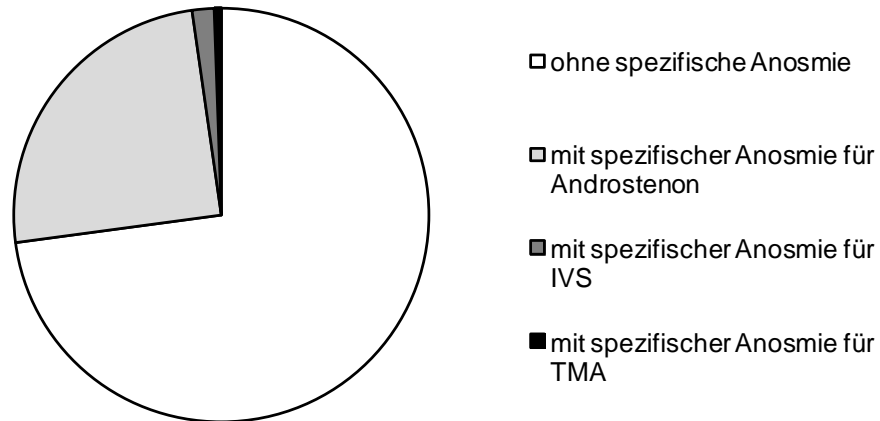


Abb. 15: Gesamtverteilung spezifische Anosmie; N=177, darunter insgesamt 46 Probanden mit spezifischer Anosmie, Androstenon 24,86% (44 Probanden), Isovaleriansäure (IVS) 1,69% (3 Probanden), Trimethylamin (TMA) 0,56% (1 Proband).

4.4 Auswertung „Recall“

Der sogenannte „Recall“ stellte die erneute Untersuchung jener Probanden dar, die beim „Screening“ eine spezifische Anosmie aufwiesen und gebeten wurden, an einem häuslichen Training teilzunehmen. Dabei wurde ein zweiter Schwellentest mit dem betreffenden Stoff durchgeführt. Da die Probandin mit einer spezifischen Anosmie bezüglich Trimethylamin eine Teilnahme am Training von Anfang an ablehnte, konnten nur die Ergebnisse von den Stoffen Androstenon und Isovaleriansäure (IVS) dargestellt und ausgewertet werden.

Vier der ursprünglich 23 Trainingsteilnehmer waren nach den drei Monaten Übungszeit nicht mehr erreichbar, weshalb keine Vergleichswerte erhoben werden konnten. Somit wurden die Ergebnisse von insgesamt 19 „Recallprobanden“ ausgewertet. 18 Probanden nahmen am Training mit Androstenon und 3 mit Isovaleriansäure teil. Zwei der Teilnehmer führten sowohl mit Androstenon als auch mit IVS ein häusliches Training durch.

Ziel des Trainings war es, eine Verbesserung der Wahrnehmung gegenüber den zutreffenden Stoffen zu erreichen. Wysocki definierte 1989 eine Sensitivierung, also eine Verbesserung der Riechwahrnehmung nach einem Riechtraining, als eine Verringerung der Schwellenwerte von ≥ 3 Verdünnungsstufen (Wysocki et al. 1989).

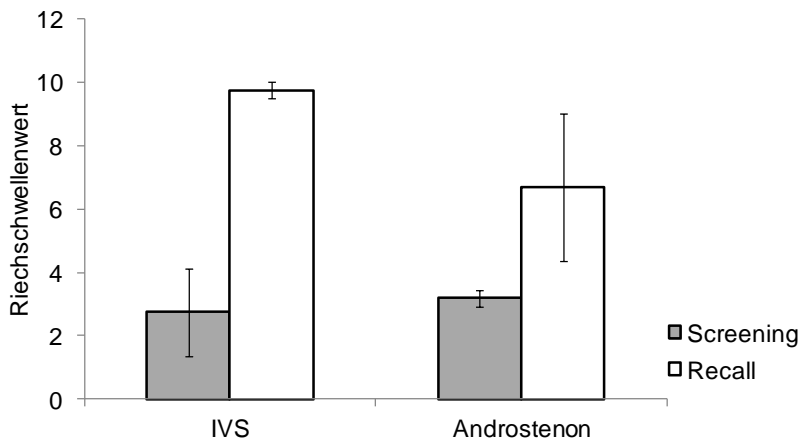


Abb. 16: Riechschwellen für IVS und Androstenon, Vergleich Screening und Recall; Dargestellt wurden die Mittelwerte (Balken) und Standardfehler (Fehlerindikator) der Schwellenwerte, erhoben während des Screenings und Recalls, im Vergleich. IVS (n=5), Androstenon (n=18)

Androstenon

Der Durchschnittsschwellenwert von Androstenon verbesserte sich von 3,18 (SD 0,26) auf 6,68 (SD 2,3). Es konnte durchschnittlich eine Verringerung der Verdünnungsstufe, bei der die 18 Probanden den Stoff wahrnahmen, um 3,5 Stufen erreicht werden.

Bei der Prüfung der Korrelation zwischen den Screening- und Recallergebnissen konnte ein signifikant negativer Zusammenhang nachgewiesen werden, der sich als signifikant herausstellte ($r(16) = -0,53$, $p = 0,025$). Somit unterschieden sich die Recallschwellenwerte von Androstenon signifikant ($p < 0,001$) von den Ausgangsschwellenwerten.

Fünf Probanden verbesserten ihr Riechergebnis beim zweiten Schwellentest um 6 Konzentrationsstufen und mehr, was bedeutet, dass sie im Anschluss an die Trainingszeit keine bis geringe Einschränkungen bei der Wahrnehmung von Androstenon aufwiesen. Eine geringere Sensitivierung gegenüber Androstenon konnte bei sieben Trainingsteilnehmern festgestellt werden. Sie verbesserten ihre Riechschwelle um bis zu 4,5 Verdünnungsstufen (Wysocki et al. 1989).

Fünf der insgesamt 18 Teilnehmer erreichten keine Verbesserung um mindestens drei Konzentrationsstufen, womit sie die festgelegte Grenze für die spezifische Anosmie gegenüber Androstenon von $\geq 4,25$ nur sehr gering überschritten und nicht von einer gesteigerten Sensitivität gesprochen werden konnte. Bei einem Probanden (Nr. 113) wurde sogar eine Verschlechterung beobachtet. Seine beim Screening ermittelte Riechschwelle erhöhte sich nach den vier Trainingsmonaten um 0,25 Stufen. Also konnten insgesamt sechs Probanden nicht mit Hilfe eines Riechtrainings gegenüber Androstenon sensitiviert werden und wiesen weiterhin eine spezifische Anosmie auf (Wysocki et al. 1989).

Isovaleriansäure

Jeder der drei Trainingsteilnehmer mit Isovaleriansäure verbesserte sich beim Recall-Schwellentest um mindestens 5,5 Konzentrationsstufen. Der Durchschnittsschwellenwert der Recallergebnisse betrug 9,75 (SD 0,25). Im Vergleich wurde zuvor eine durchschnittliche Schwelle von 2,75 (SD 1,39) beim Screening ermittelt. Daraus folgt, dass sich bei jedem der Probanden die Sensitivität gegenüber IVS gesteigert hat und kaum noch Einschränkungen bei der Wahrnehmung des Duftstoffes bestehen dürften. Alle drei Trainingsteilnehmer (zwei Frauen, ein Mann) wurden, an Wysockis Definition einer Sensitivierung, mit Hilfe des Riechtrainings gegenüber IVS sensitiviert (Wysocki et al. 1989).

4.5 Statistische Analyse

4.5.1 Vergleich männliche und weibliche Probanden

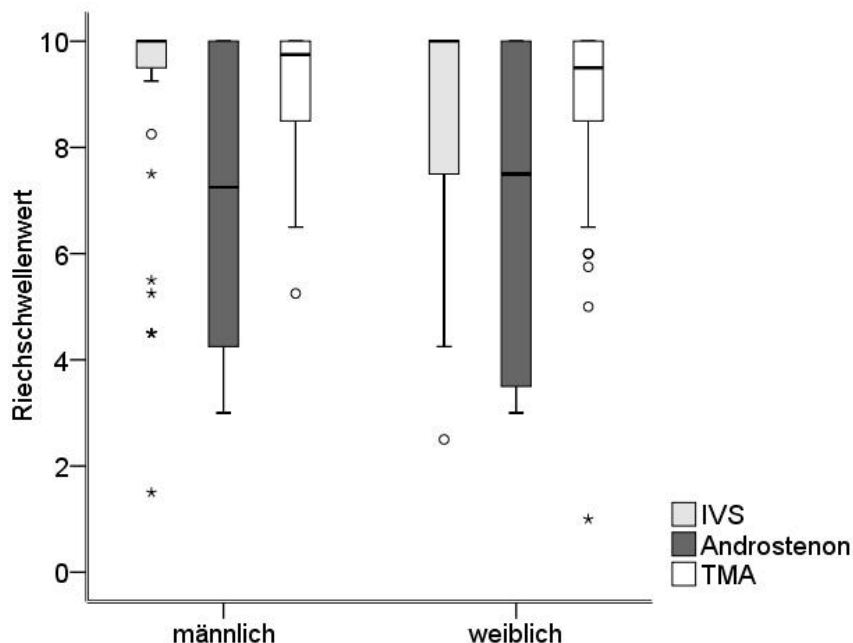


Abb. 17: Schwellenwerte Screening Androstenon, Isovaleriansäure (IVS) und Trimethylamin (TMA) Geschlechtervergleich; Männer n = 46, Frauen n = 131; Boxplot: Die in der Box befindliche Linie stellt den Median dar. Die Zeichen unterhalb einer Box stehen für die Probanden, deren Werte als Ausreißer zu deuten sind.

Der Vergleich der durchschnittlichen Ausgangsschwellenwerte (Screeningschwellenwerte) ließ keinen signifikanten Unterschied zwischen Männern und Frauen erkennen (s. Tabelle 3),

ähnliches war beim Vergleich der Recallergebnisse von Isovaleriansäure zu beobachten. Bei der Geschlechterverteilung der identifizierten spezifischen Anosmiker ($n = 46$) machte der weibliche Anteil 19,2 % und der männliche 6,8 % aus, ohne dass das weibliche Geschlecht einen signifikanten Effekt auf das Auftreten der spezifischen Anosmie zu haben schien ($p = 0,99$, Chi Quadrat = 0,00).

Auch im durchschnittlichen Alter unterschieden sich weibliche (25,59 Jahre; SD = 5,32) und männliche (24,48 Jahre; SD = 5,39) Studienteilnehmer nicht voneinander.

Hingegen konnten im Recall Frauen (MW = 7,3; SD = 2,01) Androstenon besser riechen als Männer (MW = 3,58; SD = 0,8), was einen signifikanten Unterschied darstellt $t(16) = 3,1$, $p = 0,007$.

	Geschlecht	MW (SD)	t-Wert	df	Signifikanz	N
Screening AN	m	6,99 (2,75)	0,41	175	0,68	46
	w	7,19 (2,88)				131
Screening IVS	m	8,96 (2,96)	0,99	175	0,32	46
	w	8,62 (2,00)				131
Screening TMA	m	9,22 (1,55)	1,22	175	0,23	46
	w	8,94 (1,44)				131
Recall AN	m	3,58 (0,80)	3,1*	16	0,007	3
	w	7,30 (2,01)				15
Recall IVS	m	10,0 (-)	1,73	1	0,33	1
	w	9,63 (0,18)				2

Tab. 3: Vergleich der Screening- und Recallschwellen von Androstenon (AN) und Isovaleriansäure (IVS) zwischen Männern (m) und Frauen (w); Abgebildet wurden Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) sowie die Ergebnisse des t-Test. SD von Recall IVS männlich konnte nicht angegeben werden, da nur ein Wert vorliegt. * $p < 0,05$.

Bei der Betrachtung des Trainingseffektes speziell bei Androstenon wiesen Frauen eine deutlich größere Steigerung der Riechwahrnehmung (MW = 4,18; SD = 2,12) auf als Männer (MW = 0,17; SD = 0,52). Der Trainingseffekt stellt dabei die Differenz zwischen Screeningwert und Recallwert dar, d.h. um wie viele Verdünnungsstufen sich die Wahrnehmung nach dem Training verbessert hatte. Diese Differenz konnte ebenfalls als signifikant nachgewiesen werden $t(16) = 3,18$, $p = 0,006$.

	Geschlecht	MW (SD)	t-Wert	df	Signifikanz	N
Trainingseffekt IVS	m	8,50 (-)	1,73	1	0,33	1
	w	6,25 (1,06)				2
Trainingseffekt AN	m	0,17 (0,52)	3,18	16	0,006*	3
	w	4,18 (2,12)				15

Tab. 4: Vergleich des Trainingseffektes bei Isovaleriansäure (IVS) und Androstenon (AN) zwischen Männern (m) und Frauen (w); Abgebildet wurden Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) sowie die Ergebnisse des t-Tests. Der Trainingseffekt wurde als Differenz zwischen Ausgangs- und Endwert (Screeningschwelle – Recallschwelle) dargestellt. SD von Trainingseffekt IVS männlich konnte nicht angegeben werden, da nur ein Wert vorlag. * $p < 0,05$.

Demnach schien das weibliche Geschlecht einen positiven Effekt auf die Erlernbarkeit von Androstenon mittels eines Riechtrainings zu haben. Allerdings hatte das Geschlecht keinen Einfluss auf das Auftreten von spezifischen Anosmien oder den Trainingseffekt bei IVS. Dabei muss jedoch erwähnt werden, dass es sich lediglich um drei Probanden mit einer spezifischen Anosmie bezüglich IVS handelte.

4.5.2 Vergleich Raucher und Nichtraucher

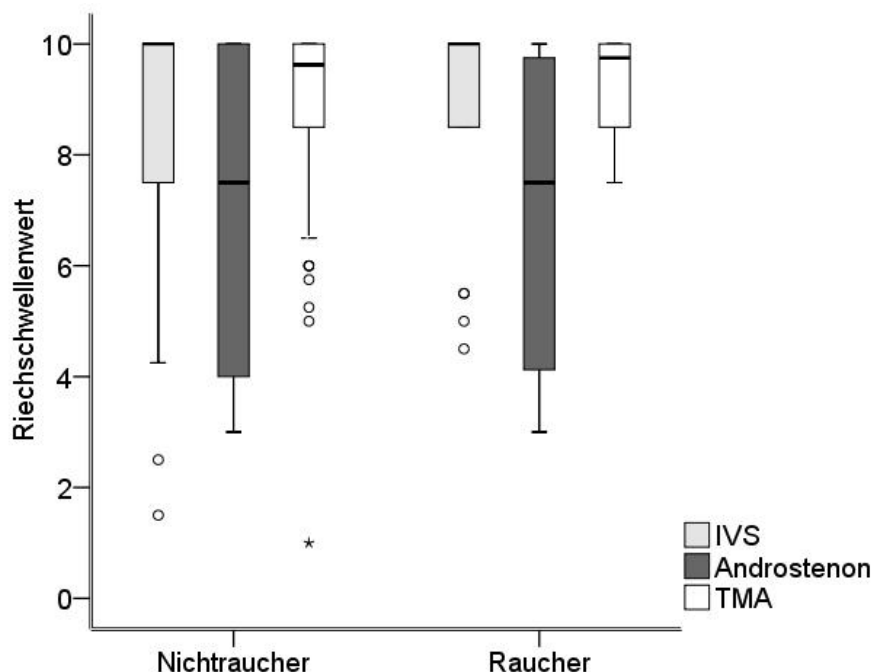


Abb. 18: Schwellenwerte Screening Androstenon, Isovaleriansäure (IVS) und Trimethylamin (TMA) Vergleich Raucher und Nichtraucher; Raucher: $n = 19$, Nichtraucher $n = 158$; Boxplot: Die in der Box befindliche Linie stellt den Median dar. Die Zeichen unterhalb einer Box stehen für die Probanden, deren Werte als Ausreißer zu deuten sind.

Bei der Analyse, ob Rauchen einen signifikanten Einfluss auf das Auftreten von spezifischen Anosmien oder auf die Erlernbarkeit des Riechens von Androstenon und Isovaleriansäure hat, konnten keine signifikanten Unterschiede der Riechschwellen oder des Trainingseffektes zwischen Rauchern und Nichtrauchern nachgewiesen werden. Die Werte der Screeningriechschwellen unterschieden sich bei allen drei Stoffen – Isovaleriansäure, Trimethylamin und Androstenon – nur geringfügig voneinander. Ebenso schienen die Recallriechschwellen und Veränderung der Sensitivität nach dem dreimonatigen und selbstständigen Riechtraining durch das Rauchen nicht beeinflusst zu sein.

Somit hatte das Rauchen in dieser Studie keinen nachweisbaren Einfluss auf das Auftreten von spezifischen Anosmien oder auf den Trainingseffekt.

	Raucher	MW (SD)	t-Wert	df	Signifikanz	N
Screening AN	nein	7,15 (2,86)	0,14	175	0,89	158
	ja	7,05 (2,7)				19
Screening IVS	nein	8,7 (2,04)	0,19	175	0,85	158
	ja	8,78 (2,0)				19
Screening TMA	nein	8,97 (1,42)	1,11	175	0,27	158
	ja	9,34 (0,84)				19
Recall AN	nein	6,69 (2,4)	0,08	16	0,94	17
	ja	6,5 (-)				1
Recall IVS	nein	9,75 (0,25)	-	-	-	3
	ja	-				0
Trainingseffekt IVS	nein	7,0 (1,5)	-	-	-	3
	ja	-				0
Trainingseffekt AN	nein	3,51 (2,55)	0,006	16	0,99	17
	ja	3,5 (-)				1

Tab. 5: Screening- und Recallschwellen sowie Trainingseffekt von Androstenon (AN), Isovaleriansäure (IVS) und Trimethylamin (TMA) im Vergleich Raucher (ja) und Nichtraucher (nein); Abgebildet wurden Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) sowie die Ergebnisse des t-Test. Bei $n < 2$ konnte kein SD errechnet werden und bei $n = 0$ war eine Auswertung per t-Test nicht möglich.

4.5.3 Überblick Altersverteilung

Das durchschnittliche Alter aller 177 Teilnehmer betrug 24,77 Jahre (SD = 5,38; Altersmaximum 36 Jahre, Minimum 19 Jahre). Dabei waren die Frauen (MW = 24,48 Jahre; SD = 5,39) geringfügig jünger als die Männer (MW = 25,59 Jahre; SD = 5,32). Betrachtete

man speziell die Gruppe der identifizierten spezifischen Anosmiker, so erkannte man, dass das Durchschnittsalter bei 24,83 Jahren (SD = 4,44) lag. Das Maximum betrug 36 Jahren und das Minimum 19 Jahren. Anosmiker bezüglich Androstenon (MW = 25,6 Jahre, SD = 5,23) waren durchschnittlich 2,6 Jahre älter als jene bezüglich Isovaleriansäure (MW = 23 Jahre; SD = 1). Dieser Altersunterschied konnte allerdings nicht als signifikant nachgewiesen werden. Die 23 Trainingsteilnehmer waren durchschnittlich 25,04 Jahre (SD = 4,74) alt.

Anosmiker	MW (SD)	t-Wert	df	Signifikanz	N
ja	24,83 (4,44)	1,73	175	0,835	46
nein	24,64 (5,61)				131

Tab. 6: Altersverteilung Probanden mit und ohne spezifischer Anosmie im Vergleich;
Abgebildet wurden Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) sowie die Ergebnisse des t-Tests.

Die Zahlen verdeutlichen, dass es innerhalb der Studiengruppe keine erwähnenswerten und signifikanten ($t(175) = 1,73$; $p = 0,84$) Unterschiede bei der Altersverteilung zwischen spezifischen Anosmikern (MW = 24,83; SD = 4,44) und Normosmikern (MW = 24,64; SD = 5,61) gab und dass das Alter bei der vorliegenden Studie keinen Einfluss auf das Auftreten spezifischer Anosmien bei den Probanden hatte.

4.6 Auswertung Mundabstriche

Kuklan (Kuklan 2014) und Wallrabenstein (Wallrabenstein et al. 2013) nutzten die Mundabstriche der Probanden mit einer nachgewiesenen spezifischen Anosmie bezüglich Androstenon, Trimethylamin und Isovaleriansäure aus den vorliegenden Untersuchungen für ihre eigenen Studien. Zusammen mit den Mundabstrichen aus weiteren Studien verwendeten sie die Daten um den Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von Polymorphismen in der DNA eines Riechrezeptors und dem Auftreten von spezifischen Anosmien sowie die Aktivierung des Riechrezeptors TAAR5 durch Trimethylamin.

4.6.1 Genetische Grundlagen der spezifischen Anosmie

Kuklan erforschte die genetischen Grundlagen der spezifischen Anosmie unter anderem anhand der Mundabstriche von Probanden, die während der bereits beschriebenen Testung die drei Duftstoffe Trimethylamin, Isovaleriansäure und Androstenon sehr schwach bzw. gar nicht wahrnehmen konnten.

Es wurden insgesamt 19 verschiedene spezifische Anosmien hinsichtlich der ihnen zugrunde liegenden genetischen Veränderungen untersucht. Anhand der DNA der bukkalen Zellen konnten mit Hilfe einer Hochdurchsatz-Sequenzierung die Allelfrequenzen der genetischen Varianten in den offenen Leserahmen (ORF; open reading frame) aller menschlichen Geruchsrezeptoren bestimmt werden. Anschließend wurden die Frequenzen aus den Proben von spezifischen Anosmikern mit denen zufällig ausgewählter Probanden ohne spezifische Anosmie verglichen. Dabei konnten keine eindeutigen Beweise für einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer spezifischen Anosmie und dem Vorhandensein von Polymorphismen innerhalb des ORFs der olfaktorischen Rezeptorgene gefunden werden. Auch gaben die Ergebnisse bezüglich der Mendelschen Regeln keinerlei Hinweis für rezessive oder dominante Merkmale.

Bei Probanden mit einer nachgewiesenen spezifischen Anosmie wurde zu Beginn vermutet, dass deren Riechrezeptor-DNA Polymorphismen aufweisen würde, die die Funktionalität der Rezeptoren beeinflussen. Die individuelle Genotypisierung dieser Testpersonen zeigte jedoch, dass bei ihnen Polymorphismen in den Riechrezeptorgen nicht häufiger vorkamen als bei gesunden Probanden und somit das Vorhandensein von Sequenzvariationen in den Rezeptorgen nicht die alleinige Erklärung für spezifische Anosmien sein konnte (Kuklan 2014).

Abb. 19: Q-Q Plot zur Untersuchung des Zusammenhanges von

Einzelnukleotidpolymorphismen (SNP) und dem Vorkommen spezifischer Anosmien;

Verglichen wurden die vermuteten und tatsächlich festgestellten p-Werte, die ermittelt wurden, um den Zusammenhang des Vorhandenseins einer SNP in einem Riechrezeptorgen und des Auftretens einer spezifischen Anosmie bezüglich Isovaleriansäure zu untersuchen. Keiner der gefundenen Zusammenhänge konnte als signifikant nachgewiesen werden; Abbildung aus: Dissertationsschrift (Kuklan 2014).

Zusammenfassend wurde festgestellt, dass die Variabilität der Wahrnehmungsintensität multifaktoriell zu begründen ist und Polymorphismen in bestimmten Riechrezeptorgenen nur eine partielle Erklärung für das Vorkommen von spezifischen Anosmien sein können (Kuklan 2014).

4.6.2 Aktivierung TAAR5 durch Trimethylamin

Wallrabenstein befasste sich mit dem menschlichen olfaktorischen Rezeptor hTAAR5 im Bezug auf seine Aktivierung durch Trimethylamin (TMA).

Innerhalb ihrer Studie wurden die transkribierbaren Teile der DNA (Exons; expressed regions) der sechs mutmaßlichen funktionellen menschlichen TAAR Gene (hTAAR1, -2, -5, -6, -8, -9) von 200 zufällig ausgesuchten, gesunden und normosmischen Probanden sequenziert und auf Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs; Single Nucleotide Polymorphisms) untersucht. Daraufhin wurde diese Sequenzierung mit hTAAR Genen von spezifischen Anosmikern bezüglich TMA durchgeführt. Ausgewertet wurde hierfür unter anderem der bukkale Abstrich von Proband Nr. 47 aus der hier vorliegenden Studie, der eine spezifische Anosmie bezüglich TMA aufwies. Beim Vergleich beider Ergebnisse wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der spezifischen Anosmikergruppe hinsichtlich des Vorhandenseins oder Fehlens von bestimmten SNPs gefunden. Daraus schlussfolgernd konnte kein Zusammenhang zwischen einem Polymorphismus in einer hTAAR Kodierungssequenz und dem Auftreten einer spezifischen Anosmie bezüglich TMA nachgewiesen werden.

Wallrabenstein dokumentierte in Hinsicht auf die Aktivierung von hTAAR5, dass dies mit einer hohen Spezifität mit den Aminen Trimethylamin als vollen Agonisten und Dimethylethylamin als partiellen Agonisten gelang (Wallrabenstein et al. 2013).

Abb. 20: Trimethylamin (TMA) und Dimethylethylamin (DMEA) fungieren konzentrationsabhängig und hochspezifisch als Agonisten des Rezeptors hTAAR5; auf der x-Achse wurde die Konzentration der Duftstoffe TMA und DMEA in μM und auf der y-Achse die Aktivität des Reportergens Luciferase während des Riechrezeptorscreenings abgebildet. Die Wahrnehmungsschwelle für TMA war $1 \mu\text{M}$ ($* p < 0,05$) und für DMEA $30 \mu\text{M}$ ($* p < 0,05$); Abbildung aus: Dissertationsschrift (Wallrabenstein et al. 2013).

Zusammenfassend wurde nachgewiesen, dass menschliches hTAAR5 speziell durch TMA aktiviert wird und somit in vivo TAARs beim Menschen mögliche Rezeptorkandidaten sind, die für die Wahrnehmung von flüchtigen Aminen verantwortlich sein können und dass jedoch ein Polymorphismus in der hTAAR Kodierungssequenz nicht die alleinige Ursache für das Auftreten einer spezifischen Anosmie bezüglich TMA sein kann.

Außerdem wurde aufgrund der Tatsache, dass TMA in menschlichen Körpersekreten vorkommt, über eine mögliche Beteiligung an sozialen Verhaltensmechanismen spekuliert (Wallrabenstein et al. 2013).

5 Diskussion

Die vorliegende Studie umfasste 1.) die Ausgangsuntersuchung von insgesamt 177 gesunden und normosmischen Probanden mittels Identifikations- und Riechschwellentest, 2.) die Entnahme eines bukkalen Mundabstriches bei den identifizierten spezifischen Anosmikern, 3.) das häusliche, eigenständige und freiwillige Riechtraining von zusammengefasst 23 spezifisch anosmischen Teilnehmern und 4.) die an das Training anschließende Kontrolluntersuchung von letztendlich 19 Testpersonen.

Ziel war es Personen zu finden, die eine spezifische Anosmie bezüglich Androstenon, Isovaleriansäure oder Trimethylamin aufwiesen und anschließend herauszufinden, ob bei den identifizierten spezifischen Anosmikern ein dreimonatiges Training einen positiven Einfluss auf die Wahrnehmung der betreffenden Stoffe hat. Zusätzlich wurde untersucht, ob sich das Vorhandensein von Einzelnukleotidpolymorphismen innerhalb der Riechrezeptorgene auf das Vorkommen von spezifischen Anosmien auswirken kann.

5.1 Interpretation der Ergebnisse

Eine spezifische Anosmie ist der Zustand einer Person, in der sie, trotz ansonsten normaler Riechfunktion, einen Duftstoff in der Konzentration nicht wahrnehmen kann, in der er für die meisten anderen Menschen deutlich zu erkennen ist (Amoore 1977). Die Literatur über das Auftreten einer solchen Stoffblindheit ließ Prognosen zu in, welche Richtung sich die Ergebnisse bewegen würden. Im Folgenden werden die erhobenen Daten ausgewertet und interpretiert.

5.1.1 Verteilung des Auftretens spezifischer Anosmien innerhalb der Testgruppe

Der Zustand einer spezifischen Anosmie wurde in der vorliegenden Studie, an der insgesamt 177 Testpersonen teilnahmen, bei zusammengefasst 46 Personen nachgewiesen. Unter den Teilnehmern befanden sich 24,86% (44 Probanden) spezifische Anosmiker bezüglich Androstenon, 1,69% (3 Probanden) bezüglich Isovaleriansäure (IVA) und 0,56% (1 Proband) bezüglich Trimethylamin (TMA). Damit waren insgesamt 25,99% der Probanden spezifische Anosmiker.

Es befassten sich bereits einige Studien mit dem Auftreten spezifischer Anosmien bezüglich dieser drei Stoffe. Dabei wurden Werte im Zusammenhang mit dem Vorkommen einer

spezifischen Anosmie bei Androstenon von 40% der Allgemeinbevölkerung (Hummel et al. 1991, Pause et al. 1999, Landis et al. 2004, Blomqvist et al. 2004) erhoben. Triller et al. sprechen jedoch von einer Rate, die zwischen 1,8 – 75% variiert (Triller et al. 2008). Eine spezifische Anosmie bezüglich TMA soll 7% (Amoore & Forrester 1976, Schmidt et al. 2007) und bezüglich IVA von 2 bis 3% der Allgemeinpopulation (Whissell-Buechy 1973, Amoore 1977, Schmidt et al. 2007) aufweisen. Diese Werte decken sich mit denen, die in dieser Studie erhoben wurden: mögliche Abweichungen lassen sich auf die vergleichsweise geringe Teilnehmerzahl zurückzuführen. Zugleich wird deutlich, dass mehr Menschen eine spezifische Anosmie bezüglich Androstenon aufweisen als bezüglich Isovaleriansäure und wiederum als Trimethylamin. Ist daraus schlussfolgernd das genetische Repertoire der menschlichen Riechrezeptorgene anfälliger für einen Fehler bei der Expression von Riechrezeptoren für Androstenon?

Amoore et Forester entdeckten einen engen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Anosmie bei TMA und IVA: in ihrer Studie hatten insgesamt 13 Probanden eine spezifische Anosmie bezüglich TMA und unter ihnen sechs Testpersonen zugleich eine Anosmie bezüglich IVA (Amoore & Forester 1976). In der hier vorliegenden Studie hingegen fand sich zwei Teilnehmer, die zugleich eine spezifische Anosmie bezüglich IVA und Androstenon aufwiesen, ohne dass dieser Zusammenhang jedoch als signifikant nachgewiesen und die Erkenntnisse aus der Literatur stützen konnte.

Bei einer Untersuchung mit dem Fokus auf dem Nachweis der 356 funktionalen olfaktorischen Rezeptorgene innerhalb der 851 olfaktorischen Rezeptor (OR) Loci wurde die olfaktorische Mukosa von 26 Patienten untersucht. Insgesamt konnten bei allen 26 Probanden 273 Riechrezeptorgene entdeckt werden, wobei nur 90 aller Gene bei allen 26 Personen vertreten waren (Verbeurgt et al. 2014). Damit wurde gezeigt, dass überhaupt nur ein geringer Teil der menschlichen olfaktorischen Rezeptorgene exprimiert wird und dies nach momentanem Stand der Forschung offenbar auch keiner Systematik unterliegt. Dies legt nahe, dass das Auftreten einer spezifischen Anosmie gar nicht unwahrscheinlich und – wie es Croy et al. bezeichnen – kein Ausnahmefall der olfaktorischen Wahrnehmung ist, sonder eher die Regel. Während der Thalamus für andere sensorische Informationen einen zentralen Filter darstellt, fungiert bei dieser Überlegung die spezifische Anosmie als ein peripherer olfaktorischer Filtermechanismus, der durch ein kontinuierliches Training zumindest für den Zeitraum der vermehrten Exposition angepasst werden kann (Croy et al. 2016).

5.1.2 Abhängigkeit der Ergebnisse von verschiedenen Einflussfaktoren

Geschlecht

Die erhobenen Daten innerhalb der Studie zeigten, dass das Geschlecht keinen Einfluss auf das Auftreten von spezifischen Anosmien hat. Allerdings schien sich das weibliche Geschlecht positiv auf die Erlernbarkeit des Stoffes Androstenon mithilfe eines Riechtrainings auszuwirken. Zahlreiche Studien ergaben, dass das weibliche Geschlecht bezüglich der olfaktorischen Leistungen dem männlichen geringfügig überlegen ist und Frauen schnitten bereits bei zahlreichen anderen Riechtests besser ab als Männer (Koelega & Köster 1974, Brand & Millot 2001, Dalton et al. 2002, Hummel et al. 2007, Doty & Cameron 2009). Dalton et al. fand heraus, dass Frauen Androstenon wahrscheinlich intensiver wahrnehmen können als Männer und die weibliche olfaktorische Sensitivität gegenüber Androstenon nach wiederholter Exposition schneller und stärker zunimmt (Dalton et al. 2002). Dem entsprechen die Ergebnisse der vorliegenden Studie: nach dem Riechtraining wiesen Frauen eine größere Steigerung der Riechwahrnehmung ($MW=4,18$; $SD=2,12$) auf als Männer ($MW=0,17$; $SD=0,52$), wobei diese Differenz als signifikant nachgewiesen wurde ($t(16) = -3,182$, $p=0,006$).

Auch Frauen, die Androstenon „normal“ wahrnahmen, wiesen bei früheren Schwellentests niedrigere Schwellen als Männer und somit eine höhere Sensitivität auf (Dorries 1992). Zusammenfassend scheint das weibliche Geschlecht einen positiven Einfluss auf die Wahrnehmung und das Erlernen der Wahrnehmung von Androstenon zu haben. Ähnliche Schlüsse bezüglich Trimethylamin oder Isovaleriansäure konnten nicht gezogen werden.

Alter

Das Durchschnittsalter der Probanden betrug 24,77 Jahre. Der älteste Proband war 45 Jahre, der jüngste 18 Jahre alt.

Da vorhandene Studien belegten, dass das Riechvermögen mit dem Alter deutlich abnimmt, wurde die Altersobergrenze bei den Teilnahmebedingungen auf 45 Jahre festgelegt (Murphy et al. 2002). Venstrom et Amoore zum Beispiel wiesen einen Verlust der olfaktorischen Sensitivität um 50% in 22 Jahren nach (Venstrom & Amoore 1968) und Cowart fasste zusammen, dass sich die wahrgenommene Intensität der Düfte mit dem Alter vermindere (Cowart 1989). Das Nachlassen des Riechvermögens ist u.a. darauf zurückzuführen, dass sich das Riechepithel, der Riechkolben und der zentrale olfaktorische Cortex im Alter strukturell verändern (Kovács 2004, Welge-Lüssen 2008), die Regenerationsrate sinkt

(Hummel & Welge-Lüssen 2009) und die Anzahl der olfaktorischen Rezeptorneurone abnimmt (Naessen 1971, Conley et al. 2003). Das olfaktorische Epithel wird zunehmend durch respiratorisches und olfaktorisch-dysplastisches Epithel ersetzt (Smith 1942, Paik et al. 1992, Jafek et al. 2002). Bei Ratten nimmt die Proliferation von Basalzellen und damit auch das Riechvermögen ab, je älter die Tiere sind (Weiler & Farbman 1997, Kwon et al. 2005). Außerdem ist es mit zunehmendem Alter wahrscheinlicher, dass virale oder bakterielle Erkrankungen die Riechwahrnehmung gemindert oder äußere Faktoren (wie z.B. eingeatmete flüchtige Stoffe) die Riechschleimhaut verletzt haben und sich somit negativ auf das Riechvermögen auswirken (Rawson 2006).

Rauchen

Auch das Rauchen hatte in dieser Studie keinen signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse der Riechtests oder des Riechtrainings, was mit den Ergebnissen anderer veröffentlichter Studien übereinstimmt (Venstrom & Amoore 1968, Martin & Pangborn 1970).

Allerdings äußert sich der Großteil der Literatur gegenteilig. Vennemann et al. schlussfolgerten nach der Untersuchung von 1312 Probanden, dass Raucher ein erhöhtes Risiko für eine Riechminderung aufweisen, allerdings nicht eine Verringerung des Geschmackssinnes (Vennemann et al. 2008). Mit dieser Aussage stimmen auch Katotomichelakis et al. überein. Sie fanden heraus, dass Raucher sechsmal mehr gefährdet seien, an einem Riechdefizit zu leiden, als Nichtraucher und dass die Ausprägung dieses Defizites dosisabhängig ist (Katotomichelaskis et al. 2007). Dies ist mit einem vermehrten Absterben der olfaktorischen Rezeptorneurone zu erklären, das vermutlich die regenerative Kapazität des Epithels übersteigt (Vent et al. 2004).

5.1.3 Trainingseffekt

Zahlreiche Riechstudien haben bereits bewiesen, dass die Empfindlichkeit für Duftstoffe mithilfe eines Riechtrainings erhöht werden kann (Engen 1960, Wysocki et al 1989, Möller et al. 1999, Mainland et al. 2002, Wang et al. 2004, Hummel et al. 2009, Lunde et al. 2012). Dabei gilt die Studie von Wysocki et al. aus dem Jahre 1989, an der der Autor selbst teilgenommen hat, wohl als „Mutter aller Riechstudien“. Mit seinen Versuchen, bei denen die Hälfte der Probanden nach der Trainingszeit dem Teststoff gegenüber sensitiv waren, wies Wysocki die Erlernbarkeit der Wahrnehmung von Androstenon nach. Er definierte die

Sensitivierung als eine Verbesserung der Riechwahrnehmung nach dem Riechtraining bzw. als eine Verringerung der Schwellenwerte von ≥ 3 Verdünnungsstufen (Wysocki et al. 1989). In der vorliegenden Studie konnte ein Trainingseffekt sowohl für Androstenon als auch Isovaleriansäure (IVA) beobachtet werden, der mit einer durchschnittlichen Verbesserung um 7 Konzentrationsstufen bei IVA größer war als der bei Androstenon mit durchschnittlich 3,5 Konzentrationsstufen. Hierbei muss allerdings erwähnt werden, dass es sich bei IVA um nur 3 Trainingsteilnehmer handelte. Außerdem konnte bei Androstenon aus Kostengründen nur eine Maximalstufe von 3 (Duftstoff : Lösungsmittel = 1:10³) verwendet werden, sodass sich die Ergebnisse wieder relativieren. Insgesamt wiesen nach Wysockis Definition 11 von 18 Riechtrainingsteilnehmern eine deutliche Sensitivierung gegenüber Androstenon auf und alle bis auf 3 getestete Personen konnten eine Steigerung der Wahrnehmung dieses Duftstoffes um mindestens eine Konzentrationsstufe erreichen. Wie ist nun dieser Trainingseffekt zu erklären?

Um diese Frage beantworten zu können, müsste zunächst eine weitere geklärt sein: Was ist die Ursache einer spezifischen Anosmie? Hierbei wurden bereits verschiedene Theorien und mögliche Kausalitäten diskutiert. So spricht Bogen von einer „neuronalen Schranke“, die das olfaktorische Signal davon abhält, zu höheren Hirnzentren zu gelangen und eine Duftwahrnehmung zu bewirken (Bogen 1995). Wang hingegen diskutiert das Vorhandensein von insuffizienten stoffsensitiven Rezeptorzellen, die nicht in der Lage sind, Mitralzellen zu aktivieren (Wang et al. 2004) und dass eine solche Rezeptorinsuffizienz aus Einzelnukleotid-Polymorphismen im Rezeptorgen resultieren könnte (Keller et al. 2007, Menashe et al. 2007, Knaapila et al. 2012). Gegen ein komplettes Fehlen der spezifischen Riechrezeptoren, das die Wahrnehmung gänzlich unmöglich machen würde, spricht jedoch die Tatsache, dass ein einziger Duftstoff zugleich mehrere Riechrezeptoren aktivieren kann (Hatt 2004) und der Duftstoff in höheren Konzentrationen zusätzlich das trigeminale System anspricht (Croy et al. 2014). Denn sollte tatsächlich einer der olfaktorischen Rezeptoren fehlen, müssten zumindest die anderen beteiligten Riechrezeptoren aktiviert werden und eine – wenn auch abgeschwächte oder abweichende – Duftwahrnehmung ermöglichen. Eine andere Erklärung setzt ganz am Anfang der Riechwahrnehmung an – an der Durchlässigkeit der die Riechschleimhaut bedeckenden Schleimes für den Duftstoff. Es wird vermutet, dass schwerere Moleküle diesen Mukus weniger einfach durchdringen als kleinere und leichtere (Croy et al. 2016), was sich auch mit den Intensitätsbewertungen von Riechtestteilnehmern deckt, die eine intensivere Geruchswahrnehmung für kleinere Duftmoleküle als für größere angaben (Puschmann 2013).

An diesen mutmaßlichen Ursachen für eine spezifische Anosmie knüpfen wiederum zahlreiche Erklärungsansätze für den Effekt nach einem Riechtraining an. So wird vermutet, dass die Reizzunahme durch das Training eine gesteigerte Expression stoffspezifischer

Rezeptorneurone bewirkt. Dabei sollen sich aus den unreifen Basalzellen neue olfaktorische Rezeptoren generieren, die für die Wahrnehmung des Testduftstoffes verantwortlich sind (Wang et al. 2004). Bereits Wysocki dachte über eine Stimulation basaler Stammzellen nach, aus der eine verstärkte Proliferation der spezifischen rezeptortragenden Neurone resultiere und was sich daraus folgend in einer Duftwahrnehmung äußern sollte (Wysocki et al. 1989). Ein anderer Ansatz konzentriert sich auf die konzentrationsabhängige trigeminale Komponente beim Riechvorgang (Hummel & Kobal 1992). Demnach handle es sich bei der nach der Trainingsphase entstehenden Sensitivierung nicht um eine wirkliche Steigerung der Duftwahrnehmung, sondern um eine verbesserte Wahrnehmung des trigeminalen Reizes, der durch die hohe Konzentration des Testduftstoffes entsteht (Croy et al. 2016). Eine derartige Erlernbarkeit der Wahrnehmung des olfaktorischen Trigeminalreizes wurde bereits nachgewiesen (Negoias et al. 2013) und könnte eine unterstützende Komponente für den Trainingserfolg darstellen.

Davon ausgehend, dass ein Duftstoff mehrere Rezeptoren aktiviert (Hatt 2004), könnte der Trainingseffekt auch dadurch entstehen, dass die Testperson eine vermehrte Sensitivität mithilfe der anderen durch den Testduftstoff aktivierten Rezeptoren erlangt. Diese könnten durch vermehrte Expression Aufgaben der „fehlenden“ Rezeptoren mit übernehmen oder durch vermehrte Reizweiterleitung eine Riechwahrnehmung erzeugen.

Diese Erklärungsansätze für den entstandenen Trainingseffekt gehen auch von einer gewissen Plastizität aus, die sowohl auf peripherer als auch zentraler aktivitätsabhängiger Adaptation beruht, bei Synapsen, Neuronen und Hirnarealen (Brüel-Jungerman et al. 2007) stattfindet und die Grundlage eines jeden Riechtrainings bildet. Die vermuteten zentralen Geschehnisse bei solch einem Lerneffekt lokalisieren sich vor allem im Bulbus olfactorius. Er besitzt eine adulte Neurogenesefähigkeit (Durand et al. 1998), die stark von der Aktivität im olfaktorischen Epithel (Lledo et al. 2006), wie z.B. einer Steigerung durch ein Riechtraining, abhängt. Die Zunahme der Sensitivität einem Stoff gegenüber könnte demnach durch eine gesteigerte und modulierte Neurogenese im Riechkolben möglich sein. Dieser Vorgang stellt ein Zusammenspiel aus der Plastizität von Mitralzellen, permanenter Erneuerung GABAerger Neurone (Fletcher & Wilson 2003) und dem Mechanismus der Apoptose (Najbauer & Leon 1995) dar. Die funktionelle Umstrukturierung des Bulbus vor allem durch Veränderung von Anzahl und räumlichen Verteilung neu generierter Zellen nach dem vermehrten Riechen eines Duftstoffes scheint ein sehr wichtiger Teil des olfaktorischen Lernens zu sein (Mouret et al. 2008). Die erwähnte Plastizität im Bulbus ist sogar mithilfe von MRT-Aufnahmen nachvollziehbar. Bei einer Schädigung der peripheren Strukturen verkleinert sich der Riechkolben aufgrund des reduzierten sensorischen Inputs (Mueller et al. 2005, Rombaux et al. 2006). Nach der medikamentösen oder chirurgischen Behandlung einer chronischen Rhinosinusitis hingegen nimmt der Bulbus olfactorius an Volumen zu (Gudziol et al. 2009).

Darüber hinaus konnte bei einem Riechtraining ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen den Veränderungen des Bulbusvolumens und den Ergebnissen der Riechschwellentestung nachgewiesen werden: bei einer Verbesserung der Riechschwellergebnisse vergrößert sich das Volumen des Riechkolbens (Haehner et al. 2008, Gudziol et al. 2009). Zudem zeigte sich bei Mäusen, dass durch ein Riechtraining der Input der sensorischen Neurone im Bulbus olfactorius steigt (Abraham et al. 2014), was hingegen die Vergrößerung der Struktur zur Folge haben müsste. Solch eine strukturelle Größenveränderung des Riechkolbens nach einem erfolgten Riechtraining konnte bei gesunden Probanden mit Hilfe von MRT-Aufnahmen nachgewiesen werden. Dabei wurden die Studienteilnehmer gebeten beim Training ein Nasenloch zu verdecken und ausschließlich mit demselben zu trainieren. Beim Vergleich der Ausgangsaufnahmen mit den MRT-Aufnahmen nach dem viermonatigen Riechtraining konnte, trotz einseitiger Verdeckung des Nasenloches, eine bilaterale Vergrößerung des Bulbusvolumens nachgewiesen werden. Diese Entdeckung lässt vermuten, dass eine zentral gesteuerte Plastizität mit dem Riechtraining einhergeht (Negoiias et al. 2016) und das Volumen des Riechkolbens ebenso von höheren zentralen Prozessen beeinflusst wird wie vom peripheren Input.

Aber nicht nur mittels des MRTs eines Bulbus olfactorius kann ein Trainingseffekt nach vermehrtem, regelmäßigem Riechen eines bestimmten Duftstoffes nachvollzogen werden, auch das Elektroolfaktogramm (EOG) und das OERP (olfaktorisch evoziertes Potential) dienen dem Nachvollziehen peripherer (EOG und OERP) und zentraler (OERP) Geschehnisse beim Riechen. Der Vergleich der Werte des EOGs und des OERPs vor und nach einem Riechtraining zeigt, dass beide – EOG und OERP – steigen und die Riechschwelle reduziert ist. Damit kann eine duftspezifische Plastizität im peripheren olfaktorischen System angenommen werden. Die nachgewiesenen erhöhten EOG-Werte nach dem Training lassen auf vermehrte Antworten der olfaktorischen Rezeptorneurone (ORN) schließen (Wang et al. 2014). Nun stellt sich wie bereits am Anfang dieses Kapitels erneut die Frage, ob die ORN Antwort höher ist, weil mehr von ihnen exprimiert wurden oder weil sich die ORN auf den Testduftstoff „spezialisiert“ haben und somit eine vermehrte Signalweiterleitung verursachen? Aidley konnte nachweisen, dass z.B. Androstenon ein EOG oder OERP auslösen kann, ohne jedoch von der Testperson überhaupt wahrgenommen zu werden. Dies zeigt, dass Riechwahrnehmung und Rezeptorantwort nicht äquivalent sein müssen (Aidley 1998).

Doch wie lang hält dieser nachgewiesene Trainingseffekt beim Menschen an? Konstantinidis et al. konnten bei Menschen mit einer postinfektiösen olfaktorischen Dysfunktion den entscheidenden Einfluss der Trainingsdauer auf den Trainingseffekt nachweisen. Bei der Studie trainierte eine Gruppe 16 Wochen und eine weitere 56 Wochen mit den Duftstoffen Phenylethylalkohol, Eucalyptol, Citronellal und Eugenol, eine dritte stellte die Kontrollgruppe

dar und trainierte mit einer geruchlosen Lösung. Beide Trainingsgruppen konnten signifikant bessere Trainingsergebnisse erreichen als die Kontrollgruppe und die Gruppe mit der längeren Trainingsdauer zeigte wiederum bessere Ergebnisse als die mit der kürzeren. So unterscheiden Konstantinidis et al. zwischen zwei Phasen: die initiale, schnelle Phase (16 Wochen) mit den größten, klinisch nachweisbaren Verbesserungen der olfaktorischen Wahrnehmung und die zweite, langsamere Phase (56 Wochen), in der eine neuronale Reorganisation vermutet wird (Konstantinidis et al. 2016).

Yee et al. wies hingegen bei Mäusen eine Wahrnehmungssteigerung nach einem zehntägigen Riechtraining gegenüber Androstenon und Amylacetat nach. Zuvor wurde den Tieren die Verbindung zwischen Riechepithel und Riechkolben operativ entfernt. Die erlernte Riechsteigerung konnte nach 45 bis 50 Tagen unverändert bestätigt werden, jedoch verschlechterte sich das Resultat nach 121 bis 203 Tagen (Yee & Wysocki 2001).

Kann man aus diesem Versuch Rückschlüsse auf den Menschen ziehen und behaupten, dass sich der Trainingseffekt mit verminderter Exposition verringern wird? Wird der Trainingseffekt der Probanden von Konstantinidis et al. für immer anhalten oder sich nach einer gewissen Zeit auch wieder abschwächen? Fletcher und Chen vermuten die Beteiligung von verbesserter Mitralzellreaktion und kortikaler Sensitivität als Grundlage für das olfaktorische Langzeitgedächtnis (Fletcher & Chen 2010) – doch ist nicht gewiss, ob ein dreimonatiges Riechtraining dafür ausreicht oder ob sich die Sensitivität wie bei den Mäusen nach einer gewissen Zeit nach dem Training wieder verringert.

5.2 Erklärungsansätze von genetischen Ursachen für das Auftreten von spezifischen Anosmien

5.2.1 Polymorphismus der olfaktorischen Rezeptoren

Olfaktorische Rezeptoren (OR) bilden die erste Stufe der olfaktorischen Wahrnehmung (Buck & Axel 1991) und ihr Polymorphismus stellt wohl die genetische Komponente für das Auftreten spezifischer Anosmien dar (Menashe et al. 2007). Der Begriff „spezifische Anosmie“ beschreibt die Unfähigkeit einer Person, einen bestimmten Stoff zu riechen (Amoore 1967), die sich bereits in der Art und Weise, wie der Duftstoff wahrgenommen wird, äußern kann. So nehmen z.B. einige Menschen Androstenon als stechenden, beißenden, sehr unangenehmen Duft wahr, andere beschreiben ihn als leicht urinös und süßlich und wiederum andere können ihn überhaupt nicht riechen. Keller et al. führten dies auf den Genotyp des Riechrezeptors OR7D4 zurück und fanden heraus, dass die Fähigkeit, Androstenon wahrzunehmen, stark mit der genetischen Variation dieses Rezeptors korreliert (Keller et al. 2007). OR7D4, selektiv im menschlichen Nasenepithel exprimiert (Zhang et al. 2007), sollte demnach in drei Genotypen unterteilt werden: **1.)** den RT/RT Genotyp: Diese Probanden nehmen Androstenon ohne Einschränkungen wahr und empfinden den Duft als eher unangenehm. **2.)** den WM/RT Genotyp, dessen Träger den Duftstoff weniger negativ und intensiv wahrnehmen und **3.)** den WM/WM Genotyp, der Androstenon gar nicht riechen kann und somit einen spezifischen Anosmiker gegenüber dem Steroid darstellt (Keller et al. 2007). Bereits Guillot und Amoore haben die Hypothese aufgestellt, dass individuelle Unterschiede bei der Riechwahrnehmung von Androstenon mit geschädigten Allelen in einem OR zu erklären seien (Guillot 1948, Amoore 1967). In der hier vorliegenden Studie konnte in Zusammenarbeit mit Kuklan kein Zusammenhang zwischen dem jeweiligen Genotyp von OR7D4 und der unterschiedlichen Wahrnehmung von Androstenon nachgewiesen werden (Kuklan 2013). So zeigten Probanden den WM/WM Genotyp auf, konnten aber trotzdem nach einer dreimonatigen Trainingsphase ihre Riechschwelle um 3,5 Stufen verbessern und somit den Stoff wahrnehmen. Laut Keller et al. dürfte dies aufgrund des Genotypes aber nicht möglich sein (Keller et al. 2007). Hingegen zeigten andere Probanden mit dem RT/RT Typ keine Verbesserung nach dem Riechtraining, obwohl sie den Genotyp besaßen, der nach Keller für die Riechwahrnehmung von Androstenon verantwortlich wäre – ein Zusammenhang zwischen dem OR7D4 Genotyp und der Wahrnehmung bzw. Lernfähigkeit von Androstenon bestand also nicht. Auch Lunde et al. fand heraus, dass alle Androstenon wahrnehmenden Probanden seiner Studie den RT/RT Genotyp aufzeigten und Teilnehmer mit mindestens einem WM-Allel Androstenon nicht riechen konnten. Allerdings waren 4 von 16 der RT/RT-Träger spezifische Anosmiker

bezüglich Androstenon (Lunde et al. 2012). Hier zeigt sich ebenfalls eine Abweichung von Kellers „Gesetzmäßigkeit“, wonach alle RT/RT-Genotypen Androstenon ohne Einschränkungen wahrnehmen und Probanden mit nur einem WM-Allel den Duft zumindest abgeschwächt erkennen können. In ihrer Veröffentlichung von 2007 räumten Keller et al. allerdings ein, dass ein Polymorphismus in der OR7D4-Proteinsequenz nicht allein verantwortlich für das komplette Erscheinungsbild „spezifische Anosmie bezüglich Androstenon“ verantwortlich sein kann (Keller et al. 2007) und ließen damit die vollständige Klärung dieses Phänomens offen. Fünf Jahre später konnte die Wahrnehmung von Androstenon erneut dem Rezeptor OR7D4 zugeordnet, jedoch die Genotyp-These nicht bestätigt werden (Knaapila et al. 2012). Doch welche Komponenten oder Einflussfaktoren spielen beim Auftreten einer spezifischen Anosmie im Allgemeinen ebenfalls eine Rolle? Oder lässt sich diese Varianz in der Wahrnehmung von Duftstoffen nicht nur auf einen einzelnen OR beschränken? Vielleicht resultiert aus dem kombinierten Polymorphismus von mehreren ORs eine spezifische Anosmie.

Ein Zusammenhang zwischen der Variabilität in OR-Allelen und der Qualität der Riechwahrnehmung wurde auch für Isovaleriansäure (IVA) gefunden. Es konnte eine signifikante Korrelation zwischen dem Vorkommen von nichtfunktionellen Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) innerhalb der Proteinsequenz von OR11H7P und dem Auftreten von Schwellenunterschieden bei den Probanden nachgewiesen werden. Dabei wiesen Träger einer Kopie des intakten Allels gleichzeitig eine Hyperosmie bezüglich IVA auf (Menashe et al. 2007). Daraus kann wiederum geschlossen werden, dass das Fehlen eines intakten Allels des OR11H7P zu einer Hyposmie bzw. Anosmie bei IVA führen kann. Menashe et al. vermuten dafür eine komplexere Ursache: Die unterschiedliche Wahrnehmung von IVA wäre auf OR-spezifische Variationen zurückzuführen und zusätzlich wird das Mitwirken von nachgeschalteten Komponenten im olfaktorischen Signalweg vermutet (Menashe et al. 2007).

Das menschliche TAAR5 wurde als OR für Trimethylamin (TMA) entdeckt, jedoch konnte bis heute kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von SNPs in der Kodierungssequenz des Rezeptors und der spezifischen Anosmie bezüglich TMA nachgewiesen werden (Wallrabenstein et al. 2013).

Insgesamt kommen von 856 OR-Genen und Pseudogenen (Glusman et al. 2001, Zozulya et al. 2001) nur ca. 60 OR-Loci dafür in Frage, Variationen in Form von SNPs zu beherbergen (Menashe et al. 2003) und somit für die Untersuchung von spezifischen Anosmien interessant zu sein. Duftstoffe binden bekanntlich nicht nur an einen einzelnen Rezeptor (Malnic et al. 1999), daher hat wohlmöglich jeder Duftstoff eine oder mehrere Stellen im OR-Genrepertoire, die für das Auftreten einer spezifischen Anosmie verantwortlich sein kann. Aufgrund dieser Tatsache würde weder das Fehlen bzw. das Nichtfunktionieren eines

einzelnen spezifischen olfaktorischen Rezeptors noch das Auftreten eines SNPs in der DNA des Rezeptorgens zu einer kompletten Nichtwahrnehmung des betreffenden Duftstoffes führen (Croy et al. 2016). Außerdem würden so gut wie alle Stoffe in sehr hoher Konzentration parallel die Aktivierung des trigeminalen Systems und somit die Wahrnehmung des Duftstoffes bewirken (Croy et al. 2014). Die Duftwahrnehmung scheint auf der Ebene der Regio olfactoria sehr variabel zu sein und jedes Individuum hat ein eigenes Set an Duftrezeptoren, das wiederum die ganz persönliche Duftwahrnehmung ausmacht (Mainland et al. 2013). Ein Fehlen oder Nichtfunktionieren eines olfaktorischen Rezeptors kann also unterschiedliche, individuelle Auswirkungen haben.

5.2.2 Einfluss der Moleküle

Im antiken Griechenland ging man davon aus, dass die Atome von süßlich riechenden Duftstoffen eine glatte Oberfläche haben, wo hingegen jene von säuerlichen Substanzen scharfe Elemente besitzen, die die Nase stechen und irritieren (Sell 2006). Heute weiß man, dass die funktionellen Gruppen (Sell 2006), die polaren Gruppen (Kraft 2005) oder das Gewicht (Croy et al. 2016) eines Duftmoleküls großen Einfluss auf die Qualität der Wahrnehmung eines Duftstoffes haben.

Amoore vermutet, dass eine spezifische Anosmie aus dem Fehlen eines die funktionelle Gruppe des Duftstoffes bindenden Rezeptors resultiert (Amoore 1977). Dies ist jedoch nur eine der vielfältigen möglichen Komponenten, die für das Phänomen „spezifische Anosmie“ verantwortlich sind. Als weitere mögliche Ursachen werden u.a. Aufbau und Eigenschaften von Duftmolekülen sowie deren Interaktion mit dem Riechrezeptor diskutiert. So haben die osmophoren Gruppen des Moleküls eine große Bedeutung für die Bindung mit dem Riechrezeptor und daher für die Riechwahrnehmung. Sie gehen eine dipolare Bindung mit der polaren Seite eines olfaktorischen Rezeptors ein (Kraft 2005), ermöglichen die Interaktion von Duftstoff und Riechrezeptor und lösen so ein olfaktorisches Signal aus. Wenn diese Bindungsmöglichkeit am Rezeptor gestört ist, könnte es zu einer verminderten oder veränderten Riechwahrnehmung kommen.

Es wird außerdem vermutet, dass die Diffusion schwerer Duftmoleküle durch den Mukus in der Nasenhöhle mehr beeinflusst wird als die der leichteren Moleküle, was z.B. durch die Zusammensetzung des Schleimes oder die verringerte Flüchtigkeit schwerer Duftstoffe der Fall sein kann (Croy et al. 2016). Der Forschungsansatz, dass die Masse des Moleküls die Duftstoffwahrnehmung beeinflusst, kann durch die vorliegende Studie gestützt werden, in der für Androstenon mit der größten relativen Molekülmasse mehr Probanden mit einer

spezifischen Anosmie gefunden wurden, als für Isovaleriansäure und wiederum als für Trimethylamin.

Möglicherweise spielt auch die individuelle, sich von Proband zu Proband unterscheidende Konsistenz des Nasenschleimes eine Rolle. Dies würde eine ungleiche Voraussetzung für die Duftwahrnehmung bedeuten und die Menschen wären verschieden „anfällig“ für spezifische Anosmien. Dies könnte sich in der Tatsache widerspiegeln, dass zwei der 177 Probanden zugleich eine spezifische Anosmie bezüglich Androstenon und Isovaleriansäure aufwiesen. Eventuell war deren Konsistenz des Mukus ein Grund für das Auftreten dieser spezifischen Anosmien.

Oder die Anzahl der OBPs (Odorant Binding Proteins) im Riechschleim könnte individuell variieren und somit die Duftstoffdiffusion durch den Mukus unterschiedlich begünstigen. Die aktive Rolle von OBPs beim Riechvorgang ist allerdings noch nicht gänzlich verstanden und geklärt (Sell 2006). Denn sollten sie solch eine wichtige Aufgabe beim Riechen haben, wie kann dann erklärt werden, dass Spermien ohne OBPs den Maiglöckchenduft wahrnehmen können (Spehr et al. 2003)?

5.2.3 Vererbung der spezifischen Anosmie

Im Durchschnitt exprimiert ein Mensch etwa 77% aller derzeit bekannten olfaktorischen Rezeptoren, ohne dass ein Schema oder eine Regel vorgeben, welche der Riechrezeptoren er exprimiert und welche nicht (Verbeurgt et al. 2014). Eine vererbare Komponente wäre dabei denkbar. Mithilfe einer Zwillingsstudie wurde bereits die Vererbbarkeit der spezifischen Anosmie bezüglich Androstenon nachgewiesen. Monozygote Zwillinge zeigten größere Übereinstimmungen bei Androstenon-Schwellentests als heterozygote und 100% der eineiigen Zwillingspaare stimmten bezüglich der Wahrnehmung von Androstenon überein: Entweder waren beide Zwillinge sensitiv bezüglich des Stoffes oder beide waren spezifische Anosmiker (Wysocki & Beauchamp 1984, Gross-Isseroff et al. 1992). Eine weitere Studie, bei der 109 Familien untersucht wurden, konnte zeigen, dass die spezifische Anosmie sowohl bezüglich Androstenon als auch bezüglich Isovaleriansäure (IVA) ein autosomal-rezessives Merkmal entsprechend der mendelschen Regeln aufweist (Whissell-Buechy 1973). Für IVA konnte dies auch bei Mäusen nachgewiesen werden (Wysocki et al. 1977, Griff & Reed 1995).

Allerdings war es nicht möglich, diese vererbaren Komponenten auch anhand der in der vorliegenden Studie entnommenen DNA-Proben nachzuvollziehen. Beim Vergleich der Allelfrequenzen spezifischer Anosmiker mit denen von Normosmikern konnte kein Beweis für eine rezessive oder dominante Vererbung dieser spezifischen Anosmie aufgefunden werden.

Ebenso konnte die Vermutung, dass Einzelnukleotid-Polymorphismen in speziellen Riechrezeptorgenen für das Auftreten solcher Anosmien verantwortlich sind, nicht gestützt werden. Ein loss-of-function Polymorphismus in diesen bestimmten olfaktorischen Rezeptorgenen trat bei spezifischen Anosmikern nicht häufiger auf als bei jenen Probanden, die den jeweiligen Stoff ohne Einschränkungen wahrnehmen konnten (Kuklan 2014).

Das Auftreten der spezifischen Anosmie ist also auch nicht allein auf eine vererbte Komponente oder einen Polymorphismus des Riechrezeptors zurückzuführen, vielmehr muss eine Kombination aus genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen für das Vorkommen einer spezifischen Anosmie verantwortlich sein.

5.3 Methodenkritik und Fehlermöglichkeiten

Die Akquise der 180 Studienteilnehmer erfolgte über Aushänge in verschiedenen Fakultäten der TU Dresden, über Ebaykleinanzeigen und persönliche Kontakte. Der Einbezug einer öffentlich zugänglichen Internetplattform ermöglichte eine zufällige Selektierung aus allen Bevölkerungsschichten, was die Beeinflussung der Ergebnisse durch eine eventuell höhere Motivation bei Akademikern relativierte (Puschmann 2013). Das eher mangelnde Engagement einiger Testpersonen für eine erfolgreiche und gewissenhafte Teilnahme an dieser Studie spiegelt sich darin wider, dass vier der anfänglich 23 Trainingsteilnehmer nach dreimonatigem häuslichen Training nicht mehr erreichbar waren und so nur die Ergebnisse von 19 Probanden ausgewertet werden konnten. Letztendlich beruht das Prinzip des häuslichen Trainings auf dem Vertrauen in die Zuverlässigkeit der Probanden. Ein Riechtagebuch, in das die Probanden z.B. Datum, Uhrzeit, Besonderheiten und Intensität der Riechwahrnehmung eintragen, könnte die Auswertung unterstützen und eine mangelnde oder fehlende Motivation bzw. die Zuverlässigkeit der Ergebnisse im Vorfeld besser einzuschätzen helfen.

Für die Darstellung der Verteilung spezifischer Anosmien in der Normalbevölkerung wurde eine vergleichsweise geringe Teilnehmeranzahl gewählt, sodass leider für Isovaleriansäure nur drei und für Trimethylamin nur ein spezifischer Anosmiker gefunden werden konnten. Damit waren die Prüfung von Korrelationen bei Geschlecht, Alter und Rauchen oder die Untersuchung von Zusammenhängen z.B. beim Auftreten mehrerer spezifischer Anosmien mit einer Person nicht möglich.

Um die Riechwahrnehmung des Bevölkerungsquerschnittes darzustellen, hätten auch Probanden unter 18 und über 45 getestet werden müssen. Auf die Untersuchung von jüngeren Probanden wurde jedoch aufgrund ethischer Bedenken verzichtet und der

Ausschluss älterer Testpersonen erfolgte aufgrund der Tatsache, dass das natürliche Nachlassen der olfaktorischen Leistung (Venstrom & Amoore 1968, Cowart 1989, Murphy et al. 2002, Welge-Lüssen 2008) die Ergebnisse verfälschen und das Auftreten einer spezifischen Anosmie als Folge der altersbedingten fehlenden bzw. verringerten Riechwahrnehmung darstellen könnten.

Zusätzlich war die Anzahl der teilnehmenden Frauen (74,4%) und Männer (25,6%) nicht ausgeglichen. Betrachtet man die in der Literatur beschriebene allgemein bessere Riechwahrnehmung der Frau (Koelega & Köster 1974, Brand & Millot 2001, Dalton et al. 2002, Hummel et al. 2007, Doty & Cameron 2009), könnte man von einer positiven Beeinflussung der Ergebnisse sprechen.

Nach der 88. und 141. Probandentestung wurde die gesamte Verdünnungsreihe der Duftstoffe neu angefertigt, um das Risiko einer Verfälschung der Ergebnisse durch Verlust der Duftintensität der Probe oder äußere Einflüsse zu verringern. Dennoch kann z.B. ein Kontakt der Behältnisse mit der Umgebung (z.B. Berührung der Probandennase) oder die unbewusste Beeinflussung der Probanden durch Fremdduftstoffe nicht ausgeschlossen werden. Obwohl auf ein sofortiges und sorgfältiges Verschließen der Teststoffflaschen geachtet wurde, ist auch ein Intensitätsverlust während der Probandentestung nicht ausgeschlossen. Hinzu kommt, dass die Verdünnungsreihe von Androstenon, wegen der sehr hohen Beschaffungskosten auf $1:10^{10}$ bis $1:10^3$ (Duftstoff : Lösungsmittel) begrenzt und die Intensität des Duftstoffes in den höheren Verdünnungsstufen nicht äquivalent mit denen von Trimethylamin (TMA) und Isovaleriansäure (IVA) war. Dementsprechend war auch die mitgegebene Probe von Androstenon für das häusliche Riechtraining niedriger dosiert als die von TMA und IVA und führte eventuell zu schlechteren Trainingsergebnissen.

5.4 Ausblick im Zusammenhang mit der aktuellen Forschung

Es ist bereits umfangreich über die Steigerungsfähigkeit der Riechwahrnehmung für einen bestimmten Stoff durch ein Riechtraining berichtet worden. Eine von neusten Forschungen ausgehende Studie an spezifischen Anosmikern, die sowohl ein Riechtraining einschließt als auch die genetischen Grundlagen der spezifischen Anosmie an den selben Probanden untersucht, stellt jedoch einen weiterführenden Betrachtungsansatz dar.

Eine partielle Anosmie wird mit Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) in den betreffenden Riechrezeptorgenen begründet (Keller et al. 2007, Menashe et al. 2007, Knaapila et al. 2012, Lunde et al. 2012), was die Untersuchung der Riechrezeptorgene der Probanden veranlasste. Bei spezifischen Anosmikern wurden nicht mehr SNPs in den

Riechrezeptorgenen gefunden als bei der Kontrollgruppe ohne spezifische Anosmie (Kuklan 2014), so dass die Stoffblindheit der betreffenden Probanden auch nicht mit dem Vorhandensein von SNPs in Zusammenhang gebracht werden konnte. Die vorherrschende Meinung, dass der spezifischen Anosmie genetische Ursachen zugrundeliegen, erschien plausibel, bestätigte sich jedoch bei den durchgeführten Testungen nicht. Einer der Probanden, der nicht die genetischen Bedingungen erfüllte, um den Duftstoff jemals wahrzunehmen, konnte seine Riechschwelle um 3,5 Stufen steigern und den Duft anschließend wahrnehmen. Alles weist darauf hin, dass das Phänomen der spezifischen Anosmie als eine komplexe, multifaktoriell verursachte Abweichung der Riechwahrnehmung angesehen werden muss – die in Frage kommenden Komponenten und deren spezifische Beteiligung wären noch zu belegen.

Mit der vorliegenden Studie wird gezeigt, dass sich eine bestehende Stoffblindheit nicht allein mit SNPs in den Riechrezeptorgenen zu erklären ist und dass sie mithilfe eines dreimonatigen Riechtrainings erfolgreich aufgehoben werden kann.

Weiterführend wäre noch zu klären, was den Trainingseffekt verursacht und ausmacht. Ist die Antwort der olfaktorischen Rezeptorneurone (ORN) stärker, weil mehr von ihnen exprimiert wurden oder weil sich die ORN auf den Testduftstoff „spezialisiert“ haben und eine vermehrte Signalweiterleitung bewirken? Mehr Qualität oder mehr Quantität? Oder resultiert der Trainingseffekt lediglich aus der gesteigerten Wahrnehmungsfähigkeit für den trigeminalen Reiz? Auch die Frage nach der Beständigkeit des Trainingseffektes ist noch nicht gänzlich geklärt. Tierstudien lassen Vermutungen zu (Yee & Wysocki 2001), doch sind sie auch für den Menschen gültig? Hält die gesteigerte Sensitivität ein Leben lang an oder schwindet sie wie bei den Mäusen mit nachlassender Duftexposition? Die Erforschung dieser Aspekte kann zum Ausgangspunkt für notwendige weitere Studien werden.

6 Zusammenfassung

6.1 Deutsche Zusammenfassung

Hintergrund: Amoore definierte die spezifische Anosmie als den Zustand einer Person, in der sie nicht fähig ist, einen Duftstoff in jener Konzentration wahrzunehmen, in der er für andere Menschen eindeutig erkennbar ist (Amoore 1977).

In der vorliegenden Studie wurde das Vorkommen solch einer spezifischen Anosmie bezüglich Androstenon, Isovaleriansäure und Trimethylamin innerhalb der Normalpopulation untersucht und anschließend die Erlernbarkeit der Wahrnehmung dieser drei Teststoffe mithilfe eines Riechtrainings getestet.

Die Ursachen der spezifischen Anosmie und die dem Trainingseffekt zugrundeliegenden Veränderungen und Vorgänge sind noch vollkommen unklar. Forschungsansätze fokussieren auf die genetische Veränderung der olfaktorischen Riechrezeptoren und machen dort lokalisierte Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) für das Auftreten von partiellen Anosmien verantwortlich (Keller et al. 2007, Menashe et al. 2007, Knaapila et al. 2012, Lunde et al. 2012). Zusätzlich wird über die Vererbbarkeit einer solchen Stoffblindheit spekuliert (Whissell-Buechy 1973).

Material und Methoden: Es wurden insgesamt 180 Probanden (46 männlich, 134 weiblich) im Alter zwischen 18 und 45 Jahren getestet. Drei der Teilnehmer mussten aufgrund des zu hohen Alters (Maximum 45 Jahre) von der Auswertung ausgeschlossen werden. Zuerst wurde das normale Riechvermögen der Testpersonen mithilfe eines Identifikationstestes mit „Sniffin Sticks“ überprüft, um eventuell von Grund auf bestehende Riechdefizite gleich zu Beginn entdecken zu können. Im Anschluss wurden die Riechschwellen für die Duftstoffe Androstenon, Isovaleriansäure und Trimethylamin ermittelt und eine DNA-Probe von der bukkalen Mundschleimhaut entnommen. Mittels der Schwellentestung konnten spezifische Anosmiker bezüglich der Testduftstoffe identifiziert (Screening) und um ein dreimonatiges, freiwilliges, häusliches Training gebeten werden. An diesem Training nahmen 23 Personen teil. Sie erhielten eine Probe des jeweiligen Duftes mit nach Hause und waren angehalten zweimal täglich (morgens und abends) daran zu riechen. Nach drei Monaten wurde die Riechschwelle (Recall) der Probanden mit dem Duftstoff erneut erhoben und mit dem Ausgangswert verglichen. An diesem Recall nahmen 19 Testpersonen teil. Anhand der DNA-Proben erfolgte anschließend die Untersuchung der genetischen Bedingungen der spezifischen Anosmie, speziell hinsichtlich des Vorhandenseins der SNPs.

Ergebnisse: Unter den 177 Teilnehmern befanden sich insgesamt 46 Personen mit einer spezifischen Anosmie, davon 42 gegenüber Androstenon, 3 gegenüber Isovaleriansäure

(IVA) und eine gegenüber Trimethylamin (TMA). Zwei Probanden waren sowohl spezifische Anosmiker bezüglich Androstenon als auch bezüglich IVA.

Die Ergebnisse nach dem Training zeigten bei 12 Teilnehmern eine deutliche Steigerung der Androstenon-wahrnehmung. Ihre Endriechschwelle erhöhte sich im Vergleich zur Ausgangsriechschwelle um ≥ 3 Verdünnungsstufen, was einer Sensitivierung und somit einem Trainingseffekt entspricht (Wysocki et al. 1989). Bei sechs der 18 Probanden, die mit Androstenon trainierten, konnte keine Verbesserung im Anschluss festgestellt werden. Eine Testperson verschlechterte sich sogar. Alle drei Trainingsteilnehmer mit IVA verbesserten sich beim Recallschwellentest um mindestens 5,5 Konzentrationsstufen und waren dementsprechend gegenüber IVA sensitiv.

Beim Auftreten einer spezifischen Anosmie konnte kein Einfluss von Geschlecht, Rauchen oder Alter beobachtet werden. Jedoch wiesen Frauen (MW=4,18; SD=2,12) eine signifikant größere Steigerung der Riechwahrnehmung ($t(16)=-3,182$, $p=0,006$) gegenüber Androstenon auf als Männer (MW=0,17; SD=0,52).

Bei der genetischen Auswertung der Mundabstriche – sowohl für Androstenon, IVA als auch TMA – konnte kein Zusammenhang zwischen einem Polymorphismus in einer Kodierungssequenz der Riechrezeptorgene und dem Auftreten einer spezifischen Anosmie gefunden werden. Auch eine vererbare Komponente der spezifischen Anosmie konnte nicht nachgewiesen werden.

Schlussfolgerung: Die vorliegende Studie belegt die Angaben der Literatur bezüglich der Verteilung des Auftretens einer spezifischen Anosmie gegenüber Androstenon, IVA und TMA.

Die Ergebnisse sprechen für die Erlernbarkeit der Wahrnehmung eines Duftstoffes mithilfe eines dreimonatigen Riechtrainings für Androstenon und IVA, was auch mit den Schlussfolgerungen anderer Studien (Wysocki et al. 1989, Wang et al. 2004, Keller et al. 2007, Lunde et al. 2012) übereinstimmt.

Die Annahme, dass ein Einzelnukleotid-Polymorphismus in einem olfaktorischen Rezeptorgen allein das Auftreten einer spezifischen Anosmie bewirkt und einzig der Phänotyp dieses Rezeptors (Keller et al. 2007, Knaapila et al. 2012, Lunde et al. 2012) über die Wahrnehmung oder Nichtwahrnehmung eines Stoffes entscheidet, konnte in dieser Studie nicht bestätigt werden. Weitere Forschungen sollten den Aspekt berücksichtigen, dass die spezifische Anosmie multifaktorielle Ursachen haben dürfte, die sich aus dem Zusammenspiel aus genetischen und Umweltfaktoren ergeben.

6.2 Englische Zusammenfassung (summary)

Background: Amoore defined Specific anosmia as a condition in which a person of otherwise normal olfactory acuity cannot perceive a particular compound, at a concentration such that its odour is obvious to most of the general population (Amoore 1977).

Based on other studies, it was the aim of this study to investigate the occurrence of specific anosmia to androstenone, isovaleric acid and trimethylamine in the human population and whether the ability to smell these test odours can be trained. It is believed that a single nucleotide polymorphism (SNP) in the olfactory receptor gene causes specific anosmia (Keller et al. 2007, Menashe et al. 2007, Knaapila et al. 2012, Lunde et al. 2012) and that there is recessive inheritance (Whissell-Buechy 1973).

Methods: In total, this study tested 180 people (46 male, 134 female) aged between 18 and 45 years old. Three of the participants had to be excluded from the analysis due to their advanced age. Firstly, the normosmic function of the participants was checked with the help of the “sniffin sticks” identification test, to ensure correct results and to eliminate any pre-existing olfactory deficits.

Secondly, all participants were tested for specific anosmia to androstenone, isovaleric acid and trimethylamine and, their individual thresholds were identified and a DNA probe of the buccal mucosa was taken.

By using the threshold test, specific anosmics to the three test odours could be identified through screening and selected to participate in a voluntary three month training trial at home. 23 participants took part in this trial to train their olfactory function. They were given a probe of the test odour and were asked to smell it twice a day (in the morning and the evening). After three months, the threshold test was conducted again (recall) and the difference between the screening and recall thresholds was compared. 19 participants took part in this recall and on the basis of the DNA probe, we could analyse genetic background especially the existence of SNPs (single polymorphism) in olfactory receptor genes.

Results: Among all 177 participants, 46 participants fulfilled the criteria for specific anosmia: 42 to androstenone, 3 to isovaleric acid (IVA) and one to trimethylamine (TMA). Two participants manifested a partial anosmia to both androstenone and IVA.

The results of the recall from 12 people (n = 18) showed a considerable increase of sensitivity to androstenone as a result of the training. Their recall thresholds increased in contrast to their screening thresholds ≥ 3 dilution steps, in this study this result is related to the training effect (Wysocki et al. 1989). Six of the eighteen participants who trained with androstenone showed no increase in their odour thresholds and one subject even experienced a decreased threshold.

Each of the participants who participated in the sniffing training with IVA increased their odour threshold by at least 5,5 dilution steps and showed increased sensitivity to this odour. There was no significant gender, age or smoking effects on specific anosmia potential. However, female voluntary training participants ($M = 4,18$; $SD = 2,12$) showed a significant ($t(16) = -3,182$, $p = 0,006$) higher increase of threshold after training than male participants ($M = 0,17$; $SD = 0,52$).

Analysis of the DNA probe showed that there was no significant correlation between the existence of SNPs in coding sequence from olfactory receptor gene and specific anosmia. Nor could any inheritable component of partial anosmia be found.

Discussion: Results from this study support the thesis given in current studies regarding the distribution in appearance of specific anosmia to androstenone, IVA and TMA. The available results provide evidence of the development of sensitivity to androstenone and IVA using three-month sniffing training and this corresponds with former studies (Wysocki et al. 1989, Wang et al. 2004, Keller et al. 2007, Lunde et al. 2012). However, previous research findings which reference genetic principles were disproven as there was no evidence that SNPs in a olfactory receptor gene could exclusively cause specific anosmia and that olfactory receptor's phenotype (Keller et al. 2007, Knaapila et al. 2012, Lunde et al. 2012) could dictate whether humans are able to detect an odour or not. It can be concluded that more research is needed to understand what the reason for partial anosmia is. Further research should focus on a combination of genetic and environmental factors to provide a more advanced understanding of the causes of this complex condition.

Literaturverzeichnis

Abaffy T, Malhotra A, Luetje CW (2007) The molecular basis for ligand specificity in a mouse olfactory receptor a network of functionally important residues. *Journal of biological chemistry*, 282(2), 1216–1224.

Abraham NM, Vincis R, Lagier S, Rodriguez I, Carleton A (2014) Long term functional plasticity of sensory inputs mediated by olfactory learning. *Elife*, 3, e02109.

Aidley DJ (1998) *The physiology of excitable cells*. Fourth edn. Cambridge University Press. Cambridge Books Online.

Amoore JE (1967) Specific anosmia: a clue to the olfactory code. *Nature*, 214, 1095–1098.

Amoore J E (1971) Olfactory genetics and anosmia. 245–256 of: *Olfaction*. Springer.

Amoore JE (1977) Specific anosmia and the concept of primary odors. *Chemical senses*, 2(3), 267–281.

Amoore JE, Forrester LJ (1976) Specific anosmia to trimethylamine: The fishy primary odor. *Journal of chemical ecology*, 2, 49–56.

Arctander S (1994) *Perfume and flavor chemicals: Aroma chemicals*.

Beets MGJ, Theimer ET. (1970) Odour similarity between structurally unrelated odorants. 313–323.

Benninghoff A, Drenckhahn D, Waschke J (2008) *Taschenbuch Anatomie*. Elsevier, Urban & Fischer 551-555.

Bette M, Bremke M, Röhrenbeck A (o. Jahr). *Aufbau des Riechepithels*. Institut für Anatomie und Zellbiologie, Abteilung für Molekulare Neurowissenschaft Philipps Universität Marburg.

Bird S, Gower DB (1983) Estimation of the odorous steroid, 5 α -androst-16-en-3-one, in human saliv. *Experientia*, 39(7), 790–792.

Blomqvist E, Bramerson A, Stjarne P, Nordin S (2004) Consequences of olfactory loss and adopted coping strategies. *Rhinology*, 42(4), 189–194.

Bogen JE (1995) On the neurophysiology of consciousness: 1. an overview. *Consciousness and cognition*, 4(1), 52–62.

Borowsky B, Adham N, Jones KA, Raddatz R, Artymyshyn R, Ogozalek KL, Durkin MM, Lakhani PP, Bonini JA, Pathirana S, Boyle N, Pu X, Kouranova E, Lichtblau H, Ochoa FY, Branchek TA, Gerald C (2001) Trace amines: identification of a family of mammalian G protein-coupled receptors. *Proceedings of the national academy of sciences*, 98(16), 8966–8971.

Brand G, Millot J (2001) Sex differences in human olfaction: between evidence and enigma. *The quarterly journal of experimental psychology: Section b*, 54(3), 259–270.

Brooksbank BW, Brown R, Gustafsson JA (1974) The detection of *sa-androst-16-en-3 α -ol* in human male axillary sweat. *Experientia*, 30.

Bruel-Jungerman E, Rampon C, Laroche S (2007) Adult hippocampal neurogenesis, synaptic plasticity and memory: facts and hypotheses. *Reviews in the neurosciences*, 18(2), 93–114.

Buck L, Axel R (1991) A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell*, 65(1), 175–187.

Conley DB, Robinson AM, Shinnars MJ, Kern RC (2003) Age-related olfactory dysfunction: cellular and molecular characterization in the rat. *American journal of rhinology*, 17(3), 169–175.

Cowart BJ (1989) Relationships between taste and smell across the adult life span. *Annals of the new york academy of sciences*, 561(1), 39–55.

Croy I, Olgun S, Mueller L, Schmidt A, Muench M, Gisselmann G, Hatt H, Hummel T (2016) Specific Anosmia as a principle of olfactory perception. *HNO*, 1–4.

Croy I, Schulz M, Blumrich A, Hummel C, Gerber J, Hummel T (2014) Human olfactory lateralization requires trigeminal activation. *Neuroimage*, 98, 289–295.

Dalton P, Doolittle N, Breslin PA (2002) Gender-specific induction of enhanced sensitivity to odors. *Nature neuroscience*, 5(3), 199–200.

Dorries LKM (1992) *Science of olfaction*. Springer Science & Business Media.

Doty RL, Cameron EL (2009) Sex differences and reproductive hormone influences on human odor perception. *Physiology & behavior*, 97(2), 213–228.

Draguhn A (2010) *Physiologie*. Georg Thieme Verlag.

Durand M, Coronas V, Jourdan F, Quirion R (1998) Developmental and aging aspects of the cholinergic innervation of the olfactory bulb. *International journal of developmental neuroscience*, 16(7), 777–785.

Dyson GM (1938) The scientific basis of odour. *Journal of the society of chemical industry*, 57(28), 647–651.

Elad D, Wolf M, Keck T (2008) Air-conditioning in the human nasal cavity. *Respiratory physiology & neurobiology*, 163(1), 121–127.

Engen T (1960) Effect of practice and instruction on olfactory thresholds. *Perceptual and motor skills*, 10(3), 195–198.

Ferrero DM, Lemon JK, Fluegge D, Pashkovski SL, Korzan WJ, Datta SR, Spehr M, Fendt M, Liberles SD (2011) Detection and avoidance of a carnivore odor by prey. *Proceedings of the national academy of sciences*, 108(27), 11235–11240.

Ferrero DM, Wacker D, Roque MA, Baldwin MW, Stevens RC, Liberles SD (2012) Agonists for 13 trace amine-associated receptors provide insight into the molecular basis of odor selectivity. *Acs chemical biology*, 7(7), 1184–1189.

Fletcher ML, Chen WR (2010) Neural correlates of olfactory learning: critical role of centrifugal neuromodulation. *Learning & memory*, 17(11), 561–570.

Fletcher ML, Wilson DA (2003) Olfactory bulb mitral-tufted cell plasticity: odorant-specific tuning reflects previous odorant exposure. *The journal of neuroscience*, 23(17), 6946–6955.

Gelis L, Wolf S, Hatt H, Neuhaus EM, Gerwert K (2012) Prediction of a ligand-binding niche within a human olfactory receptor by combining site-directed mutagenesis with dynamic homology modeling. *Angewandte chemie international edition*, 51(5), 1274–1278.

Gloriam DE, Bjarnadóttir TK, Yan Y, Postlethwait JH, Schiöth HB, Fredriksson R (2005) The repertoire of trace amine g-protein-coupled receptors: large expansion in zebrafish. *Molecular phylogenetics and evolution*, 35(2), 470–482.

Glusman G, Bahar A, Sharon D, Pilpel Y, White J, Lancet D (2000) The olfactory receptor gene superfamily: data mining, classification, and nomenclature. *Mammalian genome*, 11(11), 1016–1023.

Glusman G, Yanai I, Rubin I, Lancet D (2001) The complete human olfactory subgenome. *Genome research*, 11(5), 685–702.

Gottfried JA (2009) Olfaction: when nostrils compete. *Current biology*, 19(18), R862–R864.

Griff IC, Reed RR (1995) The genetic basis for specific anosmia to isovaleric acid in the mouse. *Cell*, 83(3), 407–414.

Gross-Isseroff R, Ophir D, Bartana A, Voet H, Lancet D (1992) Evidence for genetic determination in human twins of olfactory thresholds for a standard odorant. *Neuroscience letters*, 141(1), 115–118.

Gudziol V, Buschhüter D, Abolmaali N, Gerber J, Rombaux P, Hummel T (2009) Increasing olfactory bulb volume due to treatment of chronic rhinosinusitis - a longitudinal study. *Brain*, awp243.

Guillot M. (1948) Physiologie des sensations-anosmies partielles et odeurs fondamentales. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'academie des sciences*, 226(16), 1307–1309.

Haehner A, Rodewald A, Gerber JC, Hummel T (2008) Correlation of olfactory function with changes in the volume of the human olfactory bulb. *Archives of otolaryngology–head & neck surgery*, 134(6), 621–624.

Hartmann-Schreier J (2005) Römpp online [Aktualisiert am: November 2005, Aufruf am: 17.05.2014] URL: <https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-20-02951%20>

Hashiguchi Y, Nishida M (2007) Evolution of trace amine-associated receptor (taar) gene family in vertebrates: Lineage-specific expansions and degradations of a second class of vertebrate chemosensory receptors expressed in the olfactory epithelium. *Molecular biology and evolution*, 24(9), 2099–2107.

Hasin-Brumshtein Y, Lancet D, Olender T (2009) Human olfaction: from genomic variation to phenotypic diversity. *Trends in genetics*, 25(4), 178–184.

Hatt H (2004) Molecular and cellular basis of human olfaction. *Chemistry & biodiversity*, 1(12), 1857–1869.

Holscher W, Steinhart HE, Charalambous G (1995) Food flavors. generation, analysis and process influence. *Food flavors: generation, analysis and process influence*.

Hummel T, Gollisch R, Wildt G, Kobal G (1991) Changes in olfactory perception during the menstrual cycle. *Experientia*, 47(7), 712–715.

Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim Alan (2007) Normative data for the “sniffin’sticks” including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 264(3), 237–243.

Hummel T, Kobal G (1992) Differences in human evoked potentials related to olfactory or trigeminal chemosensory activation. *Electroencephalography and clinical neurophysiology/evoked potentials section*, 84(1), 84–89.

Hummel T, Welge-Lüsse A (2009) Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie und therapeutische Ansätze. Strukturelle und funktionelle Grundlagen. Georg Thieme Verlag.

Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G (1997) ‘sniffin’sticks’: olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chemical senses*, 22(1), 39–52.

Hummel T, Rissom K, Reden J, Hähner A, Weidenbecher M, Hüttenbrink KB (2009) Effects of olfactory training in patients with olfactory loss. *The laryngoscope*, 119(3), 496–499.

Huppelsberg J, Walter K (2009) *Kurzlehrbuch Physiologie: 42 Tabellen*. Georg Thieme Verlag 370-373.

Ishii T, Serizawa S, Kohda A, Nakatani H, Shiroishi T, Okumura K, Iwakura Y, Nagawa F, Tsuboi A, Sakano H (2001) Monoallelic expression of the odourant receptor gene and axonal projection of olfactory sensory neurones. *Genes to cells*, 6(1), 71–78.

Jaeger SR, McRae JF, Bava CM, Beresford MK, Hunter D, Jia Y, Chheang SL, Jin D, Peng M, Gamble JC, Atkinson KR, Axten LG, Paisley AG, Tooman L, Pineau B, Rouse SA, Newcomb RD (2013) A mendelian trait for olfactory sensitivity affects odor experience and food selection. *Current biology*, 23(16), 1601–1605.

Jafek BW (1983) Ultrastructure of human nasal mucosa. *The laryngoscope*, 93(12), 1576–1599.

Jafek BW, Murrow B, Michaels R, Restrepo D, Linschoten M (2002). Biopsies of human olfactory epithelium. *Chemical senses*, 27(7), 623–628.

Jahn U (2014). Römpp online. [Aktualisiert am: Dezember 2014, Aufruf am: 24.03.2015] URL: <https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-13-01809>.

Jones NR (1967) Fish flavors. *Chemistry and physiology of flavors*, 267–295.

Kajiya K, Inaki K, Tanaka M, Haga T, Kataoka H, Touhara K (2001) Molecular bases of odor discrimination: reconstitution of olfactory receptors that recognize overlapping sets of odorants. *The journal of neuroscience*, 21(16), 6018–6025.

Katotomichelakis M, Balatsouras D, Tripsianis G, Davris S, Maroudias N, Danielides V, Simopoulos C (2007) The effect of smoking on the olfactory function. *Rhinology*, 45(4), 273.

Keller A, Zhuang H, Chi Q, Vosshall LB, Matsunami H (2007) Genetic variation in a human odorant receptor alters odour perception. *Nature*, 449(7161), 468–472.

Knaapila A, Zhu G, Medland SE, Wysocki CJ, Montgomery GW, Martin NG, Wright MJ, Reed DR (2012) A genome-wide study on the perception of the odorants androstenone and galaxolide. *Chemical senses*, 37(6), 541–552.

Koelega HS, Köster, EP (1974) Some experiments on sex differences in odor perception. *Annals of the new york academy of sciences*, 237(1), 234–246.

Konstantinidis I, Tsakiropoulou E, Constantinidis J (2016) Long term effects of olfactory training in patients with post-infectious olfactory loss. *Rhinology*, 54(2), 170–175.

Kovács, Tibor (2004) Mechanisms of olfactory dysfunction in aging and neurodegenerative disorders. *Ageing research reviews*, 3(2), 215–232.

Kraft P (2005) *Chemistry and technology of flavors and fragrances*. Wiley Online Library.

Krautwurst D (2008) Human olfactory receptor families and their odorants. *Chemistry & biodiversity*, 5(6), 842–852.

Kuklan J, jonas.kuklan@rub.de (2013) Auswertung meiner Mundabstriche. [E-Mail] Nachricht an A. Schmidt (anna-weida@t-online.de). Gesendet am 03.07.2013, 18.50 Uhr

Kuklan J (2014) Polymorphisms in the human genome and their impact on olfactory perception. Ruhr-Universität Bochum, Fakultät Biologie und Biotechnologie der internationalen Graduiertenschule Biowissenschaften, Dissertation.

Kwon BS, Kim M, Kim WH, Pyo JS, Cheon YH, Cha CI, Nam SY, Baik, Lee BL (2005) Age-related changes in microvillar cells of rat olfactory epithelium. *Neuroscience letters*, 378(2), 65–69.

Labows JN, Preti G (1992) *Human semiochemicals*.

Landis BN, Konnerth CG, Hummel T (2004) A study on the frequency of olfactory dysfunction. *The laryngoscope*, 114(10), 1764–1769.

Liberles SD (2009) Trace amine-associated receptors are olfactory receptors in vertebrates. *Annals of the new york academy of sciences*, 1170(1), 168–172.

Liberles SD, Buck LB (2006) A second class of chemosensory receptors in the olfactory epithelium. *Nature*, 442(7103), 645–650.

Lledo PM, Alonso M, Grubb MS (2006) Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nature reviews neuroscience*, 7(3), 179–193.

Lovell MA, Jafek BW, Moran DT, Rowley JC (1982) Biopsy of human olfactory mucosa: an instrument and a technique. *Archives of otolaryngology*, 108(4), 247–249.

Lüllmann-Rauch R (2006) *Taschenlehrbuch Histologie*. 2. Auflage. Thieme, Stuttgart

Lunde K, Egelanddal B, Skuterud E, Mainland JD, Lea T, Hersleth M, Matsunami (2012) Genetic variation of an odorant receptor OR7D4 and sensory perception of cooked meat containing androstenone. *Plos one*, 7(5), e35259.

MacArthur DG, Balasubramanian S, Frankish A, Huang N, Morris J, Walter K, Jostins L, Habegger L, Pickrell JK, Montgomery SB, Albers CA, Zhang ZD, Conrad DF, Lunter G, Zheng H, Ayub Q, DePristo MA, Banks E, Hu M, Handsaker RE, Rosenfeld JA, Fromer M, Jin M, Mu, XJ, Khurana E, Ye K, Kay M, Suanders GI, Suner M, Hunt T, Barnes I, Amid C, Carvalho-Silva DR, Bignell AH, Snow C, Yngcadottir B, Bumpstead S, Cooper DN, Xue Y, Romero IG, Wang J, Li Y, Gibbs RA, McCorroll SA, Dermitzakis ET, Pritchard JK (2012) A systematic survey of loss-of-function variants in human protein-coding genes. *Science*, 335(6070), 823–828.

Magavi SSP, Mitchell BD, Szentirmai O, Carter BS, Macklis JD (2005) Adult-born and preexisting olfactory granule neurons undergo distinct experience-dependent modifications of their olfactory responses in vivo. *The journal of neuroscience*, 25(46), 10729–10739.

Mai JK, Paxinos G (2011) *The human nervous system*. Academic Press.

Mainland JD, Bremner EA, Young N, Johnson BN, Khan RM, Bensafi M, Sobel N (2002) Olfactory plasticity: one nostril knows what the other learns. *Nature*, 419(6909), 802–802.

Mainland JD, Keller A, Li YR, Zhou T, Trimmer C, Snyder LL, Moberly AH, Adipietro KA, Liu, Wen LL, Zhuang H (2013) The missense of smell: functional variability in the human odorant receptor repertoire. *Nature neuroscience*.

Malnic B, Hirono J, Sato T, Buck LB (1999) Combinatorial receptor codes for odors. *Cell*, 96(5), 713–723.

Malnic B, Godfrey PA, Buck LB (2004) The human olfactory receptor gene family. *Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, 101(8), 2584–2589.

Man O, Gilad Y, Lancet D (2004) Prediction of the odorant binding site of olfactory receptor proteins by human–mouse comparisons. *Protein science*, 13(1), 240–254.

Martin S, Pangborn RM (1970) A note on responses to ethyl alcohol before and after smoking¹. *Perception & psychophysics*, 8(3), 169–170.

McRae JF, Jaeger SR, Bava CM, Beresford MK, Hunter D, Jia Y, Chheang SL, Jin D, Peng M, Gamble JC (2013) Identification of regions associated with variation in sensitivity to food-related odors in the human genome. *Current biology*, 23(16), 1596–1600.

Menashe I, Man O, Lancet D, Gilad Y (2003) Different noses for different people. *Nature genetics*, 34(2), 143–144.

Menashe I, Abaffy T, Hasin Y, Goshen S, Yahalom V, Luetje CW, Lancet D (2007) Genetic elucidation of human hyperosmia to isovaleric acid. *Plos biology*, 5(11), e284.

Möller R, Pause BM, Ferstl R (1999) Induzierbarkeit geruchlicher Sensitivität durch Duft-Exposition bei Personen mit spezifischer Anosmie. *Z exp psychol*, 46(1), 53–71.

Mombaerts P (2004a) Genes and ligands for odorant, vomeronasal and taste receptors. *Nature reviews neuroscience*, 5(4), 263–278.

Mombaerts P (2004b) Odorant receptor gene choice in olfactory sensory neurons: the one receptor–one neuron hypothesis revisited. *Current opinion in neurobiology*, 14(1), 31–36.

Moran DT, Rowley JC, Jafek BW (1982a) Electron microscopy of human olfactory epithelium reveals a new cell type: the microvillar cell. *Brain research*, 253(1), 39–46.

Moran DT, Rowley III JC, Jafek BrW, Lovell MA (1982b) The fine structure of the olfactory mucosa in man. *Journal of neurocytology*, 11(5), 721–746.

Mori K, Nagao H, Yoshihara Y (1999) The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information. *Science*, 286(5440), 711–715.

Mouret A, Gheusi G, Gabellec MM, de Chaumont F, Olivo-Marin JC, Lledo PM (2008) Learning and survival of newly generated neurons: when time matters. *The journal of neuroscience*, 28(45), 11511–11516.

Mueller A, Rodewald A, Reden J, Gerber J, von Kummer R, Hummel T (2005) Reduced olfactory bulb volume in post-traumatic and post-infectious olfactory dysfunction. *Neuroreport*, 16(5), 475–478.

Murphy C, Schubert CR, Cruickshanks KJ, Klein BE, Klein R, Nondahl DM (2002) Prevalence of olfactory impairment in older adults. *Jama*, 288(18), 2307–2312.

Naessen R (1971) An enquiry on the morphological characteristics and possible changes with age in the olfactory region of man. *Acta oto-laryngologica*, 71(1-6), 49–62.

Najbauer J, Leon M (1995) Olfactory experience modulates apoptosis in the developing olfactory bulb. *Brain research*, 674(2), 245–251.

Nakashima T, Kimmelman CP, Snow JB (1984) Structure of human fetal and adult olfactory neuroepithelium. *Archives of otolaryngology*, 110(10), 641–646.

Negoias S, Pietsch K, Hummel T (2016) Changes in olfactory bulb volume following lateralized olfactory training. *Brain imaging and behavior*, 1–8.

Negoias S, Aszmann O, Croy I, Hummel T (2013) Localization of odors can be learned. *Chemical senses*, 38(7), 553–562.

Netter FH, Hansen JT, Olah AJ, Müller O (2006) *Atlas der Anatomie des Menschen*. ICON Learning Systems.

Nishimura K, Utsumi K, Yuhara M, Fujitani Y, Iritani A (1989) Identification of puberty-accelerating pheromones in male mouse urine. *Journal of experimental zoology*, 251(3), 300–305.

Nissant A, Bardy C, Katagiri H, Murray K, Lledo PM (2009) Adult neurogenesis promotes synaptic plasticity in the olfactory bulb. *Nature neuroscience*, 12(6), 728–730.

Olender T, Waszak SM, Viavant M, Khen M, Ben-Asher E, Reyes A, Nativ N, Wysocki CJ, Ge D, Lancet D (2012) Personal receptor repertoires: olfaction as a model. *Bmc genomics*, 13(1), 414.

Paik SI, Lehman MN, Seiden AM, Duncan HJ, Smith DV (1992) Human olfactory biopsy: the influence of age and receptor distribution. *Archives of otolaryngology–head & neck surgery*, 118(7), 731–738.

Palmer TD, Markakis EA, Willhoite AR, Safar F, Gage FH (1999) Fibroblast growth factor-2 activates a latent neurogenic program in neural stem cells from diverse regions of the adult cns. *the journal of neuroscience*, 19(19), 8487–8497.

Pape HC (2010) *Physiologie*. Georg Thieme Verlag.

Pause BM, Rogalski KP, Sojka B, Ferstl R (1999) Sensitivity to androstenone in female subjects is associated with an altered brain response to male body odor. *Physiology & behavior*, 68(1), 129–137.

Pelosi P (2001) The role of perireceptor events in vertebrate olfaction. *Cellular and molecular life sciences cmls*, 58(4), 503–509.

Pevsner J, Sklar PB, Snyder SH (1986) Odorant-binding protein: localization to nasal glands and secretions. *Proceedings of the national academy of sciences*, 83(13), 4942–4946.

Puschmann L (2013) *Wahrnehmung von großen und kleinen Duftmolekülen - eine Studie zur Untersuchung der Riechwahrnehmung in Abhängigkeit von Lebensalter und Duftmolekülgröße*. Technische Universität, Medizinische Fakultät Dresden, Dissertation.

Rawson NE (2006) Olfactory loss in aging. *Science's sage ke*, 2006(5), pe6.

Ressler KJ, Sullivan S L, Buck LB (1993) A zonal organization of odorant receptor gene expression in the olfactory epithelium. *Cell*, 73(3), 597–609.

Rinaldi A (2007) The scent of life. *Embo reports*, 8(7), 629–633.

Rombaux P, Mouraux A, Bertrand B, Nicolas G, Duprez T, Hummel T (2006) Olfactory function and olfactory bulb volume in patients with postinfectious olfactory loss. *The laryngoscope*, 116(3), 436–439.

Ronnett GV, Moon C (2002) G proteins and olfactory signal transduction. *Annual review of physiology*, 64(1), 189–222.

Saberi M, Seyed-allaei H (2015) Olfactory receptors are sensitive to molecular volume of odorants. *bioRxiv*, 013516.

Saito H, Chi Q, Zhuang H, Matsunami H, Mainland JD (2009) Odor coding by a mammalian receptor repertoire. *Science signaling*, 2(60), ra9.

Sakamoto N, Pearson J, Shinoda K, Alheid GF, De Olmos JS, Heimer L (1999) The human basal forebrain. part i. an overview. *Handbook of chemical neuroanatomy*, 15, 1–13.

Schmidt RF, Lang F, Heckmann M (2007) *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie*. Springer-Verlag.

Schünke M (2009) *Prometheus-Lernatlas der Anatomie: Kopf, Hals und Neuroanatomie*; 115 Tabellen. Georg Thieme Verlag.

Sell CS (2006) On the unpredictability of odor. *Angewandte Chemie international edition*, 45(38), 6254–6261.

Smith, CG (1942) Age incidence of atrophy of olfactory nerves in man. a contribution to the study of the process of ageing. *Journal of comparative neurology*, 77(3), 589–595.

Sobel N, Khan RM, Saltman A, Sullivan EV, Gabrieli JDE (1999) Olfaction: the world smells different to each nostril. *Nature*, 402(6757), 35–35.

Sosinsky A, Glusman G, Lancet D (2000) The genomic structure of human olfactory receptor genes. *Genomics*, 70(1), 49–61.

Spehr M, Gisselmann G, Poplawski A, Riffell JA, Wetzel CH, Zimmer RK, Hatt H (2003) Identification of a testicular odorant receptor mediating human sperm chemotaxis. *Science*, 299(5615), 2054–2058.

Spiegel R (2005) World medical association declaration of Helsinki. *Psychopharmacology: An introduction*, fourth edition, 325–330.

Steinbrecht RA (1998) Odorant-binding proteins: Expression and function. *Annals of the New York academy of sciences*, 855(1), 323–332.

Tegoni M, Pelosi P, Vincent F, Spinelli S, Campanacci V, Grolli S, Ramoni R, Cambillau C (2000) Mammalian odorant binding proteins. *Biochimica et biophysica acta (bba)-protein structure and molecular enzymology*, 1482(1), 229–240.

Triller A, Boulden EA, Churchill A, Hatt H, Englund J, Spehr M, Sell CS (2008) Odorant–receptor interactions and odor percept: a chemical perspective. *Chemistry & Biodiversity*, 5(6), 862–886.

Turetsky BI, Moberg PJ, Yousem DM, Doty RL, Arnold SE, Gur RE (2000) Reduced olfactory bulb volume in patients with schizophrenia. *157*, 828–830.

Turin L (1996) A spectroscopic mechanism for primary olfactory reception. *Chemical senses*, 21(6), 773–791.

Van Toller C, Kirk-Smith M, Wood N, Lombard J, Dodd GH (1983) Skin conductance and subjective assessments associated with the odour of 5- α -androstane-3-one. *Biological psychology*, 16(1), 85–107.

Vennemann MM, Hummel T, Berger K (2008) The association between smoking and smell and taste impairment in the general population. *Journal of Neurology*, 255(8), 1121–1126.

Venstrom D, Amoore JE (1968) Olfactory threshold, in relation to age, sex or smoking. *Journal of Food Science*, 33(3), 264–265.

Vent J, Robinson AM, Gentry-Nielsen MJ, Conley DB, Hallworth R, Leopold DA, Kern RC (2004) Pathology of the olfactory epithelium: smoking and ethanol exposure. *The laryngoscope*, 114(8), 1383–1388.

Verbeurgt C, Wilkin F, Tarabichi M, Gregoire F, Dumont JE, Chatelain P (2014) Profiling of olfactory receptor gene expression in whole human olfactory mucosa. *Plos one*, 9(5), e96333.

Wallrabenstein I, Kuklan J, Weber L, Zborala S, Werner M, Altmüller J, Becker C, Schmidt A, Hatt H, Hummel T (2013) Human trace amine-associated receptor taar5 can be activated by trimethylamine. *Plos one*, 8(2), e54950.

Wang L, Chen L, Jacob T (2004) Evidence for peripheral plasticity in human odor response. *The journal of physiology*, 554(1), 236–244.

Wehner R, Gehring W, Gehring WJ (2007) *Zoologie*. Georg Thieme Verlag.

Weiler E, Farbman AI (1997) Proliferation in the rat olfactory epithelium: age-dependent changes. *The journal of neuroscience*, 17(10), 3610–3622.

Welge-Lüssen A (2008) Ageing, neurodegeneration, and olfactory and gustatory loss. *B-ent*, 5, 129–132.

Whissell-Buechy D (1973) Odour-blindness to musk: simple recessive inheritance. *Nature*, 242, 271–273.

Witt M, Hansen A (2009) *Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie und therapeutische Ansätze. strukturelle und funktionelle Grundlagen*. Georg Thieme Verlag.

Wysocki CJ, Beauchamp GK (1984) Ability to smell androstenone is genetically determined. *Proceedings of the national academy of sciences*, 81(15), 4899–4902.

Wysocki CJ, Whitney G, Tucker D (1977) Specific anosmia in the laboratory mouse. *Behavior genetics*, 7(2), 171–188.

Wysocki CJ, Dorries KM, Beauchamp GK (1989) Ability to perceive androstenone can be acquired by ostensibly anosmic people. *Proceedings of the national academy of sciences*, 86(20), 7976–7978.

Yee KK, Wysocki CJ (2001) Odorant exposure increases olfactory sensitivity: olfactory epithelium is implicated. *Physiology & Behavior*, 72(5), 705–711.

Young JM, Kambere M, Trask BJ, Lane RP (2005) Divergent v1r repertoires in five species: Amplification in rodents, decimation in primates, and a surprisingly small repertoire in dogs. *Genome research*, 15(2), 231–240.

Zeng X, Leyden JJ, Spielman AI, Preti G (1996) Analysis of characteristic human female axillary odors: qualitative comparison to males. *Journal of chemical ecology*, 22(2), 237–257.

Zhang X, De la Cruz O, Pinto JM, Nicolae D, Firestein S, Gilad Y (2007) Characterizing the expression of the human olfactory receptor gene family using a novel DNA microarray. *Genome biology*, 8(5), R86.

Zhuang H, Chien M, Matsunami H (2009) Dynamic functional evolution of an odorant receptor for sex-steroid-derived odors in primates. *Proceedings of the national academy of sciences*, 106(50), 21247–21251.

Zozulya S, Echeverri F, Nguyen T (2001) The human olfactory receptor repertoire. *Genome biology*, 2(6), 1–12.

Anhang

A. Anamnesebogen für Probanden

Datum:

Proband Nr:

Bitte kreuzen Sie das entsprechende Kästchen an. Etwaige Anmerkungen bitte am Rand eintragen.

• Allgemeine Angaben

Alter:..... Körpergröße:..... Körpergewicht:..... Geschlecht: männlich weiblich

Beruf: Schulbildung:

derzeit beschäftigt als:

• Vorgeschichte

Bestehen oder bestanden folgende **Krankheitsbilder**?

- häufige Erkältungen / Grippe / Schnupfen
- Unfall mit Kopfbeteiligung
- häufige Nasennebenhöhlenentzündungen
- Nasenpolypen
- Heuschnupfen
- behinderte Nasenatmung
- Kopfschmerzen
- Nerven- / Hirnerkrankung (Epilepsie)
- Gelbsucht / Leberentzündung (Hepatitis)
- Zuckerkrankheit (Diabetes mellitus)
- Schilddrüsen**über**funktion (Hyperthyreose)
- Andere

Nehmen Sie derzeit **Medikamente** ein?

- keine Medikamente
- folgende Medikamente: Dosierung
- Dosierung
- Dosierung

Frauen: Besteht eine Schwangerschaft? nein ja (Monat?):

Trinken Sie **Alkohol**? nein, gar nicht gelegentlich regelmäßig

Rauchen Sie? nein, noch nie
 nein, nicht mehr seit (Jahr)
 ja, seit (Jahr)

• Riechen

Wie beurteilen Sie Ihr **Riechvermögen**?

	gesamt	linke Seite	rechte Seite
sehr gut-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
deutlich besser-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
etwas besser-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
normal-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
etwas schlechter-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
deutlich schlechter-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
sehr schlecht-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
keine Riechwahrnehmung-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Falls Sie kein normales Riechvermögen haben, **worauf führen Sie dies zurück?**

.....
.....

Wie beurteilen Sie Ihre **Nasena**tmung?

	gesamt	linke Seite	rechte Seite
sehr gut-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
deutlich besser-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
etwas besser-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
normal-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
etwas schlechter-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
deutlich schlechter-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
sehr schlecht-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
total verstopft-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

• **Schmecken**

Wie beurteilen Sie Ihr **Schmeckvermögen**?

	gesamt	linke Seite	rechte Seite
sehr gut-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
deutlich besser-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
etwas besser-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
normal-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
etwas schlechter-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
deutlich schlechter-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
sehr schlecht-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
keine Schmeckwahrnehmung-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Falls Sie kein normales Schmeckvermögen haben, **worauf führen Sie dies zurück**?

.....
.....

Ich trage:

keinen Zahnersatz eine Brücke ein Teilgebiss ein Vollgebiss

Meine **Speichelbildung** ist:

stark erhöht leicht erhöht normal etwas verringert deutlich verringert

1	<input type="checkbox"/> Orange	<input type="checkbox"/> Brombeere	<input type="checkbox"/> Erdbeere	<input type="checkbox"/> Ananas
2	<input type="checkbox"/> Rauch	<input type="checkbox"/> Schuhleder	<input type="checkbox"/> Klebstoff	<input type="checkbox"/> Gras
3	<input type="checkbox"/> Honig	<input type="checkbox"/> Vanille	<input type="checkbox"/> Zimt	<input type="checkbox"/> Schokolade
4	<input type="checkbox"/> Schnittlauch	<input type="checkbox"/> Zwiebel	<input type="checkbox"/> Fichte	<input type="checkbox"/> Pfefferminz

C. Vorlage für Schwellen - und Identifikationstest

Riechtest - SDI

Sniffin' Sticks

Datum: ___/___/___ Uhrzeit: ___:___ Untersucher: _____

Name: _____ Vorname: _____

Geb.-Dat.: ___/___/___ Geschlecht: m | w

SNIFFIN' STICKS - SCHWELLE (beidseitige Testung)

Ergebnis: _____

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

5	<input type="checkbox"/> Kokos	<input type="checkbox"/> Kirsche	<input type="checkbox"/> Walnuss	<input type="checkbox"/> Banane
6	<input type="checkbox"/> Pfirsich	<input type="checkbox"/> Apfel	<input type="checkbox"/> Zitrone	<input type="checkbox"/> Grapefruit
7	<input type="checkbox"/> Gummibär	<input type="checkbox"/> Lakritz	<input type="checkbox"/> Kaugummi	<input type="checkbox"/> Kekse
8	<input type="checkbox"/> Zigarette	<input type="checkbox"/> Kaffee	<input type="checkbox"/> Wein	<input type="checkbox"/> Kerzenrauch
9	<input type="checkbox"/> Senf	<input type="checkbox"/> Pfeffer	<input type="checkbox"/> Zimt	<input type="checkbox"/> Gewürznelke
10	<input type="checkbox"/> Birne	<input type="checkbox"/> Pflaume	<input type="checkbox"/> Pfirsich	<input type="checkbox"/> Ananas
11	<input type="checkbox"/> Kamille	<input type="checkbox"/> Himbeere	<input type="checkbox"/> Rose	<input type="checkbox"/> Kirsche
12	<input type="checkbox"/> Fisch	<input type="checkbox"/> Brot	<input type="checkbox"/> Käse	<input type="checkbox"/> Schinken

SNIFFIN' STICKS – ERKENNUNG (beidseitige Testung)

D. Tabelle: Screening- und Recallschwellen

Probandennummer	Screening		Recall	
	IVA	AN	IVA	AN
5	4,25	3	9,75	6,5
6	2,5	3,5	9,5	4,5
10		3,75		4,5
12		3,25		5,25
17		3,5		n.m.
18		3,5		6,5
19		3		9,5
32		3		10
35		3		10
40		3		3
50		3		4,5
57		3,5		5,75
60		3		9,75
61		3		n.m.
62		3		7,5
65		3,5		n.m.
66		3		9,75
74		3		6,5
79		3		6,5
82		3		n.m.
113		3,5		3,25
138		3		7
160	1,5		10	
Mittelwert	2,75	3,182	9,75	6,681
SD	1,39	0,258	0,25	2,329
SE	0,29	0,054	0,052	0,486

Tab.: Androstenon, Isovaleriansäure (IVA) und Trimethylamin (TMA) Screening- und Recallschwellenwerte im Vergleich (N=23); n.m. steht für Probandentestung nach erfolgtem 3-monatigem Riechtraining nicht möglich, SD (Standardabweichung), SE (Standardfehler des Mittelwertes), Probanden 5 und 6 trainierten sowohl mit Androstenon als auch mit IVA

E. Riechschwellen Androstenon, IVA und TMA Vergleich

Raucher/Nichtraucher

	N	Min	Max	MW	SD	SE	Median
Androstenon							
Raucher	22	3	10	7,333	2,706	0,203	7,5
Nichtraucher	155	3	10	7,098	2,86	0,215	7,5
gesamt	177	3	10	7,126	2,836	0,213	7,5
IVA							
Raucher	22	4,5	10	8,56	2,124	0,16	10
Nichtraucher	155	1,5	10	8,732	2,019	0,152	10
gesamt	177	1,5	10	8,712	2,027	0,152	10
TMA							
Raucher	22	5	10	9,06	1,275	0,096	9,75
Nichtraucher	155	1	10	8,998	1,384	0,104	9,625
gesamt	177	1	10	9,006	1,369	0,103	9,75

F. Riechschwellen Androstenon, IVA und TMA Vergleich Männer/Frauen

	N	Min	Max	MW	SD	SE	Median
Androstenon							
Frauen	46	3	10	7,17	2,88	0,251	7,5
Männer	131	3	10	6,995	2,745	0,206	7,25
gesamt	177	3	10	7,126	2,836	0,213	7,5
IVA							
Frauen	131	2,5	10	8,62	2,0	0,175	10
Männer	46	1,5	10	8,962	2,096	0,158	10
gesamt	177	1,5	10	8,712	2,027	0,152	10
TMA							
Frauen	131	1	10	8,93	1,43	0,125	9,5
Männer	46	1	10	9,223	1,155	0,087	9,75
gesamt	177	1	10	9,006	1,369	0,103	9,75

Tabellenverzeichnis

Tab.1: Beispiel einer Schwellentestung; Die Ziffern 1 bis 10 geben die Duftstoffkonzentration ($1:10^1 - 1:10^{10}$) an; die Pfeile zeigen dem Untersucher an, ob jeweils eine höhere oder niedrigere Konzentration jeweils notwendig ist. Wendepunkte sind mit roten Kreisen markiert, der Startpunkt ist grau hinterlegt; „x“ bedeutet Flasche mit Teststoff erkannt, „-“ nicht erkannt.	27
Tab.2: Probandenübersicht.....	31
Tab.3: Vergleich der Screening- und Recallschwellen von Androstenon (AN) und Isovaleriansäure (IVS) zwischen Männern (m) und Frauen (w); Abgebildet wurden Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) sowie die Ergebnisse des t-Test. SD von Recall IVS männlich konnte nicht angegeben werden, da nur ein Wert vorliegt. .. * $p < 0,05$	39
Tab.4: Vergleich des Trainingseffektes bei Isovaleriansäure (IVS) und Androstenon (AN) zwischen Männern (m) und Frauen (w); Abgebildet wurden Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) sowie die Ergebnisse des t-Tests. Der Trainingseffekt wurde als Differenz zwischen Ausgangs- und Endwert (Screeningschwelle – Recallschwelle) dargestellt. SD von Trainingseffekt IVS männlich konnte nicht angegeben werden, da nur ein Wert vorlag. * $p < 0,05$	40
Tab.5: Screening- und Recallschwellen sowie Trainingseffekt von Androstenon (AN), Isovaleriansäure (IVS) und Trimethylamin (TMA) im Vergleich Männern (m) und Frauen (w); Abgebildet wurden Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) sowie die Ergebnisse des t-Test. Bei $n < 2$ konnte kein SD errechnet werden und bei $n = 0$ war eine Auswertung per t-Test nicht möglich.....	41
Tab.6: Altersverteilung Probanden mit und ohne spezifischer Anosmie im Vergleich; Abgebildet wurden Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) sowie die Ergebnisse des t-Tests.....	42

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Histologischer Querschnitt durch das Septum nasi mit Darstellung des respiratorischen und olfaktorischen Epithels; das Riechepithel ist deutlich höher als das respiratorische (Abbildung von: Institut für Anatomie und Zellbiologie, Abteilung für Molekulare Neurowissenschaft Philipps Universität Marburg (Bette et al., o. Jahr)	9
Abb. 2: Lage des Bulbus olfactorius mit Fila olfactoria; sagittaler Schnitt durch die Nase; modifizierte Abbildung aus: Atlas der Anatomie des Menschen (Netter et al. 2006).	11
Abb. 3 a) Bindungsstelle Volumen b) Bindungsstelle Flexibilität: jeder Rezeptor hat ein bevorzugtes Molekularvolumen, aber zugleich auch eine gewisse Flexibilität; modifizierte Abbildung aus: Olfactory receptors are sensitive to molecular volume of odorants (Saberri & Seyed-allaei 2015).	14
Abb. 4: olfaktorische Signalübertragung; durch ein G-Protein und die Adenylylcyclase werden Kationenkanäle geöffnet; abgeänderte Abbildung nach: Physiologie (Draguhn 2010).	15
Abb. 6: Strukturformel Androstenon.....	23
Abb. 7: Strukturformel Trimethylamin.....	24
Abb. 8: Strukturformel Isovaleriansäure	24
Abb. 9: Identifikationstest; bestehend aus 12 „Sniffin‘ Sticks“	26
Abb. 10: Isohelix DNA-Swab.....	28
Abb. 11: Flussdiagramm Untersuchungsablauf.....	29
Abb. 12: Verteilung spezifische Anosmie; Dargestellt wurden die Anzahl der Probanden mit spezifischer Anosmie und die prozentuale Verteilung unter den Gesamtteilnehmern	32

Abb. 13: Verteilung der Riechschwellen von Androstenon; N=177, * zeigt den Median an. .33	33
Abb. 14: Verteilung der Riechschwellen von Isovaleriansäure; N=177, * zeigt den Median an.	34
Abb. 15: Verteilung der Riechschwellen von Trimethylamin; N=177, * zeigt den Median an.	35
Abb. 16: Gesamtverteilung spezifische Anosmie; N=177, darunter insgesamt 46 Probanden mitspezifischer Anosmie, Androstenon 24,86% (44 Probanden), Isovaleriansäure (IVS)	36
Abb. 17: Riechschwellen für IVS und Androstenon, Vergleich Screening und Recall; Dargestellt wurden die Mittelwerte (Balken) und Standardfehler (Fehlerindikator) der Schwellenwerte, erhoben während des Screenings und Recalls, im Vergleich. IVS (n=5), Androstenon (n=18).....	37
Abb. 18: Schwellenwerte Screening Androstenon, Isovaleriansäure (IVS) und Trimethylamin (TMA) Geschlechtervergleich; Männer n = 46, Frauen n = 131; Boxplot: Die in der Box befindliche Linie stellt den Median dar. Die Zeichen unterhalb einer Box stehen für die Probanden, deren Werte als Ausreißer zu deuten sind.	38
Abb. 19: Schwellenwerte Screening Androstenon, Isovaleriansäure (IVS) und Trimethylamin (TMA) Vergleich Raucher und Nichtraucher; Raucher: n = 19, Nichtraucher n = 158; Boxplot: Die in der Box befindliche Linie stellt den Median dar. Die Zeichen unterhalb einer Box stehen für die Probanden, deren Werte als Ausreißer zu deuten sind.....	40
Abb.20: Q-Q Plot zur Untersuchung des Zusammenhanges von Einzelnukleotidpolymorphismen (SNP) und dem Vorkommen spezifischer Anosmien; Verglichen wurden die vermuteten und tatsächlich festgestellten p-Werte, die ermittelt wurden, um den Zusammenhang des Vorhandenseins einer SNP in einem Riechrezeptorgen und des Auftretens einer spezifischen Anosmie bezüglich Isovaleriansäure zu untersuchen. Keiner der gefundenen Zusammenhänge konnte als signifikant nachgewiesen werden; Abbildung aus: Dissertationsschrift (Kuklan 2014).....	44

Abb.21: Trimethylamin (TMA) und Dimethylethylamin (DMEA) fungieren konzentrationsabhängig und hochspezifisch als Agonisten des Rezeptors hTAAR5; auf der x-Achse wurde die Konzentration der Duftstoffe TMA und DMEA in μM und auf der y-Achse die Aktivität des Reportergens Luciferase während des Riechrezeptorscreenings abgebildet. Die Wahrnehmungsschwelle für TMA war $1 \mu\text{M}$ (* $p < 0,05$) und für DMEA $30 \mu\text{M}$ (* $p < 0,05$); Abbildung aus: Dissertationsschrift (Wallrabenstein et al. 2013).....45