

Abschlussbericht zum Vorhaben

„Anwendung der dynamischen Olfak-
tometrie
für MRT-Untersuchungen
von Reizstoffwirkungen“ (FP 365)

Laufzeit

1.1.2014 bis 31.12.2016

Bericht vom 20.04.2017

Prof. Boris Suchan, Dr. Patrick Schulze

Institut für Kognitive Neurowissenschaft, Abteilung Neuropsychologie, GAFO 05/613

Prof. Martin Tegenthoff, Dr. Stefanie Heba

Neurologische Klinik, Berufsgenossenschaftliches Universitätsklinikum Bergmannsheil

Prof. Thomas Brüning, Prof. Jürgen Bünger, Dr. Kirsten Sucker

*Institut für Prävention und Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung
- Institut der Ruhr-Universität Bochum (IPA)*

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung deutsch	3
Kurzfassung englisch.....	4
1. Problemstellung	5
2. Forschungszweck/-ziel.....	7
3. Methodik	9
4. Ergebnisse des Gesamtvorhabens	14
Arbeitspaket 1 „MRT-Olfaktometer“	14
Arbeitspaket 2 „Rekrutierung der Versuchspersonen“ (IPA)	15
Arbeitspaket 3 „Geruchsstoffe“ (RUB)	17
Arbeitspaket 4 „MRT Untersuchungen“ (RUB).....	20
Arbeitspaket 5 „Konnektivität & Spektroskopie“ (Bergmannsheil).....	24
5. Veröffentlichungen, Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte von nicht am Vorhaben beteiligten Forschungsstellen.....	38
6. Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks/-ziels, Schlussfolgerungen	39
7. Aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan	40
8. Anhang	42

Kurzfassung deutsch

Mit funktionellen, bildgebenden Verfahren kann man „dem arbeitenden Menschen beim Denken zuschauen“. Es wird z. B. sichtbar, wie das „Denken“ durch die Sinneswahrnehmung von Geruchs- und Reizstoffen beeinflusst wird. Mit dem Bau eines Olfaktometers, das erstmalig eine präzise quantitative Exposition in Verbindung mit der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) erlaubt, steht der DGUV nun eine weitere Humanuntersuchungsmethode für die Reizstoffforschung zur Verfügung. Hiermit lassen sich Erkenntnisse über den Übergang von rein geruchlichen zu sensorischen Reizeffekten gewinnen, die für die Bewertung der Adversität und damit für die Einschätzung der gesundheitlichen Relevanz von Gefahrstoffen im Niedrigdosisbereich bedeutsam sind. Zudem ist es möglich, suszeptible Personengruppen zu identifizieren und das Zusammenwirken von Arbeitsbelastungen (z.B. Gestank und Stress) zu untersuchen. Über erste Ergebnisse mit der Anwendung dieser Untersuchungsmethode wird nachfolgend berichtet.

Insgesamt nahmen 26 gesunde Nichtraucher (50% Frauen) im Alter von 19 bis 34 Jahren an der Studie teil, darunter 12 sensorisch hyperreaktive Personen. Die Ergebnisse der fMRT-Untersuchungen mit Benzaldehyd (angenehmer Geruch nach Marzipan) zeigen, dass mit zunehmender Geruchsstoffkonzentration bis zur individuellen Geruchsschwelle Aktivierungen in den typischen, für die Geruchsverarbeitung zuständigen Gehirnregionen erkennbar sind. Steigt die Geruchsstoffkonzentration weiter an bis zur individuellen Irritationsschwelle, so ist zusätzlich eine Aktivierung im Thalamus erkennbar, was auf die Beteiligung von schmerzverarbeitenden Zentren hinweist. Damit bestätigen diese ersten Ergebnisse die Hypothese, dass mit zunehmender Stoffkonzentration zunächst die entsprechenden olfaktorischen, dann die trigeminalen Gehirnareale aktiviert werden, jeweils bevor eine bewusste Geruchs- bzw. Reizwahrnehmung erfolgt.

Bei der Bearbeitung von Arbeitsgedächtnisaufgaben ohne Geruch ist das erwartete, typische Aktivierungsmuster in den entsprechenden Hirnarealen erkennbar. Wird gleichzeitig Benzaldehyd dargeboten, kommt es zu einer Reduktion dieser Aktivierung. Hier zeigt sich der postulierte Distractionseffekt: während die Aktivierung in den Gerüche und Reize verarbeitenden Gehirnarealen ansteigt, sinkt die Aktivierung in den Regionen, die mit der Aufgabenbearbeitung assoziiert sind. Allerdings zeigte sich der Distractionseffekt nicht auf der Verhaltensebene: mit zunehmender Geruchsstoffkonzentration war bis zum dargebotenen Maximum keine Leistungsbeeinträchtigung erkennbar.

Suszeptible Personen, hier mit sensorischer Atemwegshyperreaktivität („Capsaicinsensitive“), weisen eine erhöhte Schmerzsensitivität und eine erniedrigte mechanische Schmerzschwelle auf. Auch auf neuronaler Ebene zeigen sich Veränderungen in den Verbindungen zwischen dem olfaktorischen Kortex und dem Default-Mode Netzwerk. Vergleichbare Mechanismen treten bei chronischen Schmerzpatienten auf, wie z.B. bei Patienten mit Fibromyalgie oder mit Schmerzen im unteren Rückenbereich. Hier zeigt sich im Ansatz ein zentraler Wirkungsmechanismus, der auch beim chronischen Schmerzsyndrom erkennbar, dort jedoch um ein Vielfaches stärker ausgeprägt ist. Die bisherigen Ergebnisse deuten darauf hin, dass auch bei gesunden Personen suszeptible Untergruppen mit erhöhter Sensitivität für Geruchs- und Reizstoffe abgegrenzt werden können, die auch bei anderen Wahrnehmungsmodalitäten Einbußen aufweisen.

Kurzfassung englisch

Functional imaging techniques enable us to observe „the working man while thinking“. It is possible to illustrate how cognition is affected by processing of odors and also irritants. The development of an olfactometer which, for the first time, allows a precise quantitative exposure within the environment of a functional magnetic resonance imaging scanner provides a new tool for irritant research in humans for the DGUV. It further allows investigating the transition from pure odoriferous to sensory stimulus effects. These measures are important for the rating of adversity and thus for the assessment of the health relevance of hazardous substances in the low dose range. It is also possible to identify susceptible groups of subjects and to examine the interaction of workloads (e.g., stench and stress). First results using the application of this new scientific tool are reported below.

26 healthy non-smokers (50% women) aged between 19 and 34 participated in the study, including 12 sensory airway-hyperreactive individuals. The results of the fMRI study using benzaldehyde (pleasant smell of marzipan) yield evidence that after increasing the concentration of the odoriferous substance up to the individual odor threshold is associated with activation of brain regions which are typically associated with odor processing.

After increasing the smell concentration up to the individual irritation threshold, activation in the thalamus is also recognizable, indicating the involvement of pain-processing areas in the brain. Thus, these results support the idea that, with an increasing concentration of substances, the corresponding olfactory, and trigeminal cerebral areas are activated before a conscious odor or irritation perception takes place.

During performance of a working memory task without additional odors, the expected, typical activation pattern is recognizable in the corresponding brain areas. If benzaldehyde is presented at the same time, this activation is reduced. The postulated distracting effect could be demonstrated: while the activation increases in the odor and stimulus related brain areas, the activation decreases in the regions associated with the task processing. However, the distraction effect was not found on the behavioral level: as the concentration of the odoriferous substance increased, no impairment of work performance was observed up to the maximum concentration offered.

Susceptible persons, with sensory airway hyperreactivity ("capsaicin sensitive"), demonstrated increased pain sensitivity and a reduced mechanical pain threshold. Changes in the connections between the olfactory cortex and the default-mode network have been shown at the neural level. Similar mechanisms occur in chronic pain patients, e.g. n patients with fibromyalgia or low back pain.

Using this approach, a central mechanism of action could be shown, which is also recognizable, but more pronounced, in the chronic pain syndrome. The results so far indicate that a susceptible subgroup with an increased sensitivity to odor and irritants can also be distinguished in healthy persons, which also may have a negative impact on other perceptual modalities.

1. Problemstellung

Am Arbeitsplatz stellt die Reizung der oberen Atemwege und der Augen durch Gefahrstoffe eine der wichtigsten Gesundheitsgefährdungen dar. Von besonderer Bedeutung für die Festsetzung gesundheitsbasierter Grenzwerte für diese sogenannten „Stoffe mit lokalen Effekten“ sind belastbare Daten aus Studien am Menschen, und hier vor allem die Bewertung der gesundheitlichen Relevanz. Zur Unterscheidung von adaptiven und adversen Effekten werden stoffspezifische Daten benötigt, die Informationen zu Dosis-Wirkungsbeziehungen von der Geruchs- bis hin zur Irritationsschwelle und darüber hinaus beinhalten. Als adverse Effekte gelten „sensorische Irritationen“, d.h. über den Nervus trigeminus vermittelte Wirkungen (Arts et al., 2006). Geruchseffekte, auch wenn sie unangenehm und „belästigend“ sind, zählen bislang in Deutschland nicht zu den adversen Wirkungen, solange die Geruchsbelästigung nicht *unangemessen* (z.B. bei ekelerregendem Geruch) ist (DFG, 2013). Obwohl es schwierig ist, die Adversität von Geruchseffekten zu bewerten, sollte der Geruch als zusätzliche Stoffinformation berücksichtigt werden. Insbesondere in Situationen, in denen der Geruch eines Arbeitsstoffes vor seiner starken irritativen Wirkung warnt, kann die Gewöhnung an den Geruch als adverser Effekt gesehen werden (Paustenbach & Gaffney, 2005).

Trotzdem geraten Arbeitsstoffe mit einem besonders unangenehmen Geruch immer wieder in den Verdacht, die Gesundheit und auch die Arbeitsleistung zu beeinträchtigen. In den USA wurden von der Occupational Safety and Health Administration (OSHA) für die Stoffe Isopropylether, Phenylether und Vinyltoluol Arbeitsplatzgrenzwerte aufgrund des „widerwärtigen“ Geruchs festgelegt. Grundlage für die Festlegung waren Berichte über gesundheitliche Beschwerden und die Hypothese, dass starke Gerüche von der Arbeitsaufgabe ablenken (Distractionseffekt) und damit ein Sicherheitsrisiko darstellen können (Dalton & Jaen, 2010).

Durch das von der DGUV seit 2003 unterstützte Verbundprojekt „Abgrenzung und Differenzierung „irritativer“ und „belästigender“ Effekte von Gefahrstoffen“ der Kooperationspartner Leibniz-Institut für Arbeitsforschung an der TU Dortmund (IfADo), Institut für Gefahrstoff-Forschung der BG RCI (IGF) und dem IPA wurden wichtige Humandaten erzeugt, um die Bewertung der Adversität von lokalen Reizstoffen mit Verhaltenseffekten (z.B. Leistungsminderung durch Ablenkung) zu verknüpfen.

Mit der im Verbundprojekt genutzten Methode der experimentellen Expositionen als „Goldstandard“ zur Untersuchung chemosensorischer Effekte im Humanbereich wurden bislang Geruchs- und Reizeffekte für neun Arbeitsstoffe (Cyclohexylamin, Ethylacrylat, Essigsäure, Propionsäure, Acetaldehyd, Ethylacrylat, Methylmethacrylat, 2-Ethylhexanol, Schwe-

felwasserstoff) differenziert erfasst, qualitativ bewertet und deren Dosis-Wirkungsbeziehungen quantifiziert. In diesen aufwändigen, vierstündigen Untersuchungen im Expositionslabor an freiwilligen gesunden Personen wurden Methoden eingesetzt und weiterentwickelt, um unter anderem Interferenzeffekte unangemessener Geruchsbelästigungen auf kognitive Leistungen zu untersuchen.

Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass die Beeinträchtigung des kognitiven Leistungsvermögens möglicherweise weniger mit der Intensität, d.h. mit der Expositionshöhe des Arbeitsstoffes zusammenhängt, sondern vielmehr mit der subjektiven Bewertung des Geruchs, der als unangenehm und belästigend empfunden wird. Die im Verbundprojekt dazu untersuchten Stoffe sind: Ethylacetat (Kleinbeck et al., 2008), Propionsäure, (Hey et al., 2009), Acetaldehyd (Hey et al., 2009), Ethylacrylat (Hey et al., 2010) und Cyclohexylamin (Juran et al., 2012). Der Einfluss der hedonischen Bewertung (angenehm-unangenehm) auf die vermehrte Nennung von Gesundheitsbeschwerden konnte bereits im Zusammenhang mit Belästigung durch industrielle und landwirtschaftliche Gerüche in der Außenluft gezeigt werden (Sucker et al., 2006; 2008).

Um gezielt zu untersuchen, ob ein extrem unangenehmer Geruch zu Ablenkungseffekten führt, wurde Schwefelwasserstoff (H₂S) verwendet. Diese Studie lieferte jedoch nicht die erhofften Erkenntnisse, da H₂S als reiner Geruchsstoff keine Reizwirkung hat und eine schnelle Gewöhnung an den Geruch erfolgt. Die kognitiven Leistungen waren sowohl bei hoher (0-10 ppm) als auch bei niedriger (0-1 ppm) Exposition unverändert, sodass kein messbarer Geruchseffekt festzustellen war (Kleinbeck et al., 2010; Schäper et al., 2010).

Genau hier setzt das Forschungsprojekt an. In diesem wurde die Wirkung von Arbeitsstoffen, die sowohl eine Geruchs- als auch eine Reizkomponente haben, auf die Leistungsfähigkeit untersucht und unterschiedliche Einflussfaktoren, wie Anforderungsniveau (z.B. schwierige Aufgaben im Sinne einer Überforderung) und individuelle Empfindlichkeit (z.B. Sensorische Hyperreaktivität) berücksichtigt. So konnte das bisherige Wissen über die Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit am Arbeitsplatz durch Gefahrstoffe erweitert und in der Prävention bei entsprechenden Maßnahmen (z.B. Arbeitsplatzgestaltung, Information über Arbeitsstoffe) genutzt werden. Damit ergänzt das Projekt in hervorragender Weise die von der DGUV seit 2003 geförderten und im IPA und im IfADo durchgeführten Studien.

2. Forschungszweck/-ziel

Ziel des Forschungsprojektes war die Untersuchung der Expositions-Wirkungsbeziehung auf mögliche kognitive Leistungsminderung durch adverse Geruchs- und Reizstoffwirkungen in Abhängigkeit von aufsteigenden Stoffkonzentrationen, beginnend mit einer nicht subjektiv wahrnehmbaren Stoffkonzentration unterhalb der Geruchsschwelle, ansteigend bis zu Konzentrationen oberhalb der Irritationsschwelle, die als reizend an Augen und/oder Nase, „extrem“ unangenehm und „erheblich“ belästigend bewertet werden. Zur präzisen, quantitativen Darbietung der Stoffkonzentrationen im funktionellen Kernspintomographen (fMRT) wurde ein entsprechendes Flussolfaktometer entwickelt.

Bei den Untersuchungen wurden unterschiedliche Einflussfaktoren wie Anforderungsniveau (z.B. schwierige Aufgaben im Sinne einer Überforderung) und individuelle Empfindlichkeit (z.B. sensorische Hyperreaktivität) berücksichtigt und Methoden der funktionellen Bildgebung zur Identifikation und Charakterisierung susceptibler Personengruppen genutzt. Die Forschungsziele sollten durch eine modulare Forschungsstrategie und die intensive Kooperation mit der Abteilung für Neurologie am Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil Bochum und der ExpoLab-Gruppe am IPA in Bochum verfolgt werden. Bei der Zielerreichung orientierten wir uns an den folgenden Hypothesen:

- (1) Mit zunehmender Stoffkonzentration werden zunächst die entsprechenden olfaktorischen, dann die trigeminalen Gehirnareale aktiviert, jeweils bevor eine bewusste Geruchs- und Reizwahrnehmung erfolgt.
- (2) Die ablenkende Wirkung eines Reizstoffes auf das kognitive Leistungsvermögen ist bis zu einer bestimmten, individuell unterschiedlichen Expositionshöhe durch vermehrte Anstrengung kompensierbar. Bei einer Stoffkonzentration, die als „extrem“ unangenehm bzw. „erheblich“ belästigend eingestuft wird, ist dieser Distractionseffekt nicht mehr kompensierbar und es kommt zu einer deutlichen Verminderung der kognitiven Leistungsfähigkeit.
- (3) Wird die Anforderung an das kognitive Leistungsvermögen erhöht, d.h. erhöhte Aufgabenschwierigkeit im Sinne einer Überforderung der kognitiven Ressourcen, ist der Distractionseffekt schon bei einer niedrigeren Expositionshöhe nicht mehr kompensierbar. Unbekannt ist, in welchem Bereich diese Expositionskonzentration liegt. Sie kann beispielsweise oberhalb der „Belästigungsschwelle“ liegen, aber ebenso zwischen der Irritationsschwelle und der Belästigungsschwelle oder unterhalb der Irritationsschwelle.

- (4) Suszeptible Personen wie z.B. Personen mit Sensory Airway Hyperreactivity (SHR),
 - (a) zeigen im Vergleich zu Kontrollpersonen schon bei einer niedrigeren Stoffkonzentration eine deutlich verminderte kognitive Leistungsfähigkeit;
 - (b) weisen eine erhöhte Konnektivität des Salience-Netzwerks auf. Das Ausmaß der funktionellen Konnektivität innerhalb des Salience-Netzwerkes im Ruhezustand ist ein Prädiktor für die kognitive Leistungsfähigkeit bei Ablenkung durch einen Geruchs-/Reizstoff;
 - (c) weisen in der Inselregion erniedrigte Konzentrationen des hemmenden Neurotransmitters GABA auf als Hinweis auf eine lokale Steigerung der Erregbarkeit.

Zielgruppen

Mit dem Bau eines fMRT-tauglichen Olfaktometers, das erstmalig eine präzise, quantitative Stoffdarbietung erlaubte, steht der DGUV eine weitere Humanuntersuchungsmethode zur Verfügung, die im Kontext der aktuellen Diskussion zu „Stress am Arbeitsplatz“ wichtige Erkenntnisse für die Gefährdungsbeurteilung von Gefahrstoffen in Kombination mit psychischen Belastungen liefert. Durch die Mitgliedschaft der Projektpartner im „Research Departments for Neuroscience“ erhielt die DGUV Zugang zum Kompetenznetzwerk der systemischen Neurowissenschaften, bei der Grundlagenforschung und klinische Ansätze kombiniert werden. Die state-of-the-art Ausstattung ermöglicht nicht nur die Untersuchung der Mechanismen sensorischer Wahrnehmung, Lernen und Gedächtnis, sondern auch von Mechanismen und Therapien von Hirnpathologien, wie Alzheimer und Parkinson.

3. Methodik

Arbeitspaket 1: Bau und Erprobung eines MRT-tauglichen Olfaktometers (IPA/RUB)

Bereits im ersten Zwischenbericht wurde die Entwicklung des Olfaktometer-Prototypen beschrieben. Das Herzstück – ein speziell für das Projekt entwickelter Kalibriergasgenerator in Kombination mit einer Verdünnungseinheit (HovaCAL) – wurde im Februar 2014 bei der Firma IAS in Auftrag gegeben. Nach Auftragseingang stellte die Firma bei der Planung des Gerätes fest, dass durch die hohe Komplexität der technischen Anforderungen die Entwicklung von Software und Hardware (Elektronik) längere Zeit in Anspruch nimmt, als die ursprünglich geplanten vier Wochen. Somit wurde das Gerät erst am 22.07.2014 ausgeliefert. Eine zusätzliche zeitliche Verzögerung ergab sich durch den Defekt des Massenspektrometers mit chemischer Ionisation (CIMS), das zur Überprüfung der mit dem Olfaktometer erzeugten Stoffkonzentrationsstufen verwendet wurde. Das CIMS-Gerät stand Ende September 2014 wieder zur Verfügung, sodass die abschließenden Funktionstests mit dem Olfaktometer durchgeführt werden konnten. Aufgrund dieser Verschiebungen im Zeitablauf verzögerten sich auch die Arbeiten in den übrigen Arbeitspaketen, so dass die Erprobung des Olfaktometers im Kernspintomographen und außerhalb erst Anfang 2015 beginnen konnte.

Eine Verzögerung im Zeitplan ergab sich ebenfalls bei der Konstruktion und Testung der Ringleitung. Bei der ersten Testung fiel ein Druckaufbau bei der Schaltung zwischen den Ventilen auf. Dieser machte sich durch einen erhöhten Austrittsdruck an der Nasenmaske bemerkbar, der unangenehm für den Probanden war und auch die Stoffkonzentration beeinträchtigte. Zur Behebung dieses Problems musste sowohl die Konstruktion der Ringleitung als auch die Steuerungssoftware überarbeitet werden. Ein zusätzliches Problem zeigte sich bei fehlender Einatmung des Probanden. Da dann der stetige Luftfluss durch die Choane unterbrochen war, kam es zu einem Druckaufbau in der Nase, der zu einem erhöhten Druck auf das Trommelfell führte. Um ein Entweichen der Luft bei geschlossenen Choanen zu ermöglichen, wurden zusätzliche Überdruckventile in die Ringleitung eingebaut. Zum einen wurde die Belegung der Ventile so verändert, dass jeder Kanal über drei statt zwei Ventile verfügte und zusätzlich wurde ein Überdruckventil eingebaut. Zum anderen wurde die Ableitung der nicht verwendeten geruchsbeladenen Luft in die Abluft durch die Vergrößerung der Durchschnitte der Abluftkanäle erleichtert.

Bei der Erprobung des Olfaktometers mit Testpersonen im MRT fiel auf, dass die zunächst verwendete Nasenmaske - vor allem bei größeren Probanden - nicht gut unter die Kopfspule passte. Sie verursachte entweder ein unangenehmes Tragegefühl oder die Kopfspule ließ sich nicht schließen. Auf der Suche nach einer alternativen, deutlich kleineren Na-

senmaske ergab sich eine weitere zeitliche Verzögerung. Um eine lateralisierte Präsentation zu ermöglichen, d.h. eine Darbietung des Zielgeruchs in das eine Nasenloch und die Darbietung neutraler Luft in das andere, wurde ein CAD-Computermodell für das Inlett der Nasenmaske entwickelt, und mit Hilfe eines 3D-Druckers hergestellt. Der Prozess der Entwicklung dieses Inletts, d.h. Computermodell, Testung, Änderung, Testung, etc., hat entsprechend viel Zeit in Anspruch genommen.

Arbeitspaket 2: Rekrutierung der Versuchspersonen (IPA)

Im Verlauf der Rekrutierung zeigte sich, dass deutlich weniger männliche als weibliche Probanden an einer Studienteilnahme interessiert und männliche Probanden mit einer sensorischen Hyperreaktivität seltener zu finden waren. Daher wurden, anders als ursprünglich geplant, auch Probanden mit einer Atopie rekrutiert. Zudem meldeten sich überwiegend Studierende, sodass nur wenige Personen über 30 Jahren rekrutiert wurden.

Arbeitspaket 3: Geruchsstoffe - Ermittlung der Geruchs- und Irritationsschwellen (IPA/RUB)

Als Geruchsstoff mit einem angenehmen Geruch wurde Benzaldehyd ausgewählt und als Stoff mit einem unangenehm Geruch Methylmetacrylat (MMA). Der Versuchsaufbau für die Schwellenmessungen wurde zunächst für Benzaldehyd an 16 Personen (7 Männer, 9 Frauen, Alter 25 ± 2 Jahre) erprobt. Der Median der Geruchsschwellen lag bei 50 ± 40 ppb und deckt sich mit dem in der Literatur berichteten Wert von 45 ppb. Die Ermittlung einer Geruchsschwelle mit dem Olfaktometer außerhalb des MRT funktionierte.

Bei der Darbietung der Stoffe im MRT stellte sich jedoch heraus, dass die mit dem Olfaktometer außerhalb des MRT ermittelten Geruchsschwellen für Benzaldehyd und MMA in der MRT-Umgebung nicht replizierbar waren. Die Geruchsschwellen lagen deutlich höher und waren um einen individuellen Faktor nach oben verschoben. Das bedeutete, dass die Ermittlung der individuellen Geruchs- und Irritationsschwellen, sowie die Erfassung der individuellen Dosis-Wirkungskurven für Intensität, Hedonik und die Geruchsbelästigung inkl. einer Qualitätsbeschreibung mit der Methode der Polaritätenprofile in der MRT-Umgebung durchgeführt werden mussten und nicht, wie ursprünglich vorgesehen, außerhalb in einem Labor des IPA. Der komplette Versuchsaufbau für die Schwellenbestimmung musste entsprechend angepasst werden mit einer weiteren zeitlichen Verzögerung. Schließlich konnte die ursprünglich vorgesehene Untersuchung von MMA und einer Stoffmischung sowie die Ermittlung der individuellen Dosis-Wirkungskurven für Intensität, He-

donik und die Geruchsbelästigung inkl. einer Qualitätsbeschreibung mit der Methode der Polaritätenprofile aus zeitlichen Gründen nicht mehr durchgeführt werden.

Arbeitspaket 4: MRT-Untersuchungen (RUB)

Kurz nach dem Start der eigentlichen Datenerhebung im MRT (Januar 2016) wurde eine neue Scanner-Software durch die Firma Philips aufgespielt, die zu unterschiedlichen Problemen bei der Nutzung des MRT führte. Eine der Folgen war, dass die Daten von insgesamt sieben getesteten Personen nicht auswertbar waren und somit verloren gingen. Ein zusätzlicher Zeitverlust entstand außerdem durch die notwendige Programmierung einer Matlab-Routine zur Korrektur von Bewegungsartefakten.

Arbeitspaket 5: Konnektivität & Spektroskopie (BMH)

Von den zeitlichen Verzögerungen war indirekt auch die Datenerhebung im Arbeitspaket 5 betroffen, da hier dieselben Probanden wie in den übrigen Arbeitspaketen untersucht werden mussten. Eine zu starke zeitliche Trennung der Untersuchungstage hätte möglicherweise bei einigen Probanden zum Abbruch der Studie und damit zu einem Verlust vollständiger Datensätze geführt. Die Entwicklung und Erprobung der Untersuchungsroutine wurde in 2015 abgeschlossen. Die Datenerhebung begann Anfang 2016, parallel zur Datenerhebung im Arbeitspaket 3 (Schwellenermittlung) und Arbeitspaket 4 (MRT-Datenerhebung mit Geruch und Aufgaben).

Der geplante Arbeits- und Zeitablauf des Projektes ist in Tabelle 1 dargestellt. Die tatsächlichen, modifizierten Abläufe sind in Tabelle 2 dargestellt.

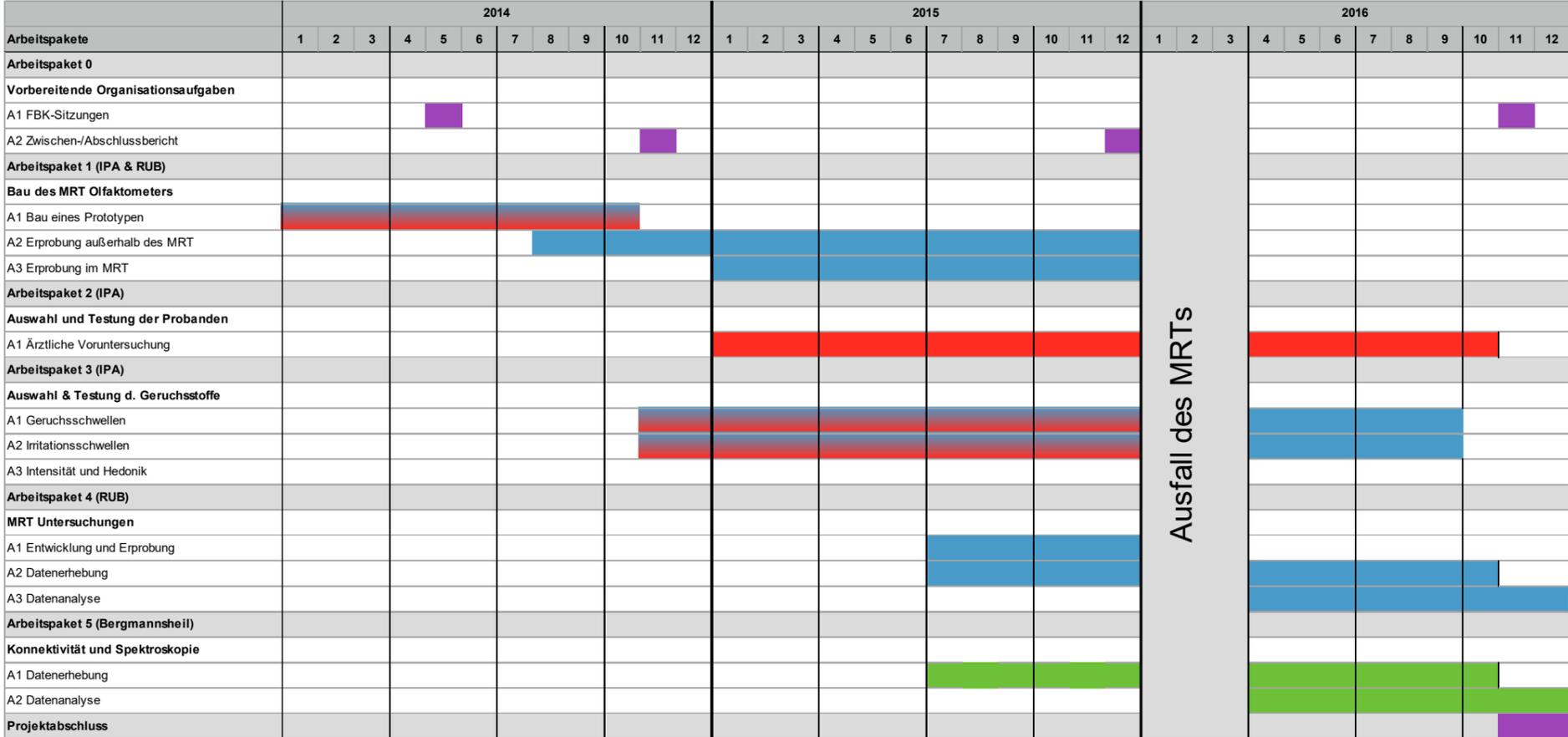
Tabelle 1: Darstellung der geplanten Arbeits- und Zeitabläufe

geplante Arbeits- und Zeitabläufe

Arbeitspakete	2014												2015												2016												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Arbeitspaket 0																																					
Vorbereitende Organisationsaufgaben																																					
A1 FBK-Sitzungen																																					
A2 Zwischen-/Abschlussbericht																																					
Arbeitspaket 1 (IPA & RUB)																																					
Bau des MRT Olfaktometers																																					
A1 Bau eines Prototypen																																					
A2 Erprobung außerhalb des MRT																																					
A3 Erprobung im MRT																																					
Arbeitspaket 2 (IPA)																																					
Auswahl und Testung der Probanden																																					
A1 Ärztliche Voruntersuchung																																					
Arbeitspaket 3 (IPA)																																					
Auswahl & Testung d. Geruchsstoffe																																					
A1 Geruchsschwellen																																					
A2 Irritationsschwellen																																					
A3 Intensität und Hedonik																																					
Arbeitspaket 4 (RUB)																																					
MRT Untersuchungen																																					
A1 Entwicklung und Erprobung																																					
A2 Datenerhebung																																					
A3 Datenanalyse																																					
Arbeitspaket 5 (Bergmannsheil)																																					
Konnektivität und Spektroskopie																																					
A1 Datenerhebung																																					
A2 Datenanalyse																																					
Projektabschluss																																					

Tabelle 2: Darstellung der tatsächlichen Arbeits- und Zeitabläufe

tatsächliche Arbeits- und Zeitabläufe



4. Ergebnisse des Gesamtvorhabens

Arbeitspaket 1 „MRT-Olfaktometer“

Der Bau des MRT-tauglichen Olfaktometers wurde bereits in den beiden Zwischenberichten beschrieben. Herzstück des Olfaktometers ist das *Erzeugermodul*, ein Kalibriergasgenerator kombiniert mit einer Verdünnungseinheit (kurz: HovaCal), mit dem die erforderlichen Konzentrationsstufen vom ppb-Bereich bis in den ppm-Bereich (Verdünnungsverhältnis ca. 1/1.000.000) präzise erzeugt werden können. Als Ausgangsstoffe kommen organische oder anorganische Substanzen mit einem Siedepunkt zwischen 60°C und 180°C in Frage, die als Flüssigkeit oder Gas vorliegen. Es können Gase als Einzelstoff oder als Mischungen aus bis zu drei Substanzen hergestellt werden, wobei Temperatur und Feuchtigkeit variierbar sind. Erzeugt wird ein konstanter Luftstrom ohne Luftstöße, wobei der Volumenstrom, die Reizdauer und das Intervall zwischen den Reizen einstellbar sind. Das Olfaktometer erfüllt die Voraussetzungen für die Nutzung im Kernspintomographen. Das Gas kann als Rechtecksignal dargeboten werden, d.h. kurze Anflutungszeiten mit einem schnellen Wechsel zwischen geruchsbeladener und neutraler Luft. Außerdem kann es zur Ermittlung von Irritationsschwellen eingesetzt werden, indem gleichzeitig in das eine Nasenloch geruchsbeladene Luft und in das andere Nasenloch neutrale Luft gegeben wird bzw. umgekehrt.

Mit dem *Verteilermodul*, das die Anforderungen für die Nutzung in einem MRT erfüllt, werden die erzeugten Konzentrationsstufen aus dem HovaCal, d.h. die olfaktorischen Reize (OLF), an die Nase des Studienteilnehmers gebracht. Das Magnetfeld des im Bergmannsheil verwendeten „Philips Achieva MRT“ beträgt 3 Tesla. Das bedeutet, dass die im MRT-Untersuchungsraum genutzten Geräte keine metallischen oder elektronischen Komponenten enthalten dürfen. Daher wird das *Erzeugermodul* im Kontrollraum des MRT betrieben und die erzeugten Gaskonzentrationen mit ca. 12 Meter langen Teflonschläuchen in den Untersuchungsraum transportiert. Um das bereits oben erwähnte Rechtecksignal zu erzeugen, wurden Ringleitungen entwickelt, die die geruchsbeladene Luft und die neutrale Luft aus bis kurz vor die Nase hin- und auch wieder abtransportieren. Über pneumatisch geschaltete Quetschventile wird zwischen der geruchsbeladenen und der neutralen Luft umgeschaltet. Die Quetschventile wurden eigens für diese Anwendung entwickelt und aus Kunststoff angefertigt. Die geruchsbeladene Luft wird in einem mit Aktivkohlefilter bestückten Abfallcontainer gesammelt. Zwischen den dargebotenen Reizen wird das *Verteilermodul* mit neutraler Luft aktiv gespült. Zum Verteilermodul gehört auch die Nasenmaske mit dem per 3D Drucker hergestellten Inlett.

Arbeitspaket 2 „Rekrutierung der Versuchspersonen“ (IPA)

Die Studienteilnehmerinnen und -teilnehmer wurden durch Aushänge an der Ruhr-Universität Bochum und Ankündigungen auf der Homepage der Ruhr-Universität Bochum und des IPA angeworben. Geplant war die Untersuchung der beiden Gruppen „nicht sensorisch Hyperreaktive“ und „sensorisch Hyperreaktive“ mit einem Stichprobenumfang von jeweils ca. 30 Männern und Frauen. Gesucht wurden gesunde Nichtraucher im Alter von 20 bis 40 Jahren. Die Ausschlusskriterien waren:

- fehlende Studieneinwilligung; schwangere und stillende Frauen
- manifeste Herz-Kreislauf- oder Atemwegserkrankungen
- stärkere Einschränkung des Seh- und/oder Hörvermögens
- psychiatrische Erkrankungen; Substanzmissbrauch
- Erkrankungen des Nasen-/Rachenraums (z.B. Sinusitis)
- Riechstörungen (Anosmie, Hyposmie)

Die medizinische Voruntersuchung stützte sich auf:

- eine ausführliche fragebogengestützte Anamnese (z.B. Erkrankungen, Allergie, Asthma) inkl. einer körperlichen Grunduntersuchung
- Prüfung des Raucherstatus mittels Bestimmung von Cotinin im Urin
- Bestimmung von sx_1 im Blut zur Erfassung des Atopiestatus
- Prüfung der Lungenfunktion mittels Bodyplethysmographie
- Metacholin-Provokationstest zur Erfassung der bronchialen Hyperreagibilität
- Sniffin-Sticks-Test zur Erfassung der Riechfähigkeit
- Capsaicin-Test zur Erfassung der sensorischen Hyperreaktivität

Während der Rekrutierungsphase in 2015 und 2016 füllten insgesamt 62 Probanden den Rekrutierungsfragebogen aus. Davon absolvierten 51 Personen eine medizinische Voruntersuchung. Die übrigen Personen waren nicht geeignet (Raucher, chronische Erkrankung) oder hatten im vorgesehenen Studienzeitraum keine Zeit. Tabelle 3 gibt einen Überblick über die Untersuchungsergebnisse der geeigneten Probanden. Alle Probanden waren gesunde Nichtraucher mit normaler Lungenfunktion und ohne bronchiale Hyperreagibilität. Um prüfen zu können, ob bestimmte Personengruppen empfindlicher auf Geruchs- und Reizstoffe reagieren als andere, wurden die folgenden Merkmale mittels Fragebogen erfasst:

- State-Trait-Angstinventar (STAI) zur Erfassung der „Ängstlichkeit“
- Geruchssensitivität (CGSS)
- Chemische Sensitivität (CSS)
- Sensorische Hyperreaktivität (CSS-SHR)

Tabelle 3: Geeignete Probanden - Ergebnisse der medizinischen Voruntersuchung.

	Männer n=13	Frauen n=13	Gesamt n=26
Alter (Jahre)			
Mittel ± SD	26,5 ± 3,3	24,1 ± 3,6	25,3 ± 3,6
Median; Min-Max	26; 21-34	24; 19-30	25,5; 19-34
BMI* (kg/m³)			
Mittel ± SD	24,2 ± 2,7	22,4 ± 3,0	23,3 ± 2,9
Median; Min-Max	23,3; 20-29	21,6; 18-30	22,6; 18-30
Hyposmiker** (SDI ≤ 30,5) n	4	3	7
Atopiker*** (s _{x1} 0,35 kU/L) n	10	5	15
Sensorisch hyperre- aktive**** (Capsaicin-Test ≤ 10) n	4 (n=12)	8	12

* BMI: Body Mass Index:

** Sniffin' Sticks-Test:

*** Sensibilisierung gegen ubiquitäre Inhalationsallergene (spezifischer IgE-Nachweis gegen eine Mischung aus ubiquitäre Inhalationsallergene) sIgE > 0,35 kU/L werden als positiv gewertet

**** Capsaicin-Test: sensorisch hyperreagibel, wenn maximal 8 von 12 möglichen Stufen erreicht

Tabelle 4 gibt einen Überblick über den Anteil „suszeptibler“ Personen.

Tabelle 4: Anteil „suszeptibler“ Personen.

	Männer n=13	Frauen n=13	Gesamt n=26
Ängstliche* (STAI)	3	3	6
Geruchssensitive** (CGSS)	1	1	2
Chemisch Sensitiv*** (CSS)	0	0	0
Sensorisch Hyperre- aktive**** (CSS-SHR)	0	0	0

* Definition Ängstlichkeit: pos. Abweichung von der Eichstichprobe (Laux et al., 1981)

** Definition Geruchssensitiv, wenn Gesamtscore ≥ 28 (♂) bzw. 32 (♀) (Bailer et al., 2006)

*** Definition chemisch sensitiv wenn Gesamtscore ≥ 28 (Nordin et al., 2004)

**** Definition Sensorisch Hyperreagibel, wenn Gesamtscore ≥ 43 (Nordin et al., 2013)

Arbeitspaket 3 „Geruchsstoffe“ (RUB)

A1 Geruchsschwellen

Zur Bestimmung der Geruchsschwellen wurde das im Rahmen des Projektes entwickelte und oben beschriebene Olfaktometer unter MRT-Bedingungen verwendet. Die Geruchsreize wurden in aufsteigender Konzentrationsfolge präsentiert, wobei im unterschwelligem, nicht wahrnehmbaren Bereich begonnen wurde. Geruchsreiz und Neutralluft wurden dann abwechselnd inhaliert. Ein sogenannter „Sniff“ dauerte ca. 3 Sekunden und zwischen den Sniffs lag eine Pause von ca. 30 Sekunden. Die Anzahl der Darbietungen lag zwischen 6 und 10 mit mindestens 20% Nullproben, um Ratetendenzen der Probanden zu mindern. Bei jedem Sniff musste der Proband entscheiden, ob er etwas gerochen hatte („Ja, es riecht“) oder nicht („Nein, es riecht nicht“). Das Abbruchkriterium wurde erreicht, wenn zwei aufeinanderfolgende Stoffkonzentrationen richtig erkannt wurden. Die Messung wurde dann beendet. Die Konzentration an der Geruchsschwelle berechnete sich aus der letzten nicht erkannten und der ersten erkannten Stoffkonzentration. Die Geruchsschwellen sind mit einer Spanne von 0,00003 ppm bis 2,9 ppm individuell sehr unterschiedlich. Die mittlere Geruchsschwelle lag bei 0,3 ppm. Abbildung 1 zeigt die Variation der individuellen Geruchsschwellen im Vergleich zur mittleren Geruchsschwelle.

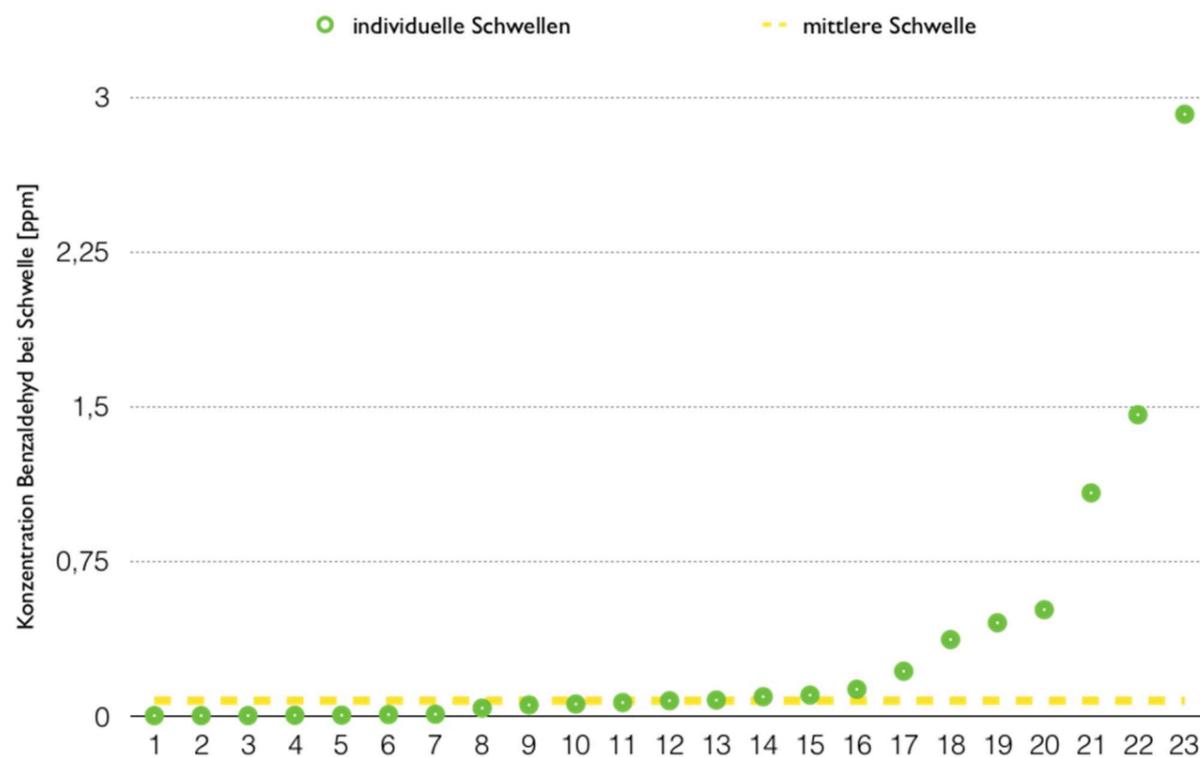


Abbildung 1: Darstellung der individuellen Geruchsschwellen im Vergleich zur mittleren Geruchsschwelle

Die Ergebnisse der MRT-Untersuchungen zeigen, dass mit ansteigender Geruchsstoffkonzentration bis unterhalb der individuellen Geruchsschwelle eine Aktivierung im erweiterten Geruchsnetzwerk zu erkennen ist (Abbildung 2). Die Funktionen der einzelnen Regionen des erweiterten Geruchsnetzwerkes beinhalten neben Arealen, die mit der Geruchsverarbeitung assoziiert sind (piriformer und orbitofrontaler Cortex), auch Areale des erweiterten Geruchsnetzwerkes, bestehend aus Insula und Hippocampus. Insula und Hippocampus sind mit Reizwahrnehmung und Gedächtnisprozessen assoziiert. Alle in Abbildung 2 dargestellten Aktivierungen haben eine statistische Schwelle von $p < 0.001$ (nicht korrigiert).

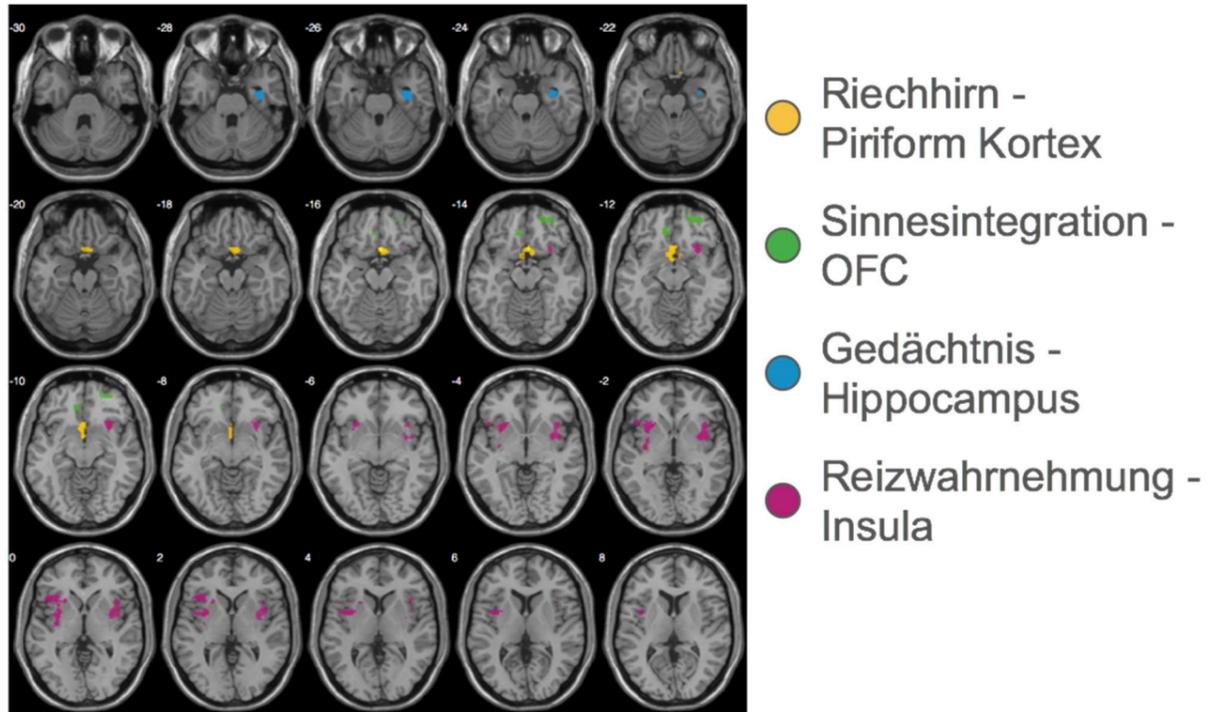


Abbildung 2: Aktivierungen im erweiterten Geruchsnetzwerk mit ansteigender Geruchsstoffkonzentration bis unterhalb der individuellen Geruchsschwelle

A2 Irritationsschwellen

Die Ermittlung der Irritationsschwelle basierte auf einer eindeutigen Stimulation intranasaler Rezeptoren des Nervus Trigeminus, deren Reizung – im Gegensatz zu olfaktorischen Rezeptoren – einem Nasenloch zugeordnet, d.h. lateralisiert werden kann (Kobal et al., 1989; Hummel, 2000). Daher spricht man auch von der Lateralisierungsschwelle.

Die Bestimmung der Irritationsschwelle erfolgte ebenfalls mit dem neu entwickelten Olfaktometer. Auch bei den Irritationsschwellen zeigten sich individuell sehr große Unterschiede. Die Schwellen lagen zwischen 0,8 ppm und 90 ppm) und im Mittel bei 27 ppm.

In Abbildung 3 wird die Variation der individuellen Irritationsschwellen im Vergleich zur mittleren Irritationsschwelle dargestellt.

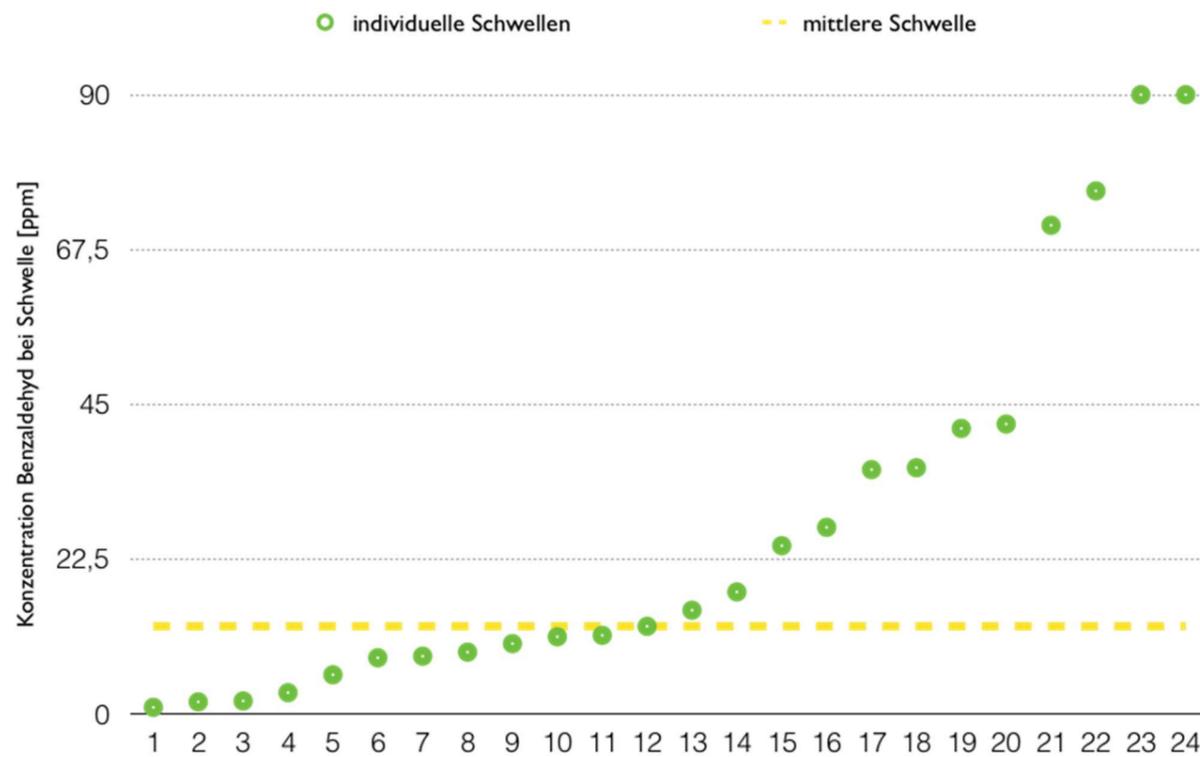


Abbildung 3: Darstellung der individuellen Irritationsschwellen im Vergleich zur mittleren Irritationsschwelle

Die Ergebnisse der MRT-Untersuchungen zeigen, dass mit ansteigender Geruchsstoffkonzentration bis unterhalb der individuellen Irritationsschwelle die Aktivierung im erweiterten Geruchsnetzwerk weiter zunimmt (Abbildung 4). Die Aktivierungen sind funktionell sowohl mit der Geruchsverarbeitung (piriformer Cortex), als auch mit der Reizverarbeitung (Insula) assoziiert. Zusätzlich ist eine ansteigende Aktivierung im Thalamus erkennbar, die mit der beginnenden Schmerzverarbeitung assoziiert ist. Außerdem sind Aktivierungen im Hippocampus zu sehen, der mit der Enkodierung und dem Abruf von Gedächtnisinhalten assoziiert ist. Die Aktivierungen im orbitofrontalen Cortex weisen auf eine Enkodierung der verarbeiteten Gerüche hin, sind aber auch mit der Integration verschiedener Sinneseindrücke (Riechen, Sehen, Hören) assoziiert. Alle in Abbildung 4 dargestellten Aktivierungen haben eine statistische Schwelle von $p < 0.001$ (nicht korrigiert).

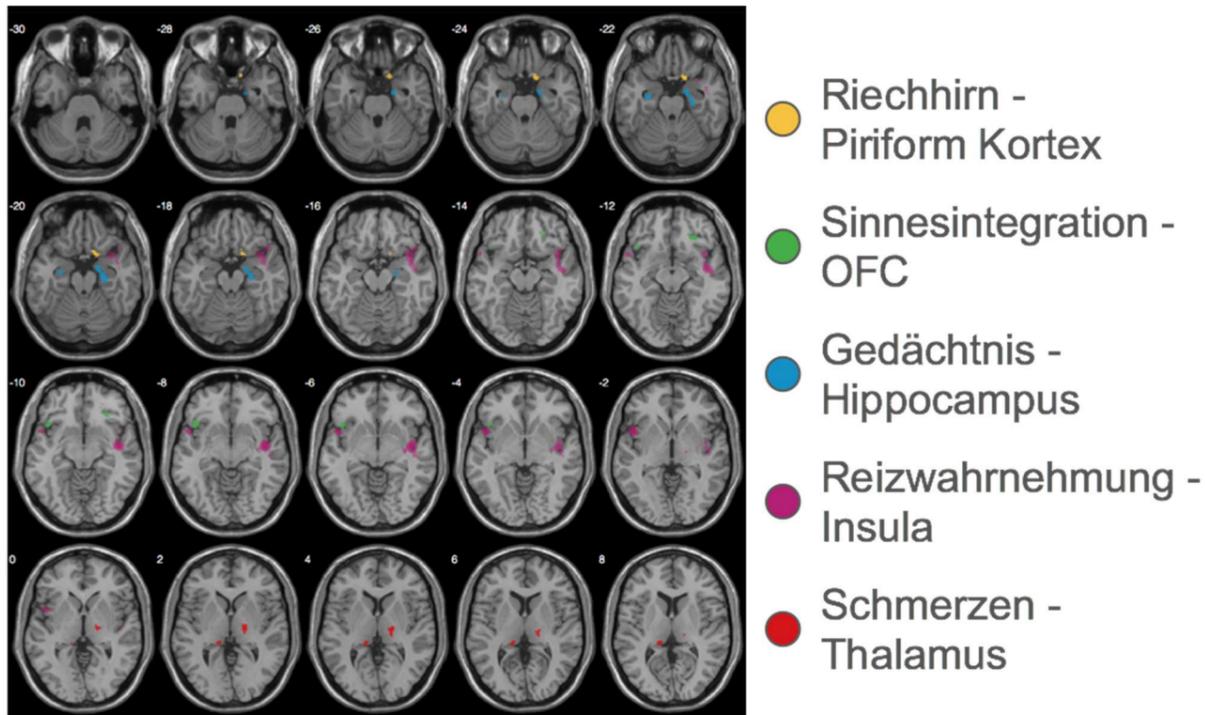


Abbildung 4: Aktivierungen im erweiterten Geruchsnetzwerk und im Thalamus mit ansteigender Geruchsstoffkonzentration bis unterhalb der individuellen Irritationsschwelle

Arbeitspaket 4 „MRT Untersuchungen“ (RUB)

Das Arbeitsgedächtnis stellt eine wichtige Ressource im Alltag dar. Es ermöglicht Informationen kurzzeitig zu speichern im Sinne des Kurzzeitgedächtnisses, aber auch Informationen zu manipulieren. Von der im Rahmen des Projektes verwendeten n-zurück Arbeitsgedächtnisaufgaben ist bekannt, dass sie komplexe Anforderungen an die Aufmerksamkeit und das kurzfristige Behalten von Informationen stellen, wie z.B. das zeitliche Sortieren und Speichern von Informationen, das Erinnern und Vergleichen, um den richtigen Zielreiz zu identifizieren, sowie das Unterdrücken einer falschen und das Ausführen einer richtigen Antwortreaktion. Die den n-zurück Arbeitsgedächtnisaufgaben zugrundeliegenden Verarbeitungsprozesse im Gehirn sind gut untersucht. Bei einer solchen n-zurück Aufgabe werden dem Probanden sequentiell Punkte gezeigt. Die Bearbeitung dieser Aufgaben ist in unterschiedlichen Schwierigkeitsgraden möglich („0-zurück“ bis „3-zurück“ Aufgabe). Die Aufgabe besteht darin, zu entscheiden, ob die aktuell gezeigte Position des roten Punktes mit der Position übereinstimmt, der zwei (2-zurück) bzw. drei Bilder zuvor (3-zurück) gezeigt wurde (Abbildung 5).

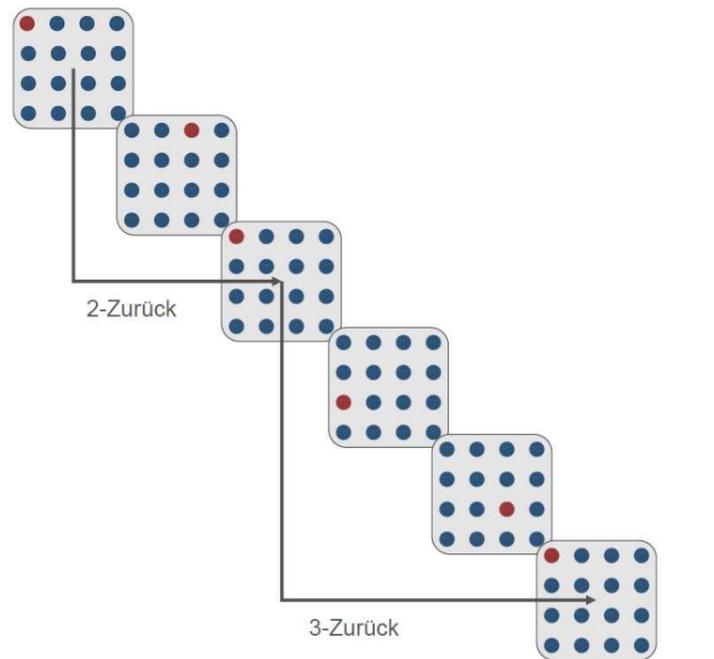


Abbildung 5: Beispiel für den Ablauf einer 2-zurück und 3-zurück Aufgabe

A1 Datenerhebung

Alle Daten wurden auf einem 3-Tesla Philips Achieva MR Scanner mit einer 32 Kanal SENSE Kopfspule aufgezeichnet. Zusätzlich wurde bei jedem Probanden ein hochauflösendes, strukturelles T1 gewichtetes Bild des Schädels aufgezeichnet (220 Schichten, Voxel Größe = 1 mm × 1 mm × 1 mm, TE = 3.8 ms, flip Winkel = 8°). Funktionelle T2*gewichtet EPI Bilder wurden mit den folgenden Parametern aufgezeichnet: 22 Schichten, Voxel Größe = 1.5 mm × 1.5 mm × 1.5 mm, TR = 2450 ms, TE = 30 ms.

A2 Datenanalyse

Alle funktionellen MRT-Daten wurden mit dem Programmpaket SPM 12 (Statistical Parametric Mapping (SPM12, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, Institute of Neurology, UCL, 2016) auf Matlab-Basis ausgewertet.

Die Vorverarbeitung der funktionellen Kernspinbilder beinhaltete die Schritte Slice-timing, Korrektur und Bewegungskorrektur. Im Anschluss wurde das strukturelle T1 gewichtete Bild auf das funktionelle, T2* gewichtete Mittelwertsbild co-registriert. Im Anschluss erfolgte die Segmentierung in graue und weiße Substanz sowie Liquorräume, die dann in den Standard-Stereotaktischen Raum des Montreal Neurological Institute Gehirns angepasst wurden. Die Bilder wurden im Anschluss mit einem 8 mm Gaussfilter geglättet.

In den folgenden Abbildungen 6 und 7 sind die Ergebnisse der beiden Arbeitsgedächtnisaufgaben bei unterschiedlichen Geruchsexpositionsbedingungen zu sehen.

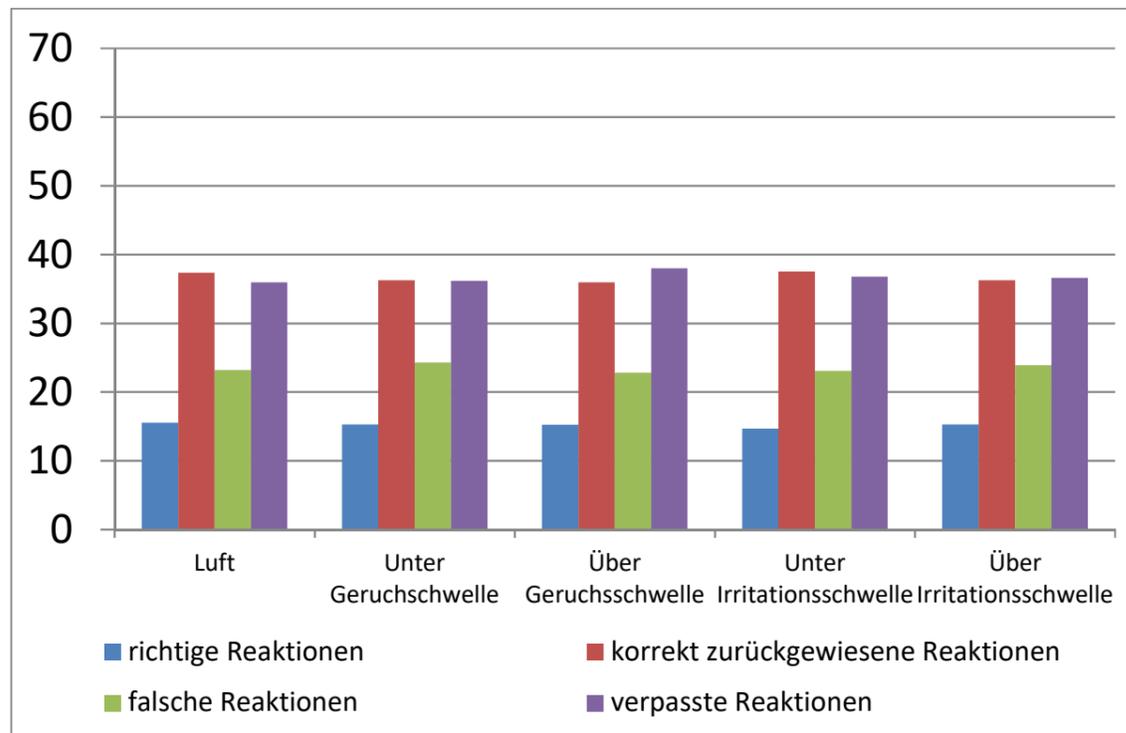


Abbildung 6: Einfluss unterschiedlicher Geruchsexpositionsbedingungen auf die kognitive Leistungsfähigkeit am Beispiel der 2-zurück Aufgabe

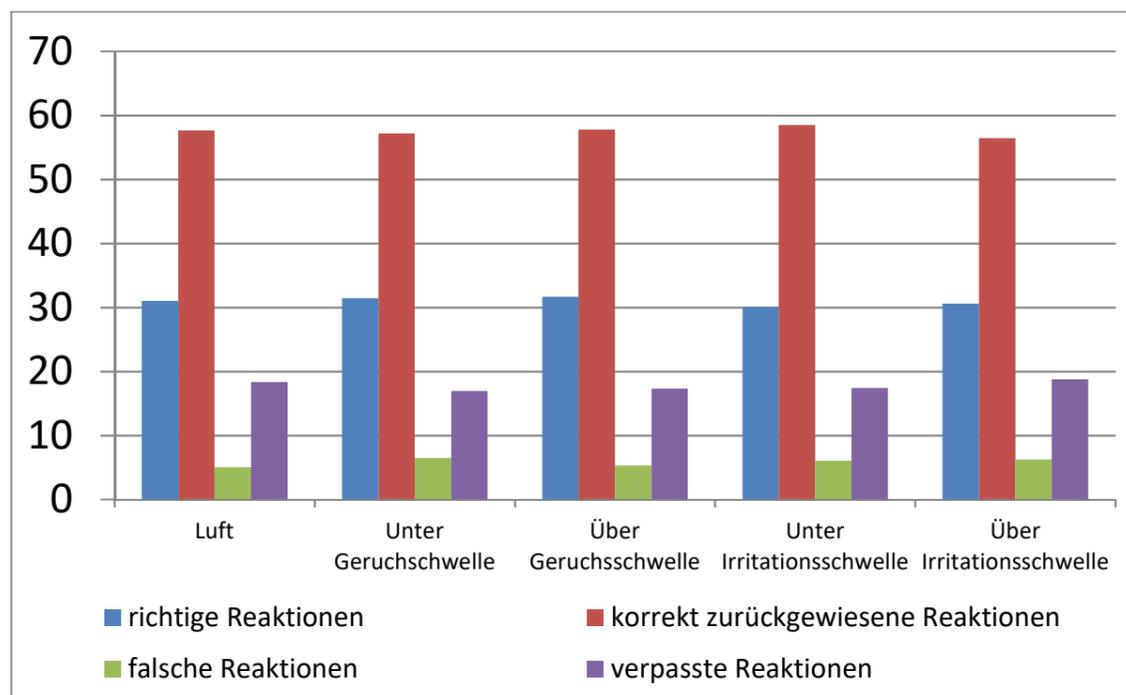


Abbildung 7: Einfluss unterschiedlicher Geruchsexpositionsbedingungen auf die kognitive Leistungsfähigkeit am Beispiel der 3-zurück Aufgabe

Abbildung 6 und Abbildung 7 zeigen die Anzahl der richtigen Reaktionen, der verpassten Reaktionen, sowie der falschen und der korrekt zurückgewiesenen Reaktionen bei der Bearbeitung der 2- und 3-zurück Aufgabe. Man erkennt einen deutlichen Lerneffekt bei der Bearbeitung der 2- und der 3-zurück Aufgaben: die Anzahl der richtig erkannten Zielreize und der richtig erkannten Nicht-Zielreize (korrekt zurückgewiesene Reaktion) ist bei den 3-zurück Aufgaben deutlich höher, gleichzeitig ist die Zahl der falschen und der verpassten Reaktionen deutlich geringer. Ein signifikanter Einfluss der Geruchsexposition ist auch bei Konzentrationen oberhalb der Irritationsschwelle nicht zu erkennen.

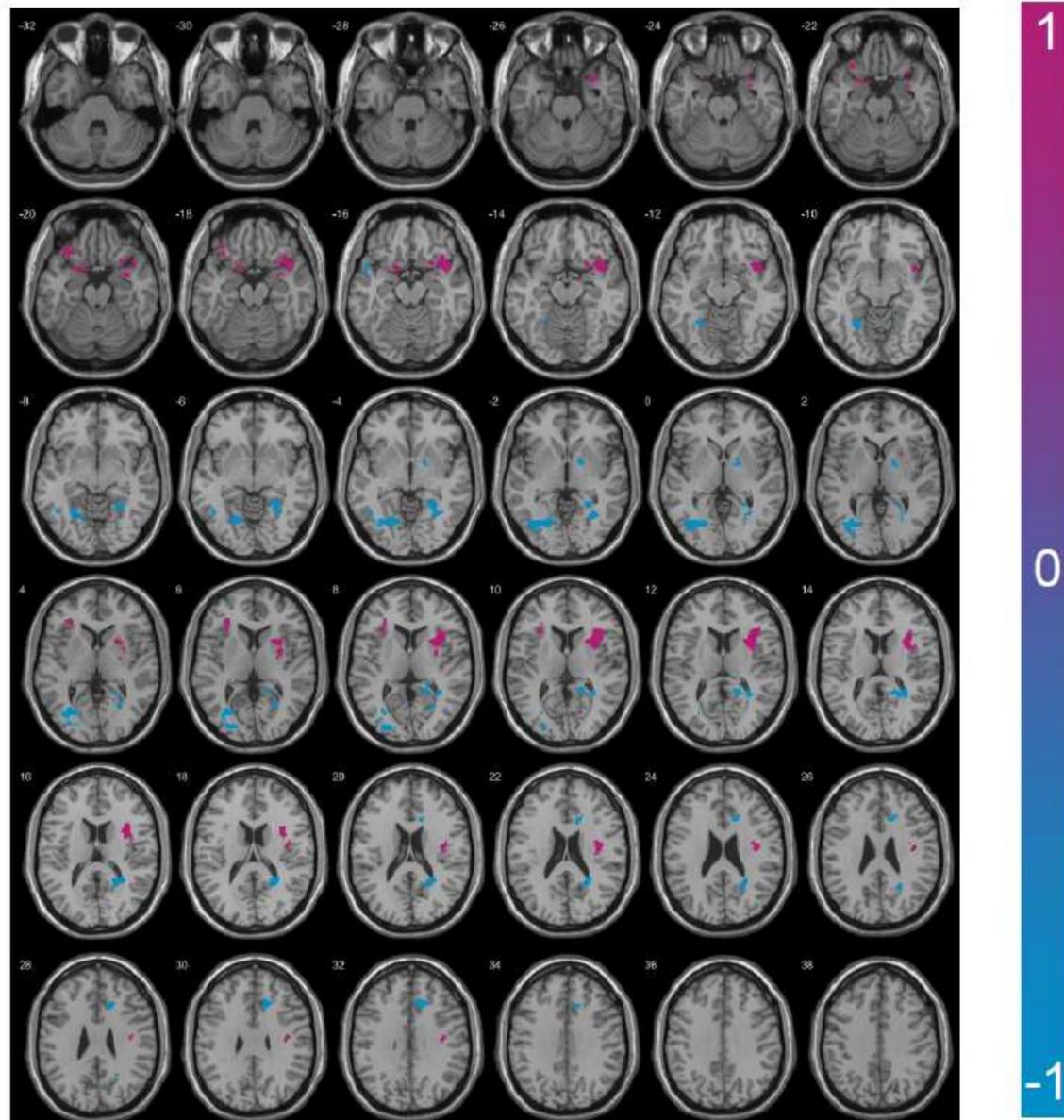


Abbildung 8: Dargestellt sind die zu- und abnehmenden Aktivierungen in Abhängigkeit von der Geruchsexposition. Alle dargestellten Aktivierungen haben eine statistische Schwelle von $p < 0.001$ (nicht korrigiert)

Die zugehörigen Kernspindaten (Abbildung 8) zeigen zum einen eine zunehmende Aktivierung in den Gehirnarealen, die für die Verarbeitung der Geruchsreize, und mit zunehmender Expositionshöhe auch für die Verarbeitung der trigeminalen „Schmerzreize“ zuständig sind. Diese Aktivierungsmuster überlappen mit einer abnehmenden Aktivierung in den Strukturen, die mit der Verarbeitung visueller Informationen assoziiert sind (lingualer und inferiorer temporaler Gyrus). Ebenso nehmen die Aktivierungen in Regionen ab, die mit Aufmerksamkeitsprozessen (superiorer Parietallappen) und auch Arbeitsgedächtnisprozessen assoziiert sind.

Hier wird der postulierte Distractionseffekt sichtbar: Er besagt, dass die Kapazität des Gehirns zur Verarbeitung von sensorischen Informationen bei gleichzeitiger Bearbeitung einer Aufgabe eingeschränkt ist. Die Daten zeigen, dass die Aktivierung in den Geruch- und Reizung verarbeitenden Gehirnarealen ansteigt, während sie in den Regionen, die mit der Aufgabenbearbeitung assoziiert sind, abnimmt. Allerdings zeigt sich die ablenkende Wirkung nicht auf Verhaltensebene: eine Verminderung der kognitiven Leistungsfähigkeit war nicht erkennbar.

Arbeitspaket 5 „Konnektivität & Spektroskopie“ (Bergmannsheil)

A1 Datenerhebung

Jeder Proband durchlief zwei aufeinanderfolgende Versuchsteile. Der Versuchsleiter war gegenüber den Ergebnissen der medizinischen Eingangsuntersuchung verblindet. Eingangs erfolgte eine 4-stufige MRT-Untersuchung (Philips 3.0 T Achieva X-Series, Bests, Niederlande) bestehend aus

1. einer hochauflösenden ($1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$) T1-gewichteten anatomischen Aufnahme (TR/TE = 8.3/3.8 ms, flip angle = 8 deg, 220 Schichten, FOV = 240 x 240 mm),
2. einer editierenden GABA-sensitiven ^1H -Spektroskopie ("MEGA-Press") der rechten anterioren Insula (editierende Pulse bei 1.9 ppm (ON) bzw. 7.46 ppm (OFF), 14 ms Pulsweite, TR/TE = 2000/68 ms, 2048 Datenpunkte, Bandbreite 2 kHz, 320 Wiederholungen, 16 Mittelungen, Voxelgröße $45 \times 25 \times 20 \text{ mm}^3$, keine Makromolekülsuppression), gefolgt von einer Glutamat-sensitiven Spektroskopie ("PRESS") innerhalb des identischen Hirnvolumens,
3. einer editierenden GABA-sensitiven ^1H -Spektroskopie ("MEGA-Press") des rechten Thalamus (editierende Pulse bei 1.9 ppm (ON) bzw. 7.46 ppm (OFF), 14 ms Pulsweite, TR/TE = 2000/68 ms, 2048 Datenpunkte, Bandbreite 2 kHz, 320 Wiederholungen, 16 Mittelungen, Voxelgröße $30 \times 30 \times 25 \text{ mm}^3$, keine Makromolekülsuppression), gefolgt

von einer Glutamat-sensitiven Spektroskopie ("PRESS") innerhalb des identischen Hirnvolumens,

4. einer funktionellen Aufnahme des Gehirns im Ruhezustand ("resting-state" MRT; Auflösung $3 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$, TR/TE = 2500/35 ms, flip angle = 90 deg, 40 Schichten mit 0.3 mm gap, FOV = 240 x 240 mm, 200 Volumes, 5 vorgeschaltete Dummy-Volumen zur Magnetfeldequilibration).

Anschließend durchlief jeder Proband unterschiedliche Tests aus einer quantitativen sensorischen Testbatterie (QST). Dabei wurden am linken proximalen Unterarm folgende Parameter bestimmt: Kältewahrnehmungsschwelle (CDT), Wärmewahrnehmungsschwelle (WDT), Kälteschmerzschwelle (CPT), Hitzeschmerzschwelle (HPT), mechanische Schmerzschwelle (MPT), mechanische Schmerzsensitivität (MPS) und mechanische Schmerzsummation (WUR). Die thermische Stimulation erfolgte in Blöcken mit je 6 Wiederholungen mittels absteigender bzw. ansteigender Temperaturrampe über ein Peltier Element (3 x 3 cm; MSA Thermode, Somedic AB, Hörby, Schweden), wobei die Probanden die perzeptuellen Schwellen mittels Knopfdruck anzeigten. Die mechanischen Schmerzschwellen wurden mittels Staircase-Prinzip durch PinPrick Stimulation (MRC Systems, Heidelberg, Deutschland) bestimmt. Die Erhebung der mechanischen Schmerzsensitivität und Schmerzsummation erfolgte nach einem klinischen Standardprotokoll.

Analyse Magnetresonanzspektroskopie (MRS)

Analyse der thalamischen bzw. insulären GABA+ Konzentration (i.e. GABA inkl. Makromoleküle) erfolgte mittels Matlab-basierter Software (Gannett, Version 2, Edden et al., 2014). Editierte GABA Spektren wurden mittels Gaußscher Funktion modelliert und die resultierenden GABA+ Konzentrationen CSF-korrigiert (Abbildung 9).

Die Ermittlung der Glutamat Konzentrationen erfolgte mittels LCModel (Version 6.31; Basisset: press_te30ms_3 t_gsh_v3) im Frequenzbereich zwischen 0.2 - 4.2 ppm.

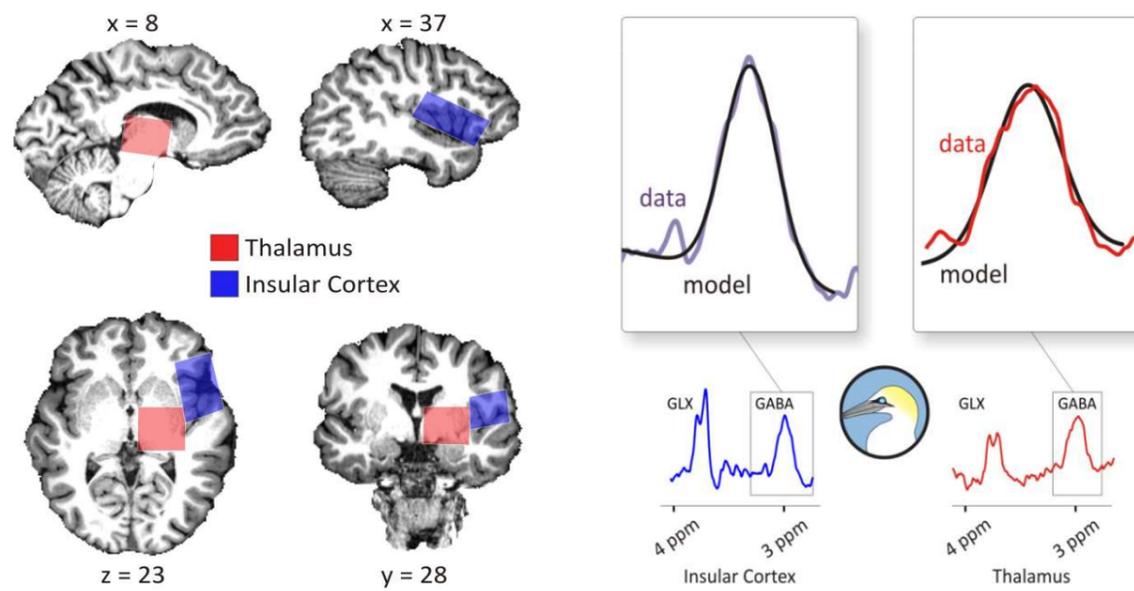


Abbildung 9: GABA-Spektroskopie im Thalamus und insularen Cortex

Links: Individuelle Position der Spektroskopievoxel (blau = Insula, rot = Thalamus) in zwei Schnittebenen und in der 3D Ansicht einer T1-gewichteten anatomischen Aufnahme eines Probanden. *Rechts:* Ausschnitt des jew. resultierenden Spektrums mittels editierender MRS-Sequenz (MEGAPRESS), mit den Signalen für Glx (3,8 ppm) und GABA (3 ppm). Das GABA Signal wird post-hoc mit einer Gaußschen Funktion (rot) modelliert, um die GABA Konzentration zu berechnen

Independent-component resting-state Analyse (ICA)

Die Vorverarbeitung der resting-state MRT-Aufnahmen erfolgte mittels CONN 14.n (ICA Vorverarbeitung: Slicetime Korrektur, Realignment, Normalisierung auf MNI-space, 6 mm Smoothing, 0.008 - 0.2 Hz Bandpassfilter). Die resultierenden Aufnahmen wurden anschließend mittels GIFT Toolbox in signaltechnisch unabhängige funktionelle Netzwerke zerlegt [Intensitätsnormalisierung, zwei PCA Reduktionen (auf 36 und anschließend 25 Komponenten), ICASSO-Validierung der estimierten Komponenten (20 Wiederholungen, randInit, InfoMax Algorithmus)]. Die nachfolgende Statistik umfasste eine MANCOVA mit *post hoc* Testung der signifikant unterschiedlichen Internetzwerkaktivität (2-seitiger 2-Stichproben t-Test, $\alpha = 0.05$), lineare Korrelationen der Internetzwerkaktivität mit QST- bzw. Spektroskopieergebnissen (Kendalls τ Rangkorrelation, $\alpha = 0.05$), sowie *post hoc* Tests auf Gruppeneffekte der Intranetzwerkaktivität (Schlaffke et al., 2016; 1-seitiger 2-Stichproben T-Test, $\alpha = 0.05$). Gruppenunterschiede in der Intranetzwerkaktivität erfolgte nach dem "general linear model" mittels 2-Stichproben t-Test in SPM8. Alle Resultate sind korrigiert auf Voxel Ebene mit $p_{\text{UNK}} = 0.001$ und auf Clusterebene mit $p_{\text{FWE}} = 0.05$.

Analyse seed-basierte resting-state Konnektivität

Vorverarbeitung der resting-state MRT-Aufnahmen erfolgte mittels CONN 14.n (seed-to-voxel Vorverarbeitung: Slicetime Korrektur, Realignment, Scrubbing, Normalisierung auf MNI-space, 6 mm Smoothing, Denoising: WM/CSF/Movement, 0.008 - 0.09 Hz Bandpassfilter, Despiking und Detrending).

Die funktionelle Konnektivität von fünf Schlüsselregionen ("Regions-of-Interest", ROI, Abbildung 10) aus dem Schmerz- bzw. Olfaktionsnetzwerk wurde anhand von seed-to-voxel Analysen (Whitfield-Gabrieli und Nieto-Castanon, 2012) untersucht. Fünf bilaterale Hirnregionen, farblich auf horizontalen Hirnschnitten markiert, wurden mit Hilfe des "automated anatomical labelling" (AAL) Atlases bestimmt. Das Signal jedes ROIs wird mit dem jedes einzelnen Voxels korreliert.

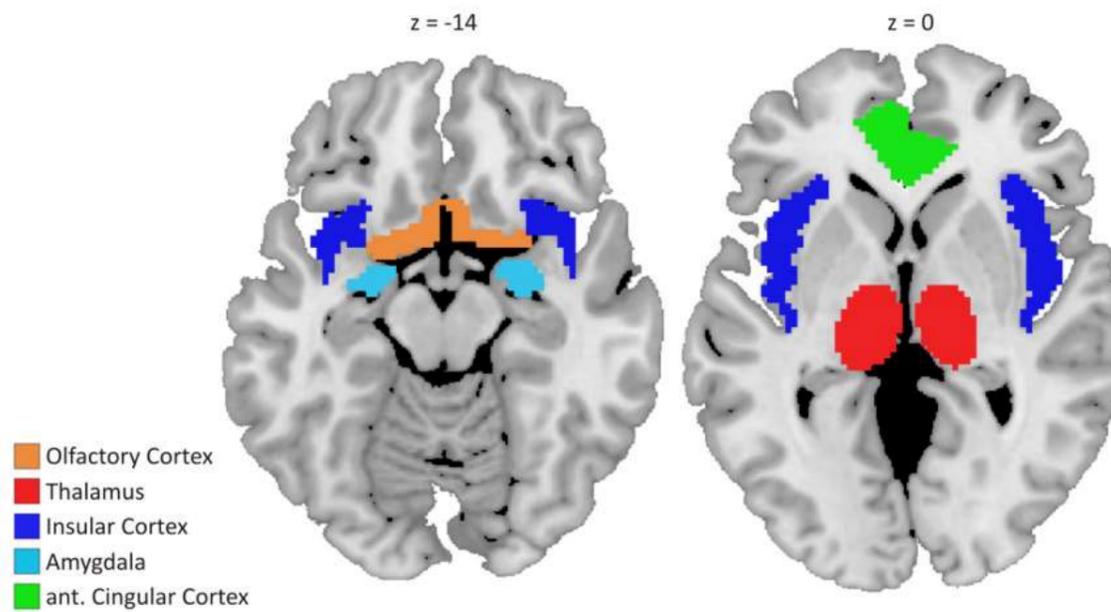


Abbildung 10: A priori seed ROIs der seed-to-voxel Netzwerkanalyse

A2 Datenanalyse

In die statistische Analyse wurden die Daten von 24 medizinisch charakterisierten Probanden eingezogen (davon 13 Männer, mittleres Alter $26,9 \pm 0,8$ Jahre). Die Daten von 2 Probanden erfüllten nicht die Qualitätsanforderungen (zu starke Bewegungsartefakte, unzureichende Voxelpositionierung). Ein weiterer Proband wurde wegen idiopathischen Stotterns und den damit einhergehenden Veränderungen der Netzwerkkonnektivität ausgeschlossen. Sieben Capsaicinsensitive wurden nach Alter und Geschlecht angepassten

Kontrollprobanden zugeteilt. Alle Analysen beziehen sich auf diese 14 Probanden. Tabelle 5 gibt einen Überblick über die beiden Probandengruppen. In der Gruppe der Capsaicinsensitiven (CAPS) waren 5 Frauen und 2 Männer mit einem mittleren Alter von $26,1 \pm 1,5$ Jahren. Die Kontrollprobanden (CON) waren im Hinblick auf Alter und Geschlecht angepasst. Hier lag das Alter im Mittel bei $25,9 \pm 0,9$ Jahren.

Tabelle 5: Demographie der untersuchten Probandenkohorte

CAPS	Geschlecht	Alter	CON	Geschlecht	Alter
OLF005	F	27	OLF004	F	27
OLF008	F	25	OLF007	F	23
OLF009	F	27	OLF012	F	24
OLF011	F	30	OLF021	F	28
OLF014	F	18	OLF019	F	23
OLF022	M	29	OLF010	M	29
OLF024	M	27	OLF020	M	27

Gruppenbasierte Unterschiede bei der Schmerzwahrnehmung

In Tabelle 6 werden die Ergebnisse der thermischen und der mechanischen Schwellenmessung dargestellt. Die mechanischen Schwellen wurden logarithmisch transformiert, die thermischen Schwellen sind nicht transformiert und in °Celsius angegeben. Die mechanische Schmerzsensitivität wird für alle getesteten PinPrick-Gewichte von 8 bis 512 mN einzeln aufgeführt. Zudem werden die Gewichte zwischen 8 und 64 mN zu "MPS light", und die Gewichte zwischen 128 bis 512 mN zu "MPS heavy" gruppiert.

Es zeigt sich kein quantitativer Unterschied in der thermischen Perzeption von CAPS und CON. Die CAPS Probanden zeigen jedoch im Vergleich zu den CON Probanden eine signifikant niedrigere mechanische Schmerzschwelle ($1,294 \pm 0,1$ vs. $1,524 \pm 0,1$, $p = 0.030$), sowie eine erhöhte Sensitivität gegenüber leichten mechanischen Stimuli ($-0,475 \pm 0,2$ vs. $-0,118 \pm 0,3$, $p = 0.014$). In der Schmerzsummation zeigten sich zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 6: Mittelwerte inkl. Standardfehler für die thermischen und die mechanischen Schwellen der quantitativen sensorischen Testung

QST Parameter	Gesamt (n=14)	CAPS (n=7)	CON (n=7)	p-Wert*
CDT	30,2 (0,3)	29,9 (0,4)	30,5 (0,4)	0.359
WDT	34,5 (0,2)	34,7 (0,3)	34,3 (0,2)	0.278
CPT	16,2 (2,0)	15,7 (3,6)	16,7 (2,1)	0.819
HPT	41,7 (1,0)	40,9 (1,7)	42,4 (1,3)	0.523
WUR**	-0,743 (1,6)	-1,345 (3,0)	-0,141 (1,4)	0.719
MPT**	1,409 (0,1)	1,294 (0,1)	1,524 (0,1)	0.030
MPS 8**	-0,667 (0,2)	-0,335 (0,1)	-1,000 (0,4)	0.037
MPS 16**	-0,659 (0,2)	-0,340 (0,1)	-0,978 (0,4)	0.045
MPS 32**	-0,518 (0,1)	-0,173 (0,1)	-0,863 (0,3)	0.035
MPS 64**	-0,055 (0,02)	0,376 (0,1)	-0,485 (0,2)	0.006
MPS 128**	0,456 (0,1)	0,659 (0,3)	0,252 (0,1)	0.141
MPS 256**	0,635 (0,2)	0,804 (0,3)	0,466 (0,2)	0.206
MPS 512**	0,880 (0,2)	1,082 (0,4)	0,677 (0,3)	0.099
MPS light**	-0,475 (0,2)	-0,118 (0,3)	-0,831 (0,04)	0.014
MPS heavy**	0,657 (0,1)	0,848 (0,2)	0,465 (0,2)	0.137

*2-seitiger 2-Stichproben t-Test **log-transformiert

Gruppenbasierte Unterschiede bei der Neurochemie

Statistisch zeigt sich für die GABA+ Konzentrationen weder ein Haupteffekt der Gruppenzugehörigkeit ($F_{(1,1)} = 1,46$, $p = 0.239$), noch eine Interaktion der Faktoren Gruppenzugehörigkeit und Voxelposition ($F_{(1,1)} = 0,55$, $p = 0.467$). Auch für die Glutamat Konzentrationen zeigt sich weder ein Haupteffekt der Gruppenzugehörigkeit ($F_{(1,1)} = 0,93$, $p = 0.344$), noch eine Interaktion derselben mit der Voxelposition ($F_{(1,1)} = 0,04$, $p = 0.837$). Einen Überblick über die Ergebnisse liefert Tabelle 7.

Tabelle 7: Mittelwerte inkl. Standardfehler der GABA+ und Glutamat Konzentrationen in der rechten anterioren Insula, bzw. im rechten Thalamus. Konzentrationen sind in institutionellen Einheiten angegeben.

Neurotransmitter		Gesamt (n=14)	CAPS (n=7)	CON (n=7)	p-Wert*
GABA+	aINS	1,73 (0,08)	1,61 (0,12)	1,84 (0,09)	0.163
	THAL	2,24 (0,08)	2,21 (0,07)	2,26 (0,16)	0.763
GLU	aINS	1,40 (0,03)	1,43 (0,05)	1,38 (0,03)	0.463
	THAL	1,00 (0,03)	1,02 (0,03)	0,99 (0,04)	0.561

*2-seitiger 2-Stichproben t-Test

Jedoch zeigt sich über die gesamte Kohorte eine signifikante Korrelation zwischen insulärer GABA+ Konzentration und der Hitzeschmerzschwelle (Kendalls $\tau = 0.407$, $p = 0.047$), sowie thalamischer GABA+ Konzentration und Schmerzsumation (Kendalls $\tau = 0.495$, $p = 0.014$). Zudem kann festgestellt werden, dass die Glutamat Konzentration der anterioren Inselregion signifikant mit der des Thalamus (Kendalls $\tau = 0.517$, $p = 0.010$) korreliert.

Gruppenbasierte Unterschiede in der ICA der resting-state Konnektivität

Insgesamt konnten 25 unterschiedliche Netzwerke mittels ICA detektiert werden. Die Kategorisierung zu den aus der Literatur bekannten Netzwerken erfolgte durch visuelle Inspektion. Neben den bekannten Netzwerken für Aufmerksamkeit, visuelle Verarbeitung, Sprachproduktion und -verständnis, cerebelläre Verarbeitung und subcorticaler Regelkreise wurden 5 Netzwerkkomponenten als studienrelevant klassifiziert (Abbildung 11). Jede Reihe zeigt die räumliche Verteilung der Konnektivität innerhalb eines funktionellen Netzwerkes ($p_{FWE} = 0.05$) für 7 repräsentative horizontale Hirnschnitte [mm Angaben nach Montreal Neurological Image (MNI) Konvention]. ant, anterior; DMN, Default-Mode-Netzwerk; IC, independent component; post, posterior; SAL, Saliennetzwerk; SMN, somatomotorisches Netzwerk.

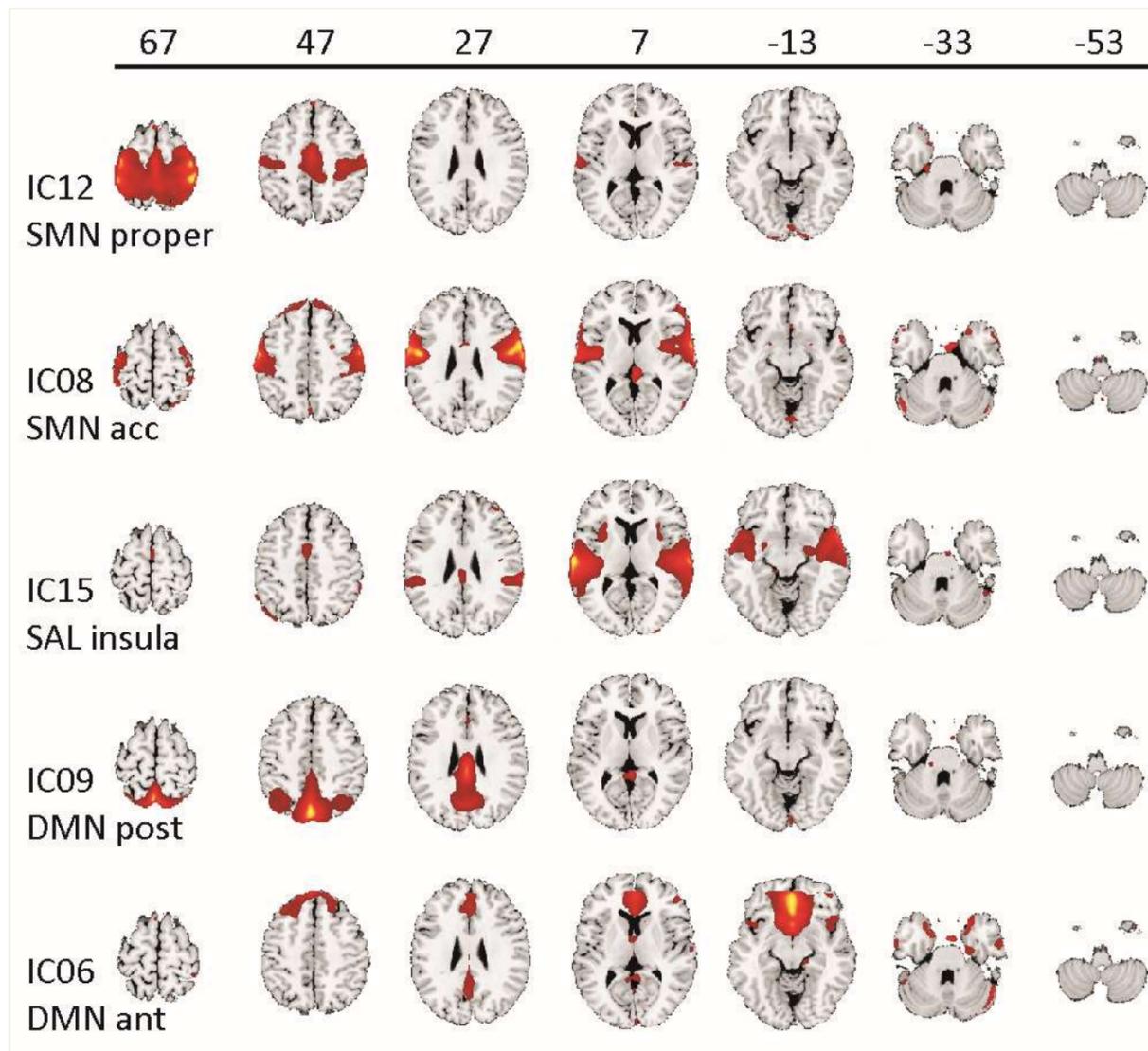


Abbildung 11: Räumliche statistische Karten der fünf studienrelevanten resting-state ICA Komponenten.

Inter- und Intranetzwerk Konnektivität

Im *post hoc* Vergleich der mittleren Konnektivität zwischen den fünf Netzwerken (Inter-netzwerk-konnektivität) zeigt sich nur zwischen der anterioren und der posterioren Komponente des Default-Mode-Netzwerkes (DMN) eine signifikant schwächere Konnektivität für die CAPS-Gruppe (Tabelle 8: $0,12 \pm 0,06$ vs. $0,32 \pm 0,05$, $p=0.02$; 2-seitiger 2-Stichproben t-Test).

Tabelle 8: Mittelwert der Korrelationskoeffizienten zwischen den fünf studienrelevanten Netzwerken. ant, anterior; DMN, Default-Mode-Netzwerk; IC, independent component; post, posterior; SAL, Saliennetzwerk; SMN, somatomotorisches Netzwerk.

ID	SMN _{prop}	SMN _{prop}	SMN _{prop}	SMN _{prop}	SMN _{acc}	SMN _{acc}	SMN _{acc}	SAL	SAL	DMN _{post}
	SMN _{acc}	SAL	DMN _{post}	DMN _{ant}	SAL	DMN _{post}	DMN _{ant}	DMN _{post}	DMN _{ant}	DMN _{ant}
CAPS1	0,40	0,36	0,02	0,21	0,47	-0,26	-0,02	-0,02	0,05	0,24
CAPS2	0,38	0,41	0,03	-0,013	0,54	-0,21	-0,05	0,04	0,27	0,29
CAPS3	0,37	0,04	-0,001	0,16	0,24	-0,37	-0,38	-0,19	0,05	0,10
CAPS4	0,78	0,35	-0,19	-0,22	0,53	-0,30	-0,25	0,09	-0,15	0,16
CAPS5	0,28	0,58	0,70	0,39	0,42	0,09	-0,05	0,43	0,24	0,11
CAPS6	0,77	0,37	0,03	0,29	0,29	-0,004	0,06	0,23	-0,11	-0,17
CAPS7	0,24	0,25	0,14	0,15	0,23	0,05	-0,13	0,05	0,16	0,07
CON1	0,93	0,33	-0,16	0,10	0,29	-0,33	-0,17	-0,06	0,13	0,26
CON2	0,31	0,26	0,21	-0,12	0,46	-0,84	-0,21	-0,18	-0,22	0,31
CON3	0,13	0,54	0,97	0,18	0,25	-0,24	0,10	0,19	0,22	0,29
CON4	0,53	0,58	0,21	0,25	0,40	-0,24	-0,10	-0,01	0,09	0,38
CON5	0,84	0,46	-0,10	0,36	0,23	-0,23	0,09	-0,27	0,25	0,30
CON6	0,31	0,48	0,67	0,29	0,29	-0,18	0,08	0,27	0,34	0,12
CON7	1,11	0,72	0,71	0,51	0,54	0,49	0,30	0,94	0,65	0,60
CAPS	0,46 (0,08)	0,34 (0,06)	0,10 (0,11)	0,14 (0,08)	0,39 (0,05)	-0,14 (0,07)	-0,12 (0,06)	0,09 (0,07)	0,07 (0,06)	0,12 (0,06)
CON	0,59 (0,14)	0,48 (0,06)	0,36 (0,16)	0,22 (0,08)	0,35 (0,04)	-0,22 (0,15)	0,01 (0,07)	0,12 (0,15)	0,21 (0,10)	0,32 (0,05)
p-Wert*	0.430	0.107	0.216	0.453	0.560	0.635	0.172	0.847	0.266	0.020

*2-seitiger 2-Stichproben t-Test

Zusätzlich wurde für jeden Probanden und jedes Netzwerk ein Maß der intrinsischen Konnektivität bestimmt (Intranetzkonnektivität, iFC). Dabei fand sich im Gruppenvergleich eine signifikante Erhöhung der intrinsischen Konnektivität des Saliennetzwerkes bei CAPS (Tabelle 9).

Tabelle 9: Mittlere intraspezifische Netzwerkkonnektivität der beiden Versuchsgruppen.

	SMN _{proper}	SMN _{acc}	SAL	DMN _{post}	DMN _{ant}
CAPS	1,96 (0,28)	2,53 (0,42)	2,18 (0,14)	1,95 (0,17)	2,18 (0,19)
CON	1,85 (0,19)	2,43 (0,23)	1,87 (0,07)	2,18 (0,22)	1,96 (0,10)
p-Wert*	0.378	0.422	0.037	0.211	0.157

*1-seitiger 2-Stichproben t-Test

In der folgenden Abbildung 12 sind die Gruppenunterschiede in der mittleren intrinsischen Konnektivität der einzelnen funktionellen Netzwerke (iFC) zu sehen. Rottöne geben CAPS-Werte wieder, Blautöne CON-Werte. Hinterlegte Flächen kennzeichnen das 95%-Konfidenzintervall (dunkelschattiert) und die einfache Standardabweichung (hellschattiert).

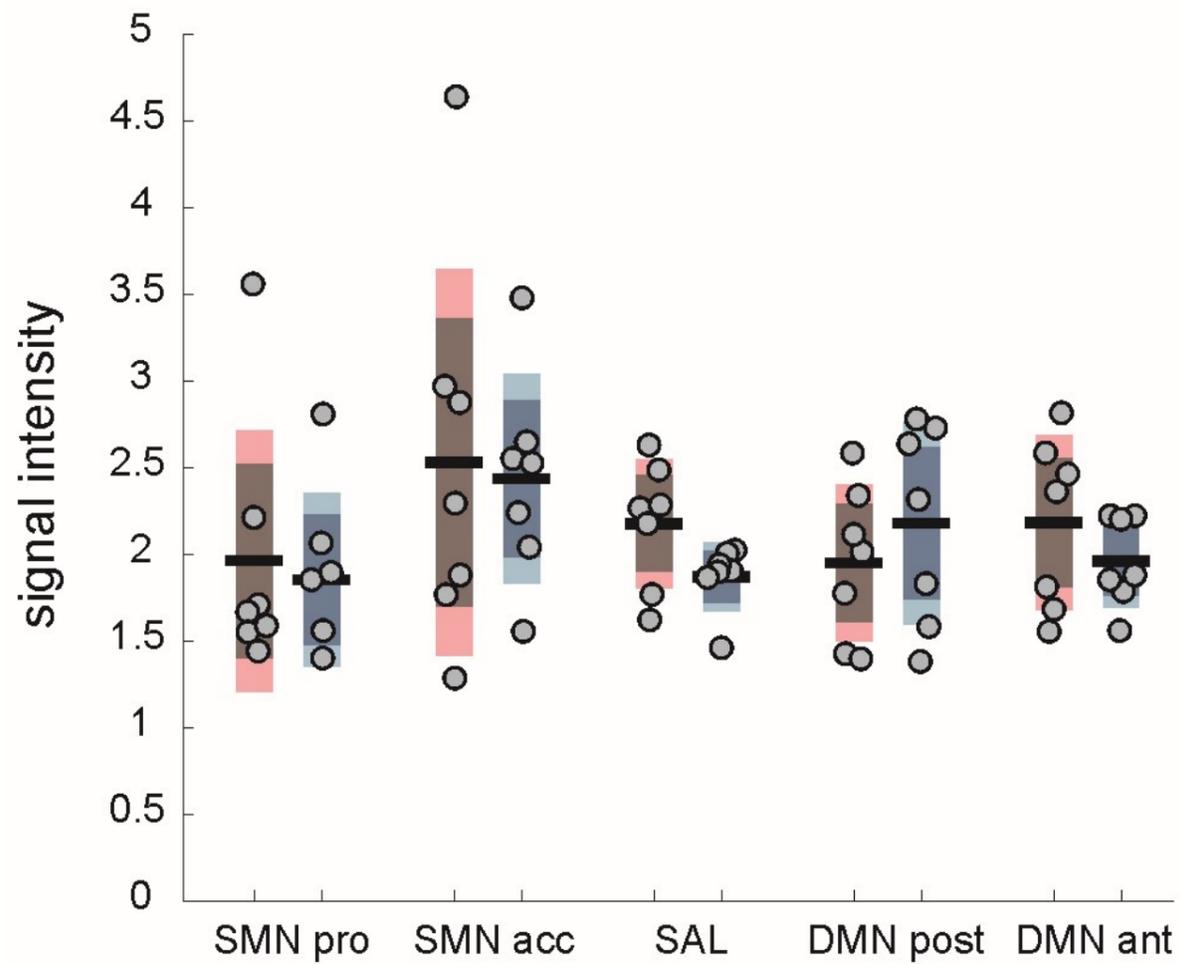


Abbildung 12: Gruppenunterschiede in der mittleren intrinsischen Konnektivität der einzelnen funktionellen Netzwerke (iFC)

Der Gruppenvergleich (CAPS > CON bzw. CON > CAPS) der räumlichen Karten eines Netzwerkes zeigt für keines der fünf Netzwerke Hirnareale auf, die sich in ihrer Konnektivität signifikant zwischen CAPS und CON unterscheiden.

Gruppenbasierte Unterschiede in der seed-basierten resting-state Konnektivität

Ausgehend von jedem der fünf ROI wurde auf Unterschiede in der seed-to-voxel Konnektivität zwischen den beiden Versuchsgruppen getestet (CAPS > CON bzw. CON > CAPS). Allein für den linken olfaktorischen Cortex zeigte sich bei CAPS Probanden eine erhöhte Konnektivität zum posterioren cingulären Cortex (Clustergröße: 161 Voxel, $x/y/z = 08/-40/16$ mm, $p_{FWE} = 0.014$) und zum linken Cerebellum (Clustergröße: 161 Voxel, $x/y/z = -34/-84/-38$ mm, $p_{FWE} = 0.043$).

Wie in der folgenden Abbildung 13 zu sehen ist, verfügen CAPS Probanden über eine stärkere Konnektivität zum posterioren cingulären Cortex (PCC) und zum linken Cerebellum, dargestellt durch zwei repräsentative horizontale Hirnschnittebenen (in mm MNI-Koordinaten). Die Eigenvariante der Zielregionen dienen als Maß der mittleren Konnektivität, und sind als Kastengrafik begleitend dargestellt. Rottöne geben CAPS-Werte wieder, Blautöne CON-Werte. Hinterlegte Flächen kennzeichnen das 95%-Konfidenzintervall (dunkelschattiert) und einfache Standardabweichung (hellschattiert).

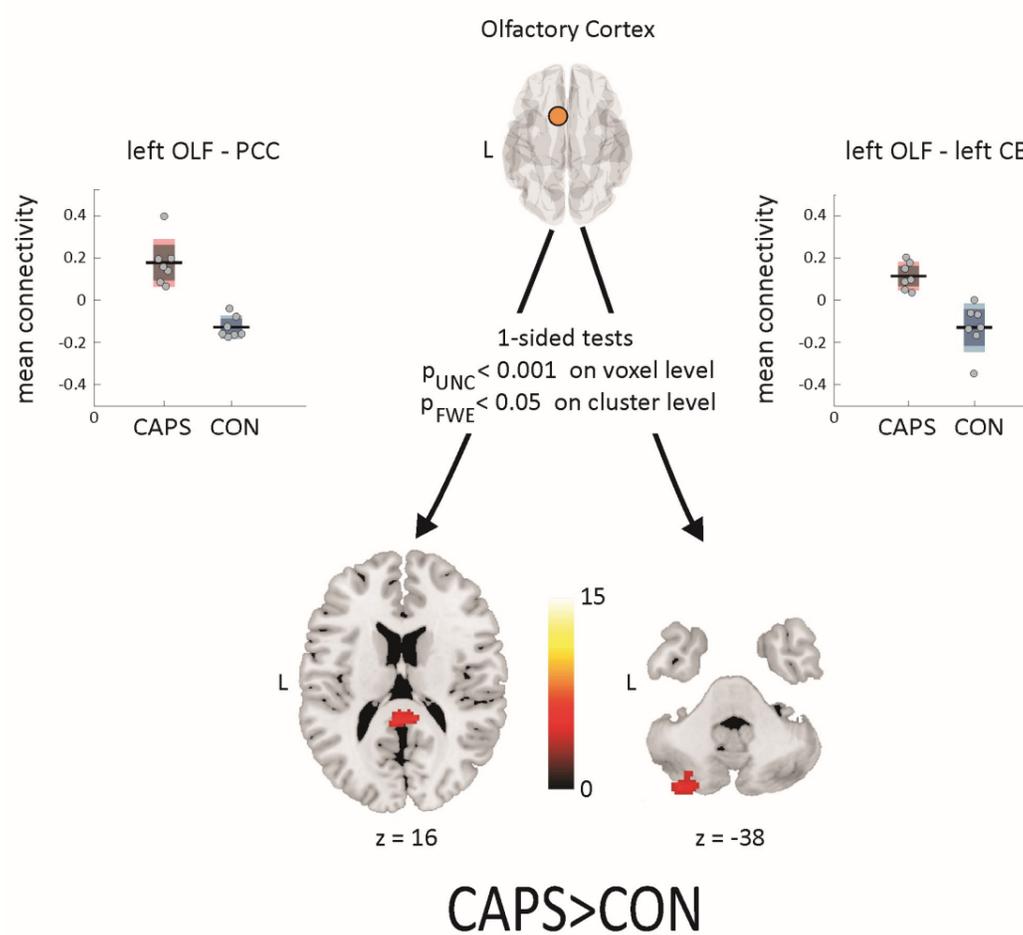


Abbildung 13: Gruppenvergleich der Konnektivität des linken olfaktorischen Cortex

Zusammenhang zwischen Netzwerkkonnektivität, Nozizeption und Neurochemie

Alle Ergebnisse der ICA, der QST und der MRS wurden mittels Kendalls Rangkorrelationen auf signifikante Zusammenhänge untersucht (Tabelle 10). Dabei gilt innerhalb der Gruppe der CAPS Probanden, dass Kältewahrnehmungsschwellen und Kälteschmerzschwellen negativ mit Wärmewahrnehmungsschwellen bzw. Wärmeschmerzschwellen korrelieren. Zudem findet sich ein positiver Zusammenhang zwischen der Intranetzwirkonnektivität des somatomotorischen Netzwerkes und der Wärmewahrnehmungsschwelle: Je höher die intrinsische Konnektivität innerhalb des SMN, desto schlechter ist das Wärmewahrnehmungsvermögen. Der gleiche Effekt kann auch zwischen Wärmewahrnehmungsvermögen und der Konnektivität zwischen dem akzessorischen somatomotorischen Netzwerk und dem Default-Mode-Netzwerk berichtet werden: Je höher die Konnektivität zwischen SMN und DMN, desto schlechter ist das Wärmewahrnehmungsvermögen.

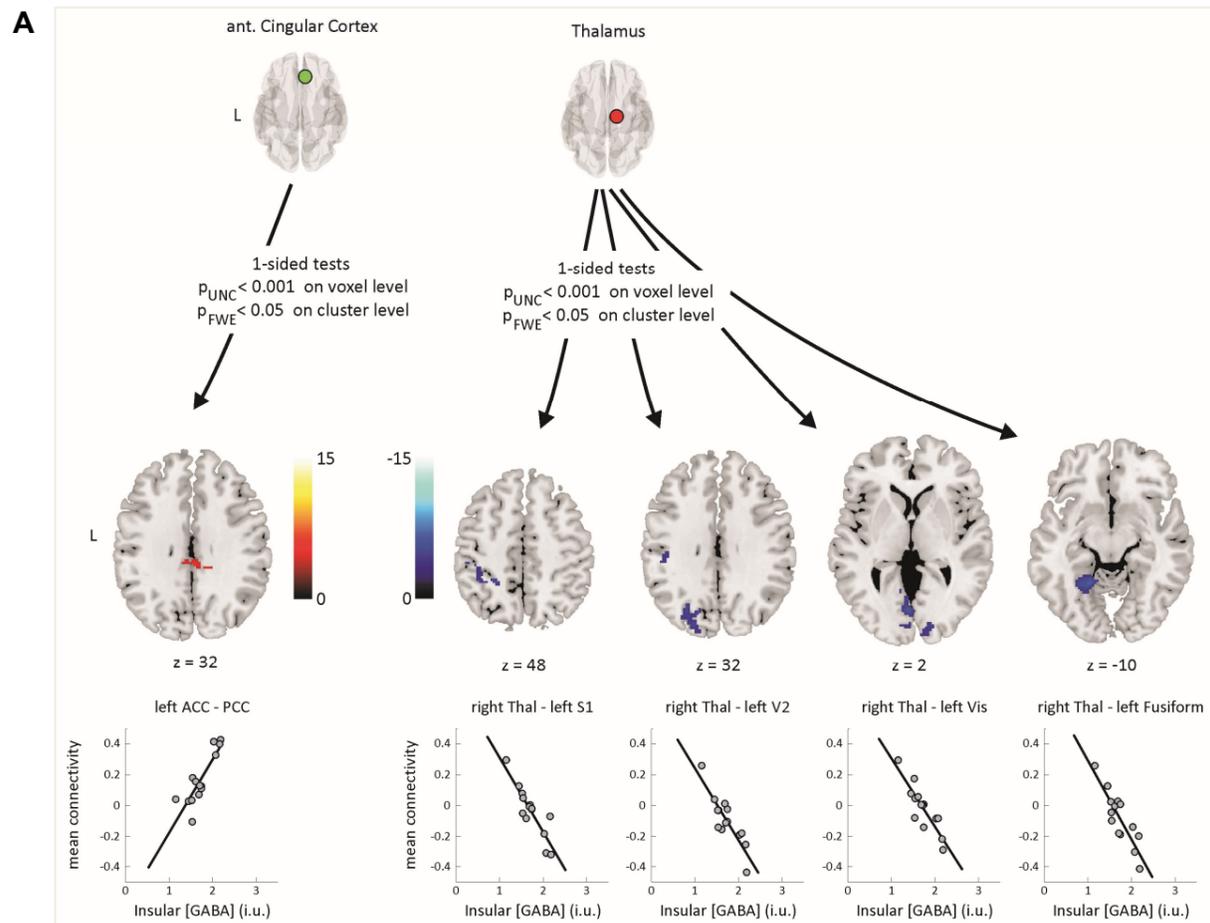
Eine stärkere thalamische Erregbarkeit, also eine erhöhte Glutamat Konzentration im rechten Thalamus, geht nur bei CAPS Probanden mit einer stärkeren Kopplung zwischen Salienz- und Default-Mode-Netzwerk einher. Zudem zeigt sich eine negative Korrelation zwischen GABA+ Konzentrationen des Thalamus und der mechanischen Schmerzsensitivität, sprich je höher der GABAerge Tonus des Thalamus, desto weniger schmerzempfindlich reagieren CAPS Probanden.

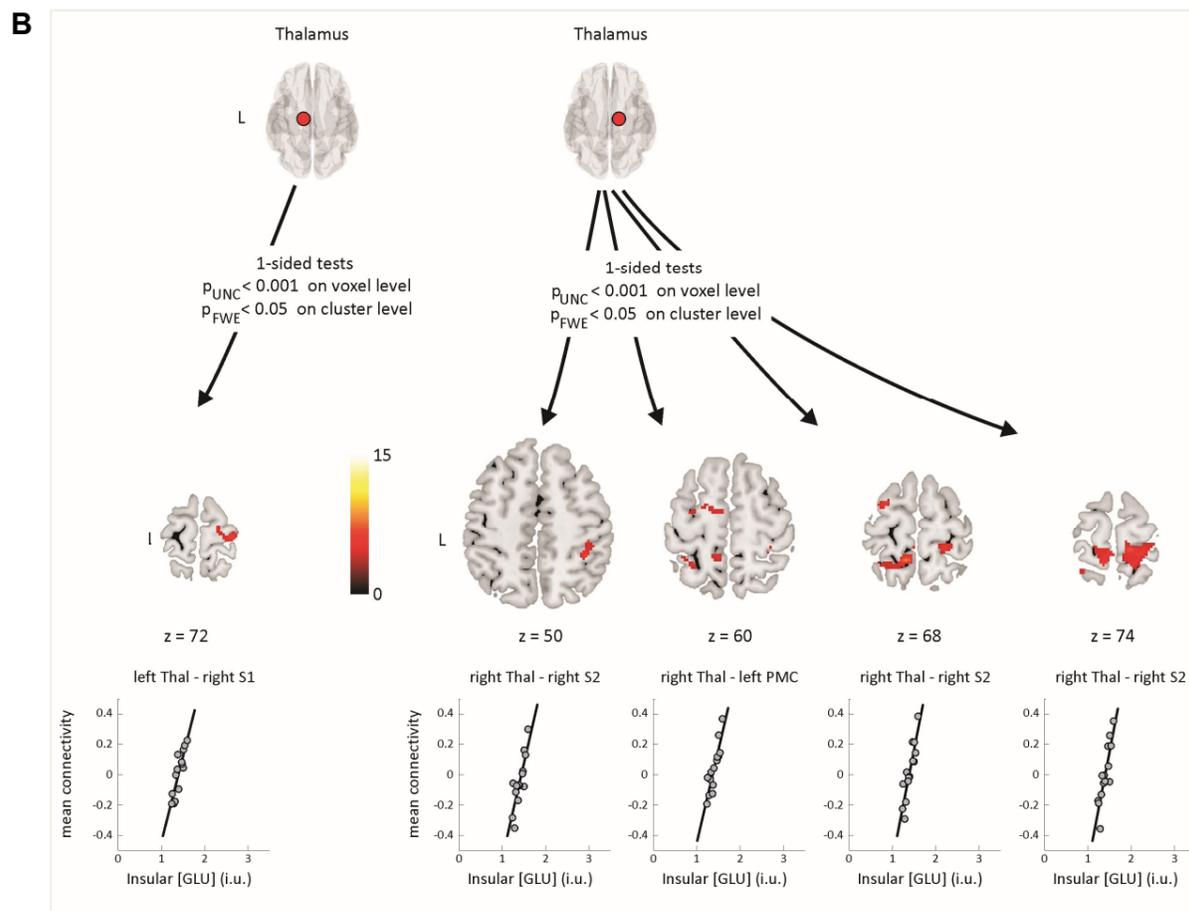
Tabelle 10: Ergebnisse der Rangkorrelationen zwischen QST, MRS und ICA Messwerten

CAPS (n=7)				CON (n=7)			
Var 1	Var 2	Kendall's τ	p-Wert	Var 1	Var 2	Kendall's τ	p-Wert
iFC	WDT	-0,71	0.030	iFC	MPS _{light}	-0,81	0.011
SMN _{prop}	-	-	-	SMN _{acc}	MPS _{light}	-0,81	0.011
-	-	-	-	iFC SAL	MPS _{light}	-0,81	0.011
SMN _{acc} - DMN _{ant}	WDT	0,71	0.030	SMN _{prop} - SMN _{acc}	HPT	-0,81	0.011
-	-	-	-	DMN _{post} - DMN _{ant}	WDT	-0,71	0.030
-	-	-	-	DMN _{post} - DMN _{ant}	MPS _{heavy}	-0,71	0.030
-	-	-	-	DMN _{post} - DMN _{ant}	WUR	0,71	0.030
CDT	WDT	-0,71	0.030	-	-	-	-
CPT	HPT	-0,81	0.011	-	-	-	-
GABA _{thal}	MPS _{light}	-0,91	0.003	GABA _{thal}	MPS _{heavy}	0,71	0.030
GABA _{thal}	MPS _{heavy}	-0,71	0.030	GABA _{thal}	WUR	0,81	0.011
GLU _{thal}	SAL-DMN _{ant}	0,71	0.030	GLU _{thal}	MPS _{heavy}	-0,81	0.011
-	-	-	-	GLU _{ins}	GLU _{thal}	0,71	0.030
-	-	-	-	GLU _{ins}	MPS _{heavy}	-0,91	0.003

Neben den negativen Korrelationen zwischen intrinsischer Konnektivität des SMN bzw. SAL Netzwerkes und mechanischer Schmerzsensitivität, finden sich bei den Kontrollprobanden auch (vorwiegend negative) Korrelationen der Internetzwerkkonnektivität innerhalb der jeweiligen SMN und DMN Netzwerkkomponenten mit thermischen und mechanischen Stimuli. Zudem zeigt sich eine positive Korrelation zwischen GABA+ Konzentrationen des Thalamus und der mechanischen Schmerzsensitivität, sprich je höher der GABAerge Tonus des Thalamus, desto schmerzempfindlicher reagieren CON Probanden. Dem gegenübergestellt ist die Korrelation zwischen insulärer Glutamat Konzentration und mechanischer Schmerzsensitivität: Je höher der glutamaterge Tonus innerhalb der rechten Inselregion, desto geringer ist die mechanische Schmerzsensitivität.

Gruppenunabhängige Effekte zwischen Neurochemie und funktioneller Konnektivität können vor allem innerhalb der seed-basierten resting-state Analysen beobachtet werden.





C

Die funktionelle Konnektivität drei der ROI korreliert signifikant mit der insulären GABA+ bzw. Glutamat Konzentration (A+B), oder auch mit der thalamischen GABA+ Konzentration (C). Hirnbereiche, deren Konnektivität positiv mit der Transmitterkonzentration korreliert sind in Rottönen dargestellt, negative Korrelationen in Blautönen. Lineare Regressionen der Eigenvariablen als Maß der mittleren Konnektivität mit Transmitterkonzentration sind für jedes Hirncluster in der unteren Reihe dargestellt.

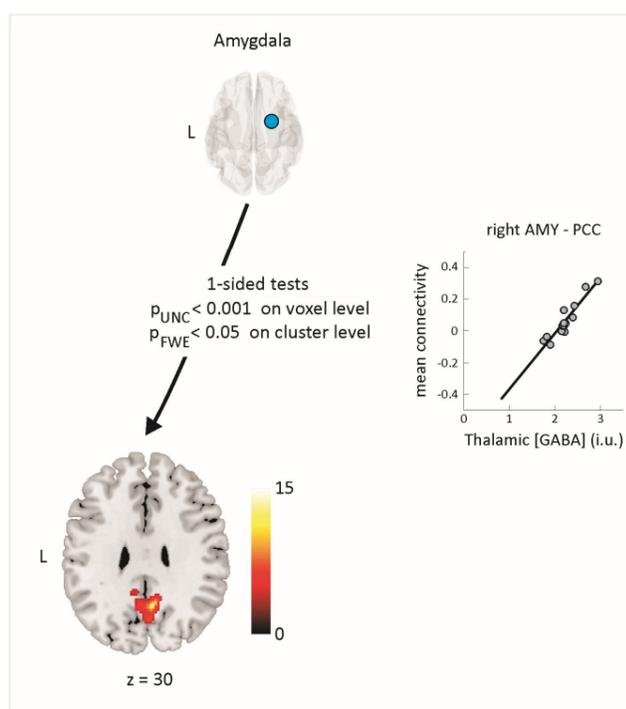


Abbildung 14: Einfluss der Neurotransmitterkonzentration auf seed-to-voxel resting-state Konnektivität

Über die gesamte Kohorte betrachtet zeigt sich eine signifikante positive Korrelation zwischen der GABA+ Konzentration der rechten Inselregion und der Konnektivität des anterioren cingulären Cortex (ACC) mit dem posterioren cingulären Cortex (PCC; Clustergröße: 121 Voxel, $x/y/z = 12/-38/28$ mm, $p_{FWE} = 0.035$). Je stärker der inhibitorische Tonus der Inselregion, desto stärker die Konnektivität innerhalb des cingulären Cortex (Abbildung 14 A). Negative Korrelationen zeigen sich zwischen der insulären GABA+ Konzentration und der Konnektivität des rechten Thalamus mit i) dem linken somatosensorischen Cortex (S1; Clustergröße: 293 Voxel, $x/y/z = -24/-44/48$ mm, $p_{FWE} < 0.001$), ii) dem linken visuellen Cortex (V2; Clustergröße: 364 Voxel, $x/y/z = -22/-84/32$ mm, $p_{FWE} < 0.001$). Vis. Assoziationsareale; Clustergröße: 340 Voxel, $x/y/z = -02/-76/02$ mm, $p_{FWE} < 0.001$) und iii) dem linken fusiformen Cortex (Clustergröße: 163 Voxel, $x/y/z = -18/-52/-10$ mm, $p_{FWE} = 0.010$).

Der exzitatorische Tonus des rechten insulären Cortex (Abbildung 14 B) korreliert hingegen positiv mit der Konnektivität des Thalamus mit i) dem kontralateralen S1 (Clustergröße: 139 Voxel, $x/y/z = 30/-24/72$ mm, $p_{FWE} = 0.033$), ii) drei Clustern innerhalb des sekundären somatosensorischen Cortex (S2₁; Clustergröße: 388 Voxel, $x/y/z = -10/-46/68$ mm, $p_{FWE} < 0.001$. S2₂; Clustergröße: 330 Voxel, $x/y/z = 12/-34/74$ mm, $p_{FWE} < 0.001$. S2₃; Clustergröße: 130 Voxel, $x/y/z = 36/-42/50$ mm, $p_{FWE} = 0.032$) und iii) Teilen des prämotorischen Cortex (Clustergröße: 162 Voxel, $x/y/z = -26/0/68$ mm, $p_{FWE} = 0.011$).

Für die Neurochemie des rechten Thalamus finden sich nur bezüglich der GABA+ Konzentration ein Zusammenhang mit der funktionellen Konnektivität, und das auch nur für eine der fünf ROI, der rechten Amygdala (Abbildung 14 C). Die Konnektivität zwischen Amygdala und PCC (Clustergröße: 749 Voxel, $x/y/z = 06/-56/30$ mm, $p_{FWE} < 0.001$) korreliert positiv mit dem GABAergen Tonus des rechten Thalamus.

5. Veröffentlichungen, Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte von nicht am Vorhaben beteiligten Forschungsstellen

Es gab keine Veröffentlichungen, Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte.

6. Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks/-ziels, Schlussfolgerungen

Für den Arbeitsschutz und die Ableitung präventiver Maßnahmen sind mögliche Ablenkungsprozesse von besonderer Bedeutung, da eine Beeinträchtigung der Aufmerksamkeit zu Fehlern und in der Folge zu Unfällen führen kann. Ziel dieses Forschungsprojektes war die Untersuchung der Expositions-Wirkungsbeziehung für Geruchs- und Reizstoffe im Hinblick auf Distractionseffekte (Leistungsminderung durch Ablenkung). Dabei wurden unterschiedliche Einflussfaktoren wie Expositionshöhe (Niedrigdosisbereich), Anforderungsniveau (z.B. schwierige Aufgaben im Sinne einer Überforderung) und individuelle Empfindlichkeit (z.B. Sensorische Hyperreaktivität) kombiniert, um das Zusammenwirken von Arbeitsbelastungen (Gestank und Stress) zu analysieren.

Der Bau und Einsatz eines MRT-fähigen Olfaktometers erlaubte erstmalig eine präzise, quantitative Stoffdarbietung. Das ermöglichte, die funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) als bildgebendes Verfahren zu nutzen, um die neuronalen Prozesse, die der Interaktion von Aufgabenschwierigkeit und Ablenkung in Abhängigkeit von der Expositionshöhe zugrunde liegen, sichtbar zu machen. Zudem wurde die funktionelle Konnektivität bestimmter Hirnregionen im Ruhezustand sowie die Bestimmung von GABA als Biomarker zur Identifikation und Charakterisierung von suszeptiblen Personengruppen genutzt.

Die Ergebnisse zeigen, dass mit zunehmender Geruchsstoffkonzentration bis zur individuellen Geruchsschwelle Aktivierungen in den typischen, für die Geruchsverarbeitung zuständigen Gehirnregionen erkennbar sind. Steigt die Geruchsstoffkonzentration weiter an bis zur individuellen Irritationsschwelle, so ist zusätzlich eine Aktivierung im Thalamus erkennbar, was auf die Beteiligung von schmerzverarbeitenden Zentren hinweist. Damit bestätigen die Ergebnisse die Hypothese, dass mit zunehmender Stoffkonzentration zunächst die entsprechenden olfaktorischen, dann die trigeminalen Gehirnareale aktiviert werden, jeweils bevor eine bewusste Geruchs- bzw. Reizwahrnehmung erfolgt.

Bei der Bearbeitung von Arbeitsgedächtnisaufgaben ohne Geruch ist das erwartete, typische Aktivierungsmuster in den entsprechenden Hirnarealen erkennbar. Wird gleichzeitig Benzaldehyd dargeboten, kommt es zu einer Reduktion dieser Aktivierung. Hier zeigt sich der postulierte Distractionseffekt: während die Aktivierung in den Geruch- und Reizverarbeitenden Gehirnarealen ansteigt, sinkt die Aktivierung in den Regionen, die mit der Aufgabenbearbeitung assoziiert sind. Allerdings zeigte sich der Distractionseffekt nicht auf der Verhaltensebene: mit zunehmender Stoffkonzentration war keine Leistungsbeeinträchtigung erkennbar.

Suszeptible Personen, hier mit sensorischer Atemwegshyperreaktivität („Capsaicinsensitive“), weisen eine erhöhte Schmerzsensitivität und eine erniedrigte mechanische Schmerzschwelle auf. Auch auf neuronaler Ebene zeigen sich Veränderungen in den Verbindungen zwischen dem olfaktorischen Kortex und dem Default-Mode Netzwerk. Vergleichbare Mechanismen treten bei chronischen Schmerzpatienten, wie z.B. bei Patienten mit Fibromyalgie und Patienten mit Schmerzen im unteren Rückenbereich, auf. Hier zeigt sich im Ansatz ein zentraler Wirkungsmechanismus, der auch beim chronischen Schmerzsyndrom erkennbar, dort jedoch um ein Vielfaches stärker ausgeprägt ist. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass auch bei gesunden Personen suszeptible Untergruppen mit erhöhter Sensitivität für Geruchs- und Reizstoffe abgegrenzt werden können, die auch bei anderen Wahrnehmungsmodalitäten Einbußen aufweisen.

Die Ergebnisse dieser Studie passen zu den Ergebnissen einer bildgebenden Studie, die zeigen konnte, dass akuter Stress die Arbeitsgedächtnisleistung beeinträchtigt und gleichzeitig die Verarbeitung emotionaler Reize fördert (Oei et al., 2012). Die Autoren schlussfolgerten, dass unter Stress der Fokus der Aufmerksamkeit auf den ablenkenden Reiz auf Kosten der Leistung verschoben wird. Mit der „fMRT-Olfaktometrie“ steht der DGUV eine weitere wichtige Untersuchungsmethode zur Verfügung, um im Kontext der aktuellen Diskussion zu „Stress am Arbeitsplatz“ wichtige Erkenntnisse für die Gefährdungsbeurteilung von Gefahrstoffen in Kombination mit psychischen Belastungen abzuleiten.

Zukünftig ist durch eine Verbindung von fMRT-Untersuchungen mit Humanstudien im Expositionslabor und epidemiologischen Studien, bei der beispielsweise auch direkt betroffene Arbeitnehmer in den Laborstudien untersucht werden, zu erwarten, dass der Transfer der Erkenntnisse in die Praxis noch besser gelingt. Betriebliche Akteure im Arbeits- und Gesundheitsschutz könnten direkt in die Forschung miteinbezogen werden und helfen, die betroffenen Arbeitnehmer über tatsächliche Risiken (Aufmerksamkeitsablenkung und erhöhtes Unfallrisiko) und „Pseudo“-Risiken (Geruchswahrnehmung ohne gesundheitliche Folgen) zu informieren.

Damit können die Ergebnisse in der Praxis dazu beitragen, die Kommunikation im Umgang mit Beschwerden aufgrund von Geruchs- und Reizstoffen zu verbessern und auf eine wissenschaftlich fundierte Basis zu stellen. Einerseits könnten Betroffene vor einer Stigmatisierung als „Simulanten“ bewahrt werden, andererseits aber auch besser informiert werden, um Missverständnissen und fehlerhaften Vorstellungen vorzubeugen.

Aus den in der Studie gewonnenen Erkenntnissen lassen sich jedoch nicht nur Maßnahmen für die Prävention ableiten. Vielmehr können regulatorische Gremien diese grundsätzlichen Erkenntnisse über die neuronalen Verarbeitungsprozesse während des Über-

gangs von rein geruchlichen zu sensorischen Reizeffekten für die Bewertung der Adversität nutzen. Bislang spielen Geruchsbelästigungen durch Arbeitsstoffe bei der Grenzwertsetzung keine oder nur eine untergeordnete Rolle, da Parameter für eine wissenschaftliche Beurteilung messbarer Schädigungsmuster fehlen. Aus den vorliegenden Daten lassen sich jetzt Dosis-Wirkungs-Beziehungen ableiten, die regulatorischen Gremien erlauben, adverse Effekte durch Geruchsbelästigung von den Stoffkonzentrationen zu diskriminieren, die keine schädigenden Wirkungen hervorrufen. Damit können die Unsicherheiten, die bisher bei der gesundheitlichen Bewertung von Reiz- aber auch Geruchseffekten bestehen, deutlich reduziert werden.

7. Aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan

Es besteht kein Plan zur Umsetzung und Verwertung.

8. Anhang

Unterschriftenseite verpflichtend für Kooperationsprojekte

Projektnummer: **FP 365**

Titel: **Anwendung der dynamischen Olfaktometrie für MRT-Untersuchungen von Reizstoffwirkungen**

Erklärung für das Berichtswesen in Kooperationsprojekten

Hiermit erklären die Unterzeichnenden, dass der zum 20.04.2017 vorgelegte

Abschlussbericht mit allen Kooperationspartnern abgestimmt ist.

----- Datum: 20.04.2017

Prof. Boris Suchan, Institut für Kognitive Neurowissenschaft, Abteilung Neuropsychologie, Ruhr-Universität Bochum

----- Datum: 20.04.2017

Prof. Martin Tegenthoff, Neurologische Klinik, Berufsgenossenschaftliches Universitätsklinikum Bergmannsheil

----- Datum: 20.04.2017

Prof. Thomas Brüning, Institut für Prävention und Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung - Institut der Ruhr-Universität Bochum (IPA)

Literatur

- Arts, J. H., de Heer, C., Woutersen, R. A. (2006). Local effects in the respiratory tract: relevance of subjectively measured irritation for setting occupational exposure limits. *Int Arch Occup Environ Health*, 79 (4), 283-298.
- Dalton, P., Jaen, C. (2010). Responses to odors in occupational environments. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 10 (2), 127-132.
- DFG, D. (2013). MAK- und BAT-Werte-Liste. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Hey, K., Juran, S. A., Schäper, M., Kleinbeck, S., Kiesswetter, E., Blaszkewicz, M., Golka, K., Brüning, T., van Thriel, C. (2009). Neurobehavioral effects during exposures to propionic acid - An indicator of chemosensory distraction? *Neurotoxicology*, 30 (6), 1223-1232.
- Hey, K., Kleinbeck, S., Schäper, M., Kiesswetter, E., Blaszkewicz, M., Zimmermann, A., Golka, K., van Thriel, C. (2009). Beeinflusst die chemosensorische Wahrnehmung von Acetaldehyd die kognitive Leistung? In: *Krank und trotzdem arbeiten? Der chronisch Kranke im Erwerbsleben: Dokumentation Deutsche Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V.*, 49. Wissenschaftliche Jahrestagung, 11.-14. März 2009 in Aachen (S. 739-742) / Hrsg. von Thomas Kraus, Monika Gube, Rosemarie Kohl. Deutsche Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V. Lübeck: DGAUM.
- Hey, K., Kleinbeck, S., Schäper, M., Kiesswetter, E., Blaszkewicz, M., Zimmermann, A., Golka, K., van Thriel, C. (2010). Ablenkung am Arbeitsplatz durch Geruch?: Experimentelle Untersuchung am Beispiel von Ethylacrylat. In: *Transport und Verkehr: Dokumentation der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V.*; 50. wiss. Jahrestagung, 16.-19. Juni 2010 in Dortmund (S. 144-147) / Hrsg. von Barbara Griefahn, Klaus Golka, Jan G. Hengstler, Hermann M. Bolt. Lübeck: DGAUM.
- Hummel, T. (2000). Assessment of intranasal trigeminal function. *Int J. Psychophysiol*, 36 (2), 147-155.
- Juran, S. A., van Thriel, C., Kleinbeck, S., Schäper, M., Falkenstein, M., Iregren, A., Johanson, G. (2012). Neurobehavioral performance in human volunteers during inhalation exposure to the unpleasant local irritant cyclohexylamine. *Neurotoxicology*, 33 (5), 1180-1187.
- Kleinbeck, S., Juran, S. A., Kiesswetter, E., Schäper, M., Blaszkewicz, M., Brüning, T., van Thriel, C. (2008). Evaluation of ethyl acetate on three dimensions: Investigation of

behavioral, physio-logical and psychological indicators of adverse chemosensory effects. *Toxicology Letters*, 182 (1-3), 102-109.

Kobal, G., van Toller, S., Hummel, T. (1989). Is there directional smelling? *Experientia*, 45 (2), 130-132.

Oei, N. Y., Veer, I. M., Wolf, O. T., Spinhoven, P., Rombouts, S. A., Elzinga, B. M. (2012). Stress shifts brain activation towards ventral 'affective' areas during emotional distraction. *Soc Cogn Affect Neurosci*, 7 (4), 403-412.

Paustenbach, D. J., Gaffney, S. H. (2005). The role of odor and irritation, as well as risk perception, in the setting of occupational exposure limits. *Int Arch Occup Environ Health*, 79 (4), 339-342.

Schäper, M., Kleinbeck, S., Kiesswetter, E., Blaszkewicz, M., Lehmann, M.-L., Golka, K., Brüning, T., van Thriel, C. (2010). Sensorische Irritationswirkungen versus emotionale Reaktion: Ergebnisse aus experimentellen Schwefelwasserstoffexpositionen. In: *Transport und Verkehr: Dokumentation der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V.; 50. wiss. Jahrestagung, 16.-19. Juni 2010 in Dortmund (S. 148-152) / Hrsg. von Barbara Griefahn, Klaus Golka, Jan G. Hengstler, Hermann M. Bolt. Lübeck: DGAUM.*

Sucker, K., Both, R., Bischoff, M., Guski, R., Krämer, U., Winneke, G. (2008). Odor frequency and odor annoyance Part II: dose-response associations and their modification by hedonic tone. *Int Arch Occup Environ Health*, 81 (6), 683-694.

Sucker, K.; Müller, F.; Both, R. (2006). Bericht zu Expositions-Wirkungsbeziehungen, Geruchshäufigkeiten, Intensität, Hedonik und Polaritätenprofilen. *Materialien Band 73*. Essen: Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen.