

Aus der Klinik für Neurologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Beeinträchtigungen des Riechvermögens bei
Patient*innen mit Autoimmunenenzephalitis**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Rohat Geran

aus Göttingen

Datum der Promotion: 26. Juni 2022

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	3
1. Zusammenfassung der Publikationspromotion	4
1.1 Abstract.....	4
1.1.1 Abstract auf Deutsch.....	4
1.1.2 Abstract in English.....	5
1.2 Einführung und Zielsetzung.....	6
1.3 Material und Methoden.....	7
1.3.1 Ein – und Ausschlusskriterien.....	8
1.3.2 Becks-Depressions-Inventar-II (BDI-II)	8
1.3.3 Mini-Mental-Status-Test (MMST).....	9
1.3.4 Modifizierte Rankin-Skala (mRS).....	9
1.3.5 Orthonasale Olfaktometrie.....	9
1.3.6 Objektive Olfaktometrie.....	10
1.3.7 Gustometrie.....	10
1.3.8 Statistische Analyse.....	11
1.4 Ergebnisse.....	11
1.4.1 Studie 1.....	11
1.4.2 Studie 2.....	14
1.5 Diskussion.....	16
1.6 Literaturverzeichnis.....	20
2. Eidesstattliche Versicherung	25
3. Anteilserklärung	26
4. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen	28
4.1. Publikation 1.....	28
4.2. Publikation 2.....	37
4.3. Publikation 3.....	44
5. Lebenslauf	49
6. Vollständige Publikationsliste	50
7. Danksagung	51

Abkürzungsverzeichnis

AE	Autoimmunenzephalitis
AK	Antikörper
ANOVA	Varianzanalyse (analysis of variance)
BO	Bulbus olfactorius
BDI-I/II	Beck-Depressions-Inventar-I/II
COVID-19	Coronavirus-Krankheit-2019/ coronavirus disease 2019
DTI	Diffusions-Tensor-Bildgebung
EEG	Elektroenzephalographie
EP	Evozierte Potentiale
GK	Gesunde Kontrollen
HC	Healthy controls
HSE	Herpes-simplex-Enzephalitis
MMST	Mini-Mental-Status-Test
mRS	Modified Rankin Scale/ modifizierte Rankin-Skala
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
NMO	Neuromyelitis optica
OEP	Olfactory evoked potentials/ Olfaktorisch evozierte Potentiale
OF	Olfactory function
OFC	Orbitofrontaler Kortex
PPMS	Primär progrediente Multiple Sklerose
RRMS	Schubförmig remittierende Multiple Sklerose
SDI	Schwellen-Diskrimination-Identifikation-Test
TDI	Threshold-Discrimination-Identification
TST	Taste-Strip-Test
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Zusammenfassung

1.1. Abstract

1.1.1. Abstract auf Deutsch

Das olfaktorische System stellt eine bedeutsame Schnittstelle zwischen dem Nerven- und dem Immunsystem dar. Bei zahlreichen neuroimmunologischen Erkrankungen wurde eine Beeinträchtigung des olfaktorischen Systems beschrieben.

In Studie 1 wurde zum damaligen Zeitpunkt erstmals das Riech – und Schmeckvermögen von Patient*innen mit Autoimmunenzephalitis (AE) untersucht. Die psychophysische Testung erfolgte mithilfe des Schwellen-Diskrimination-Identifikation-Tests (SDI) und des Taste-Strip-Tests (TST). Olfaktorisch evozierte Potentiale (OEP) wurden zur objektivierenden Testung des Riechvermögens in einer Subanalyse abgeleitet. In die Studie konnten 32 Patient*innen (7 Patient*innen mit Antikörper (AK) gegen intrazelluläre, neuronale Antigene, 7 Patient*innen mit AK gegen synaptische Rezeptoren, 12 Patient*innen mit AK gegen Ionenkanäle und andere neuronale Oberflächenantigene sowie 6 seronegative Patient*innen) eingeschlossen werden. Die nach Alter und Geschlecht übereinstimmende Kontrollgruppe (GK) bestand aus 32 gesunden Kontrollen. Bei AE-Patient*innen wurden in der orthonasalen und objektiven Olfaktometrie eine signifikante Verminderung des Riechvermögens und in der subjektiven Gustometrie eine signifikante Verminderung des Schmeckvermögens identifiziert. Das Ergebnis im SDI-Test korrelierte dabei signifikant mit der Selbsteinschätzung hinsichtlich des Riechvermögens. Ein Zusammenhang mit Alter, Geschlecht, AK-Typ, Krankheitsdauer sowie körperlichem Behinderungsgrad konnte nicht festgestellt werden.

In Studie 2 wurde das Riechvermögen von Patient*innen mit primär progredienter Multipler Sklerose (PPMS) und schubförmig remittierender Multipler Sklerose (RRMS) mithilfe des SDI miteinander verglichen. In der Multiplen Sklerose (MS) Studie konnten jeweils 32 Studienteilnehmende für die Gruppen PPMS, RRMS und GK rekrutiert werden. Unabhängig von Krankheitsdauer und körperlicher Beeinträchtigung fand sich bei PPMS-Patient*innen im Vergleich zu RRMS-Patient*innen signifikant häufiger und stärker eine Minderung des Riechvermögens.

Zusammenfassend unterstützten die Ergebnisse unserer Studien die Assoziation von Riechstörungen mit verschiedenen neuroimmunologischen Erkrankungen.

1.1.2. Abstract in English

The olfactory system is a unique intersection between the nervous and the immune system. Olfactory dysfunction was described in numerous neuroimmunological disorders. In study 1 olfactory and gustatory function was to our knowledge examined for the first time in patients with autoimmune encephalitis (AE). Psychophysical examinations were performed with the Threshold Discrimination Identification (TDI) score for olfactory function (OF) and with the Taste Strips test (TST) for gustatory function. Olfactory evoked potentials (OEP) were recorded for objective olfactometry in a subanalysis. We recruited 32 AE patients (7 with antibodies against intracellular antigens, 7 with antibodies against synaptic receptors, 12 with antibodies against ion channels and other cell-surface proteins, 6 seronegative), and 32 age- and sex-matched healthy controls (HC). In AE patients a significant decrease in OF was shown both in orthonasal and objective olfactometry, as well as a significant reduced gustatory function (GF) in subjective gustometry. The TDI score correlated significantly with the subjective estimation of the olfactory capacity on a visual analog scale. Neither age, sex, modified Rankin Scale (mRS) nor disease duration showed any correlation with the composite TDI score.

In study 2 OF of patients with primary progressive multiple sclerosis (PPMS) was compared with OF of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS) using the TDI score. Overall 64 patients (32 PPMS patients, 32 RRMS patients) and 32 HC participated in the MS study. Olfactory dysfunction was more frequent and severe in patients with PPMS compared to patients with RRMS independent of disease duration and degree of disability.

In conclusion, the results of our studies supported the association of olfactory dysfunction with various neuroimmunological disorders.

1.2. Einführung und Zielsetzung

Im Rahmen von Enzephalitiden kann es zu schweren strukturellen Schäden des Gehirns kommen. Unter den möglichen Differentialdiagnosen nehmen die antikörpervermittelten Autoimmunenzephalitiden (AE), insbesondere unter Berücksichtigung der stetigen Weiterentwicklung der diagnostischen Möglichkeiten in den vergangenen 15 Jahren, zunehmend eine wichtige Rolle ein. Unter dem Begriff AE sind heterogene Krankheitsbilder mit subakutem Beginn und mit einem breiten Symptomenspektrum von progredienten mnestischen Störungen und neuropsychiatrischen Veränderungen bis zu epileptischen Anfällen subsumiert(1). Im Gegensatz zu den onkoneuralen, meist paraneoplastischen Antikörpern (AK), bei denen in der Mehrheit der Fälle intrazelluläre Proteine das Target sind und die, bei am ehesten T-Zell-vermitteltem Schädigungsmechanismus, eher ein Epiphänomen zu sein scheinen, richtet sich eine Gruppe neu entdeckter, pathogener Autoantikörper gegen neuronale Oberflächenstrukturen, im engeren Sinne gegen neuronale Rezeptoren und synaptische Proteine, vorwiegend in Teilen des limbischen Systems(2, 3). Patient*innen mit AE sprechen gut auf eine Immuntherapie an, die Prognose ist somit deutlich besser als bei Patient*innen mit paraneoplastischen Antikörpern. Umso wichtiger ist eine frühe und richtige differentialdiagnostische Zuordnung(4). Zur Diagnosestellung werden, neben der klinischen Untersuchung und dem Antikörperbefund in Liquor und Serum, wegweisende Befunde in einer kranialen MRT-Bildgebung, im Liquor und im EEG, sowie der Ausschluss anderer möglicher Ursachen gefordert(1). Ein Teil der Prozessierung olfaktorischer und gustatorischer Signale findet im sekundären olfaktorischen Kortex statt, welcher Teil des limbischen Systems ist(5, 6). Davon ausgehend wurde die Hypothese, dass Störungen im limbischen System zu olfaktorischer und gustatorischer Dysfunktion bei AE-Patient*innen führen, in dieser Studie geprüft(7, 8). Zur Untersuchung des Riechvermögens wurde der dreiteilige Schwellen-Diskrimination-Identifikation-Test (SDI-Test) verwendet. In einer Substudie wurden olfaktorisch evozierte Potentiale (OEP) abgeleitet. Klinische Daten, wie der modifizierte Rankin-Skala-Wert (mRS), die Krankheitsdauer und die verschiedenen AK wurden bei der Auswertung berücksichtigt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, erstmalig das Riech- und Schmeckvermögen bei AE-Patient*innen zu untersuchen und hinsichtlich einer möglichen Korrelation mit Antikörper-Typ, Alter der Patient*innen, Krankheitsdauer und -schwere zu überprüfen. Bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen, wie beim idiopathischen Parkinson-

Syndrom, der Demenz vom Alzheimer-Typ und bei der Multiplen Sklerose (MS), haben Riechstörungen eine diagnostische und prognostische Bedeutung (9-11). Inwieweit sich dieses Symptom jedoch zwischen verschiedenen Verlaufsformen der MS unterscheidet oder an welchem Punkt im Krankheitsverlaufs es zu Einschränkungen des Geruchssinns kommt, ist bisher nicht gut untersucht. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde als zusätzliche Fragestellung das Riechvermögen zwischen Patient*innen mit primär progredienter MS (PPMS) und schubförmig remittierender MS (RRMS) verglichen.

1.3. Material und Methoden

Im Jahr 2015 genehmigte die Ethikkommission der Charité die Studie zur Untersuchung des Riechvermögens bei Patient*innen mit Autoimmunenenzephalitis in einer prospektiven Fall-Kontroll-Studie. Die Patient*innenaufklärung fand mittels eines Informationsblattes und eines individuellen Gesprächs statt. Eine schriftliche Einverständniserklärung war Voraussetzung zur Teilnahme an der Studie. Die Einschlusskriterien wurden von insgesamt 32 AE-Patient*innen (14 Frauen, 18 Männer, 18-75 Jahre) erfüllt. 26 Patient*innen waren seropositiv, davon 7 mit AK gegen intrazelluläre Antigene und 19 mit AK gegen neuronale Oberflächenantigene, und 6 Patient*innen waren seronegativ. Die Ein- und Ausschlusskriterien wurden nach neurologischer und HNO-ärztlicher Untersuchung, sowie anhand von zwei, für die Studie entworfenen Fragebögen berücksichtigt. Die Rekrutierung erfolgte auf der allgemeinneurologischen Station der Charité Campus Mitte und in der Spezialsprechstunde für Enzephalitis und Paraneoplasien. Die GK bestanden aus 32 Personen, die nach Geschlecht und Alter mit den AE-Patient*innen übereinstimmten. Es fand keine gesonderte Dokumentation gescreenter Patient*innen statt. Analog wurde bei Studie 2 vorgegangen. Die Ethikkommission der Charité genehmigte die Studie zur Untersuchung des Riechvermögens von Patient*innen mit MS ebenfalls in einer prospektiven Fall-Kontroll-Studie. Patient*innenaufklärung und schriftliche Einverständniserklärung waren die Voraussetzung für die Studienteilnahme. Die Einschlusskriterien wurden von 32 PPMS-Patient*innen (13 Frauen, 19 Männer, 53.4 ± 9.3 Jahre) und 32 RRMS-Patient*innen (22 Frauen, 10 Männer, 35.5 ± 9.3 Jahre) erfüllt. Auch in Studie 2 wurden die Ein- und Ausschlusskriterien nach neurologischer und HNO-ärztlicher Untersuchung, sowie anhand von zwei, für die Studie entworfenen Fragebögen berücksichtigt. Hier erfolgte die Rekrutierung auf der allgemeinneurologischen Station der Charité Campus Mitte und in

der Sprechstunde für MS und chronisch-entzündliche Erkrankungen des zentralen Nervensystems (ZNS). Die GK in der Studie 2 bestanden aus 32 Personen, die nach Alter mit den PPMS-Patient*innen übereinstimmten.

1.3.1. Ein – und Ausschlusskriterien

In Studie 1 wurden Patient*innen mit der Diagnose AE nach aktuellen Kriterien und in Studie 2 Patient*innen mit der gesicherten Diagnose MS nach den McDonald-Kriterien (revidierte Fassung 2010) eingeschlossen(1, 12). Als Ausschlusskriterien waren in beiden Studien vorbestehende Riechstörungen anderer Genese (sinusal: obstruktiv, allergisch, akut infektiös; postviral/postinfektiös, posttraumatisch, medikamentös, toxisch), Schwangerschaft sowie Erkrankungen, die mit Riechstörungen assoziiert sind (u.a. Demenz vom Alzheimer-Typ, Morbus Parkinson, atypische Parkinson-Syndrome, Chorea Huntington, Depression), definiert. Aufgrund steigender Prävalenz von Riechstörungen im höheren Alter konnten Patient*innen über 75 Jahren nicht an den Studien teilnehmen. Zum Ausschluss einer Depression wurde das Beck-Depressions-Inventar-II (BDI-II) genutzt (siehe Abschnitt „Beck-Depressions-Inventar-II“), zum Ausschluss einer Demenz vom Alzheimer-Typ der Mini-Mental-Status-Test (MMST; siehe Abschnitt „Mini-Mental-Status-Test“). Patient*innen mit höhergradiger körperlicher Beeinträchtigung wurden bei einem mRS-Wert > 3 nicht in die Studie eingeschlossen (siehe Abschnitt „modifizierte Rankin-Skala“). Um Ursachen für sinusale Riechstörungen (Schleimhaut- oder Muschelschwellungen, Schleimhautgeschwüre, Polypen, Missbildungen, Tumoren oder Fremdkörpern) ausschließen zu können, wurde eine HNO-ärztliche Untersuchung durchgeführt.

1.3.2. Becks-Depressions-Inventar-II (BDI-II)

Das Becks-Depressions-Inventar-II ist ein weit verbreitetes Testverfahren zum Screening depressiver Symptomatik und zur Erfassung des Schweregrads (Reliabilität $r=0.83-0.96$, diagnostische Validität im Vergleich zum BDI-I $r=0.82-0.94$)(13, 14). In dem Selbstbeurteilungsverfahren, abgebildet in einem Fragebogen bestehend aus 21 Fragen, können zwischen 0 und 63 Punkte erreicht werden. Laut Anhang 1 der S3-Leitlinie/Nationale Versorgungsleitlinie unipolare Depression sprechen Werte bis 12 Punkte für keine bzw. eine klinisch unauffällige oder remittierte Depression, Werte zwischen 13 und 19 Punkten für ein leichtes depressives Syndrom, Werte zwischen 20

und 28 Punkten für ein mittelgradiges und ab 29 Punkten für ein schweres depressives Syndrom(15). In einer Metaanalyse wurde der optimale Cut-Off-Wert mit 14.5 Punkten ermittelt (Sensitivität 0.86, Spezifität 0.78) (14). Als Einschlusskriterium für unsere Studie wurde ein BDI-II-Wert unter 15 Punkten festgelegt.

1.3.3. Mini-Mental-Status-Test (MMST)

Der Mini-Mental-Status-Test ist ein Screeningverfahren für kognitive Störungen(16). Insbesondere wird es in der klinischen Diagnostik und Forschung dementieller Syndrome angewandt und umfasst 30 Items. Es werden Orientierung, Gedächtnis, Aufmerksamkeit, Sprache und Visokonstruktion geprüft. Werte von unter 24 Punkten weisen auf kognitive Defizite hin. Als Einschlusskriterium für unsere Studie wurde eine Mindestpunktzahl von 25 festgelegt.

1.3.4. Modifizierte Rankin-Skala (mRS)

Zum Ausmaß der körperlichen Behinderung nach Schlaganfällen und anderen neurologischen Erkrankungen wird die standardisierte mRS verwendet(17). Die Skala umfasst den Bereich von vollständiger Gesundheit mit „keine Symptome“ (0 Punkte) bis zu „Tod“ (6 Punkte). Zur Teilnahme an unserer Studie wurde ein mRS-Wert von < 4 als Einschlusskriterium definiert.

1.3.5. Orthonasale Olfaktometrie

Orthonasal wurde das Riechvermögen mit dem dreiteiligen SDI-Test (Sniffin' Sticks Extended Test, Burghart Messtechnik GmbH, Wedel, Deutschland) untersucht(18). Die Reliabilität der Subtests wurde für den Schwellentest mit $r=0.92$, für den Diskriminationstest mit $r=0.80$ und für den Identifikationstest mit $r=0.88$ ermittelt(19). Die Geruchswahrnehmungsschwelle wird mithilfe einer 16-stufigen Verdünnungsreihe des Duftstoffes n-Butanol bestimmt. Der Diskriminationstest besteht auf 48 Riechstiften (16 Riechstoffpaare mit je einem zusätzlichen Einzelgeruch) und prüft die Unterscheidungsfähigkeiten zwischen verschiedenen Gerüchen. Der Identifikationstest setzt sich aus 16 Riechstiften mit Alltagsgerüchen zusammen, die aus vier Antwortmöglichkeiten richtig zu benennen sind. Ein SDI-Wert < 16 Punkten bedeutet eine funktionelle Anosmie, zwischen 16 und 30 Punkten eine Hyposmie und > 30 Punkte eine Normosmie(18).

1.3.6. Objektive Olfaktometrie

Zur objektivierenden Testung des Riechvermögens wurden olfaktorisch evozierte Potentiale (OEP) nach den Richtlinien der Arbeitsgruppe „Standardisierung von Riech- und Schmeckprüfungen“ der Arbeitsgemeinschaft Olfaktologie/Gustologie der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Halschirurgie abgeleitet(20). Zur Reizdarbietung wurde ein computergesteuertes Olfaktometer (OM 2/S Olfaktometer, Burghart Messtechnik GmbH) verwendet. Zur Auslösung der OEP wurden die beiden Olfaktoriusreizstoffe Schwefelwasserstoff und Phenylethylalkohol und zur Auslösung trigeminaler evozierter Potentiale (EP) Kohlenstoffdioxid appliziert(21-23). Die Reizdarbietung erfolgte über einen mit einer Nasensonde endenden Riechschlauch bei standardisierten Bedingungen mit einem konstanten Luftfluss von 7,5 Liter/ Minute, einer Lufttemperatur am Olfaktometerausgang von 37°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 70 %(20). Zur Vermeidung einer Gewöhnung an die wiederholte Reizung wurden die Reizstoffe in verschiedener Intensität bei einem randomisierten Reizintervall von 30-45s mit einer Reizdauer von ca. 200ms jeweils der rechten und linken Nasenöffnung angeboten. Zur Optimierung der Ableitung der EP in der Elektroenzephalographie (EEG) wurde eine Vigilanzstabilisierung der Patient*innen mittels eines einfachen Videospiele durchgeführt. Zur Abschätzung der topographischen Verteilung der EP erfolgte die Ableitung von den Elektrodenpositionen Fz, Cz und Pz monopolar gegen A1(24). Die OEP wurden nach Mittelung von 10 Einzelaufnahmen hinsichtlich ihrer hauptsächlich Negativität (N) mit einer Latenz von 200-700ms und der hauptsächlich Positivität (P) mit einer Latenz von 300-800ms vermessen, wobei trigeminale Potenziale etwas früher als olfaktorische auftreten. Das Amplitudenmaximum der olfaktorischen Potenziale ist bei Pz zu erwarten, wohingegen die trigeminalen Reizantworten ein Amplitudenmaximum bei Cz aufweisen(25).

1.3.7. Gustometrie

Zur Geschmacksprüfung wurde mittels Papierteststreifen der „Taste Strip Test“ (TST; Burghart Messtechnik GmbH) angewandt(26). In dem 16-stufigen Test werden die Geschmacksqualitäten süß, sauer, salzig und bitter in jeweils vier verschiedenen Konzentrationen geprüft. Eine Geschmacksminderung liegt bei einem Wert von weniger als 9 von maximal 16 Punkten vor.

1.3.8. Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde mittels SPSS (Versionen 22.0, 23.0 und 25.0; IBM Statistics for Windows, Armonk, NY: IBM Corp.) durchgeführt. Für die Erstellung der Graphiken wurde GraphPad Prism 7.03 (GraphPad Software Inc., La Jolla, USA) verwendet. Um die Zielgrößen miteinander zu vergleichen und auf Unterschiede zwischen den Werten zu prüfen, wurden für normalverteilte Variablen der t-Test und für nicht normalverteilte Variablen der Mann-Whitney-U-Test, Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test und den Kruskal-Wallis-Test verwendet. Um den Einfluss verschiedener Variablen zu untersuchen, wurde eine Varianzanalyse mittels ANOVA durchgeführt. Regressionskoeffizienten wurden mittels bivariater und multivariater Regressionsanalyse bestimmt. Das Signifikanzniveau wurde auf $p=0,05$ festgelegt. Zusammenhänge zwischen den einzelnen Werten wurden mittels Spearman- oder Pearson-Korrelation untersucht.

1.4. Ergebnisse

1.4.1. Studie 1

Olfactory and Gustatory Dysfunction in Patients With Autoimmune Encephalitis; Front Neurol (2019)

Die Ableitung olfaktorisch evozierter Potenziale in Patienten mit limbischer Enzephalitis; Klin Neurophysiol (2019)

Insgesamt wurden 32 AE-Patient*innen und 32 gesunde Kontrollpersonen mit orthonasaler Olfaktometrie, Gustometrie sowie mit BDI-II, MMST und mRS untersucht. Bei 19 AE-Patient*innen wurden in einer Substudie zusätzlich OEP abgeleitet. Die Ergebnisse der Substudie wurden separat publiziert und variieren aufgrund der unterschiedlichen Patientenzahl leicht von der Hauptpublikation. Die demographischen und klinischen Daten der Patientenkohorte für diese Studie sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Demographische und klinische Daten	AE (n = 32)	GK (n = 32)
Geschlecht		
weiblich (%)	14 (44)	14 (44)
männlich (%)	18 (56)	18 (56)
Alter (in Jahren), Mittelwert (SA)	52.5 (17.8)	52.0 (17.5)
Krankheitsdauer (in Monaten), Median (IQR)	19.3 (10.3-25.0)	-

Tumornachweis (%)	4 (12.5)	-
Modifizierte Rankin Skala, Mittelwert (SA)	1.7 (1.1)	-
Mini Mental Status Test, Mittelwert (SA)	27.8 (1.7)	-
Beck-Depressions-Inventar-II, Mittelwert (SA)	8.0 (7.1)	-
Akuttherapie (%)	15 (47)	-
Kortikosteroide intravenös (%)	3 (9)	-
Plasmapherese (%)	8 (25)	-
Immunglobuline intravenös (%)	4 (13)	-
Langzeit-Immunsuppression (%)		-
Kortikosteroide oral (%)	7 (22)	-
Rituximab (%)	11 (34)	-
Bortezomib (%)	1 (3)	-
Antikörper gegen intrazelluläre Antigene (%)	7 (22)	-
Hu (%)	2 (6)	-
CV2 (%)	1 (3)	-
GAD (%)	4 (13)	-
Antikörper gegen synaptische Rezeptoren (%)	7 (22)	-
NMDA-Rezeptor (%)	4 (13)	-
AMPA-Rezeptor (%)	1 (3)	-
GABA _B -Rezeptor (%)	1 (3)	-
mGluR5 (%)	1 (3)	-
Antikörper gegen Ionenkanäle und andere	12 (38)	-
Zelloberflächenproteine (%)		
LGI1 (%)	6 (19)	-
CASPR2 (%)	2 (6)	-
VGCC (%)	1 (3)	-
DPPX (%)	1 (3)	-
nicht charakterisiert (%)	2 (6)	-
Oligoklonale Banden (%)	6 (19)	-

Abkürzungen: AE = Autoimmunenzephalitis; GK = Gesunde Kontrollen; IQR = Interquartilsabstand; SA = Standardabweichung; GAD = Glutamat-Decarboxylase; NMDA = N-Methyl-D-Aspartat; AMPA = α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionsäure; GABA = γ -Amino-Buttersäure; mGluR5 = Metabotroper Glutamatrezeptor 5; LGI1 = Leucin-reich-Gliom-induziertes Protein-1; CASPR2 = Contactin-assoziiertes Protein-Rezeptor 2; VGCC = spannungsabhängiger Kalziumkanal; DPPX = Dipeptidyl-Peptidase-like Protein-6

Tabelle 1. Demographische und klinische Daten von AE-Patient*innen und gesunden Kontrollen(27)

	AE	GK	p-Wert
SDI, Mittelwert (SA)	24.0 (9.2)	34.8 (2.3)	< 0.001
Hyposmie (%)	17 (53)	0	
Hyposmie, Mittelwert (SA)	25.7 (3.3)	-	
Anosmie (%)	7 (22)	0	
Anosmie, Mittelwert (SA)	9.1 (4.2)	-	
Riechschwelle, Mittelwert, (SA)	5.3 (3.2)	7.8 (1.4)	< 0.001
Diskrimination, Mittelwert (SA)	9.1 (3.8)	12.3 (1.4)	< 0.001
Identifikation, Mittelwert (SA)	9.6 (3.8)	14.6 (0.7)	< 0.001
TST, Mittelwert (SA)	10.2 (3.4)	13.5 (1.1)	< 0.001
Hypogeusie (%)	5/19 (26)	0/32 (0)	
Hypogeusie, Mittelwert (SA)	5.8 (1.7)	-	
OEP, pathologisch (Ja/Nein)	12/7	-	

Abkürzungen: AE = Autoimmunenzephalitis; GK = Gesunde Kontrollen; SA = Standardabweichung;

OEP = Olfaktorisch evozierte Potentiale; SDI = Schwellen-Diskrimination-Identifikation-Test; TST = Taste-Stripe-Test

Tabelle 2. Ergebnisse der orthonasalen und objektiven Olfaktometrie sowie der Gustometrie(27, 28)

Bei 24 AE-Patient*innen fand sich im SDI-Test eine Riechstörung (75 %), davon zeigten 17 Patient*innen eine Hyposmie (53 %) und 7 Patient*innen (22 %) eine Anosmie. Bei allen GK stellten sich in Studie 1 im SDI-Test eine uneingeschränkte Riechfunktion dar. Der SDI-Mittelwert der AE-Patient*innen (24.0 ± 9.2) unterschied sich vom SDI-Mittelwert der GK (34.8 ± 2.3) signifikant ($p < 0.001$, $r = 0.87$). Auch in den Einzeltestungen zeigte sich im Schwellentest ($p < 0.001$, Cohen's d 1.15), im Diskriminationstest ($p < 0.001$, Cohen's d 1.39) und im Identifikationstest ($p < 0.001$, $r = 0.85$) ein signifikanter Unterschied zwischen AE-Patient*innen und GK. Zwischen Frauen (25.9 ± 6.7) und Männern (22.5 ± 10.3) stellte sich im SDI-Test bei AE-Patient*innen kein signifikanter Unterschied dar ($p = 0.424$). Im Identifikationstest erreichen Spezifität und positiver prädiktiver Wert bei einem Cut-off-Wert von 13 Punkten jeweils 97 %, um zwischen AE-Patient*innen und GK zu unterscheiden. Die Sensitivität im Identifikationstest war 88 %, der negative prädiktive Wert 89 %. Bei 19 AE-Patient*innen wurden mittels Olfaktometer OEP abgeleitet. Es wurden bei allen AE-Patient*innen in der objektiven Olfaktometrie pathologische OEP detektiert, die im SDI-Test eine Hyposmie oder Anosmie hatten. Wiederum zeigten sich

bei den AE-Patient*innen, die im SDI-Test eine uneingeschränkte Riechfunktion hatten, unauffällige OEP. In der Gustometrie fand sich bei 26.3 % (5/19) der AE-Patient*innen eine Hypogeusie. Die GK zeigten alle eine Normogeusie, Der TST-Mittelwert der AE-Patient*innen (10.2 ± 3.4) unterschied sich vom TST-Mittelwert der GK (13.5 ± 1.1) signifikant ($p < 0.001$). Die Effektstärke berechnete sich mit Cohen's d 1.13. Nach qualitativen Geruchsstörungen befragt, berichteten zwei AE-Patient*innen (6.25 %) von Phantosmien. Bei den GK wurden keine Einschränkungen des Riechvermögens berichtet. In einem linearen Regressionsmodell konnte gezeigt werden, dass Parameter wie MMST, mRS, BDI, Alter und Krankheitsdauer keinen Einfluss auf die olfaktorische oder gustatorische Funktion haben. Darüber hinaus konnte auch gezeigt werden, dass die Art der Autoantikörper keinen signifikanten Einfluss auf den SDI-Testwert (Chi-Square = 1.531, $p = 0.675$, $r = 0.41$) im Kruskal-Wallis-Test und auf den TST-Testwert [$F_{(3,15)} = 0.707$, $p = 0.563$, $\eta^2 = 0.12$] in einer ANOVA hat.

1.4.2. Studie 2

Olfactory dysfunction in patients with primary progressive MS; Neuro Neuroimmunol Neuroinflamm 2017

Insgesamt wurden 64 Patient*innen mit MS, davon 32 mit einer PPMS und 32 mit einer RRMS, sowie 32 GK in die Studie 2 eingeschlossen. Die demographischen und klinischen Daten der Patientenkohorte für diese Studie sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

	PPMS (n =32)	RRMS (n = 32)	GK (n = 32)	p-Wert (PPMS vs RRMS)	p-Wert (PPMS vs GK)	p-Wert (RRMS vs GK)
Alter (in Jahren),						
Mittelwert (SA)	53.4 \pm 9.3	35.5 \pm 9.3	51.9 \pm 17.6	<0.001	0.68	<0.001
Geschlecht:						
weiblich (%)	13 (40.6%)	22 (68.8%)	17 (53.1%)	0.044	0.45	0.31
Riechschwelle,						
Mittelwert (SA)	5.3 \pm 2.6	6.8 \pm 2.2	7.8 \pm 1.4	0.016	<0.001	0.034
Riechdiskrimination,						
Mittelwert (SA)	9.3 \pm 2.2	12.4 \pm 2.3	12.3 \pm 1.4	<0.001	<0.001	0.84
Riechidentifikation,						
Mittelwert (SA)	10.9 \pm 3.7	13.0 \pm 1.5	14.6 \pm 0.7	0.004	<0.001	<0.001
SDI, Mittelwert (SA)	25.4 \pm 6.1	32.2 \pm 4.2	34.8 \pm 2.1	<0.001	<0.001	
Qualitative Olfaktion						

Normosmie (%)	2 (6 %)	19 (59 %)	31 (97 %)	<0.001	<0.001	<0.001
Hyposmie (%)	26 (81 %)	13 (41 %)	1 (3 %)			
Anosmie (%)	4 (13 %)	0 (0 %)	0 (0 %)			
EDSS,						
Mittelwert (SA)	4.9 ± 2.1	2.6 ± 1.8	-	<0.001	-	-
Krankheitsdauer (in						
Jahren), Mittelwert						
(SA)	11.3 ± 8.4	5.6 ± 5.9	-	0.002	-	-

Abkürzungen: EDSS = Expanded Disability Status Scale; GK = Gesunde Kontrollen; PPMS = Primär progrediente Multiple Sklerose; RRMS = Schubförmig remittierende Multiple Sklerose; SA = Standardabweichung.

Tabelle 3. Demographische und klinische Daten von MS-Patient*innen und gesunden Kontrollen(29)

Von den PPMS-Patient*innen hatten 81 % eine Hyposmie und 13 % eine Anosmie, von den RRMS-Patient*innen boten 41 % eine Hyposmie und keine*r eine Anosmie. Bei einer GK fand sich in Studie 2 eine Hyposmie. Der SDI-Mittelwert der PPMS-Patient*innen (25.4 ± 6.1) war signifikant niedriger sowohl im Vergleich zum SDI-Mittelwert der RRMS-Patient*innen (32.2 ± 4.2 , $p < 0.001$) als auch zu dem der GK (34.8 ± 2.1 , $p < 0.001$). In den Einzeltestungen fand sich im Schwellentest, im Diskriminationstest und im Identifikationstest (jeweils $p < 0.001$) ein signifikanter Unterschied zwischen PPMS-Patient*innen und GK. In multivariaten Modellen, adjustiert nach Alter, Geschlecht, Krankheitsdauer und EDSS, bestätigten sich signifikante Unterschiede im SDI-Test und in den Einzeltestungen der Diskrimination und Identifikation (Tabelle 4).

	Riechschwelle	Diskrimination	Identifikation	SDI
PPMS (vs RRMS)	-0.86(-2.71-0.99), $p=0.36$	-1.87(-3.54--0.20), $p=0.03^*$	-2.32(-4.55--0.10), $p=0.04^*$	-5.00(-9.05--0.95), $p=0.02^*$
Alter (in Jahren)	-0.04 (-0.11-0.04), $p=0.31$	-0.04 (-0.10-0.03), $p=0.28$	0.02 (-0.07-0.11), $p=0.61$	-0.06 (-0.22-0.11), $p=0.49$
Geschlecht (weiblich)	-0.41 (-1.76-0.94), $p=0.54$	0.25 (-0.97-1.47), $p=0.68$	-0.06 (-1.68-1.56), $p=0.94$	-0.19 (-3.14-2.77), $p=0.90$
EDSS	-0.19 (-0.54-0.16), $p=0.28$	-0.35(-0.67--0.03), $p=0.03^*$	-0.1 (-0.52-0.33), $p=0.66$	-0.64 (-1.42-0.14), $p=0.10$

Krankheitsdauer (in Jahren)	0.07 (-0.03-0.17), p=0.16	0.04 (-0.04-0.13), p=0.32	0.00 (-0.12-0.11), p=0.94	0.11 (-0.10-0.33), p=0.30
--	---------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------

Abkürzungen: EDSS = Expanded Disability Status Scale, PPMS = Primär progrediente Multiple Sklerose; RRMS = Schubförmig remittierende Multiple Sklerose; *Significant.

Tabelle 4. Lineares Regressionsmodell für Messinstrumente des Riechvermögens (29)

1.5. Diskussion

Bereits vor der COVID-19-Pandemie nahmen Funktionsstörungen chemosensorischer Afferenzen eine wichtige Rolle in der klinischen Diagnostik verschiedener Krankheitsbilder ein(30, 31). Bei verschiedenen neurodegenerativen und neuroimmunologischen Erkrankungen wurden Riechstörungen festgestellt und teilweise, wie beispielsweise beim Morbus Parkinson, als diagnostische Marker etabliert(32). Riechstörungen können mit einer deutlich verminderten Lebensqualität einhergehen und zu einer erhöhten Inzidenz von Depressionen führen(33-35). In den hier zusammengefassten Studien wurden zum einen erstmalig Riech- und Schmeckvermögen von AE-Patient*innen untersucht und zum anderen das Riechvermögen von PPMS- und RRMS-Patient*innen miteinander verglichen.

In Studie 1 zeigte sich bei 75 % der 32 AE-Patient*innen eine Störung des Riechvermögens(27). Dies bestätigte sich in den Einzeltestungen, in denen sich bei den AE-Patient*innen, im Vergleich zu den gesunden Probanden, eine signifikant verminderte Fähigkeit zur Diskrimination und Identifikation von Gerüchen, sowie in der Riechschwellentestung darstellte. Die Riechschwellentestung wird dabei genutzt, um die periphere Riechfunktion von zentralen Prozessierungen zu unterscheiden(36). Riechdiskrimination und – identifikation spiegeln zentrale Geruchsverarbeitung, inklusive olfaktorischen Lernens wider(37, 38). Unsere Studienergebnisse deuten auf eine periphere und zentrale Schädigung der Riechbahn hin. Vom Bulbus olfactorius (BO) werden olfaktorische Afferenzen über den Tractus olfactorius an die primäre Riechrinde mit den Areae piriformis et entorhinalis, sowie die Amygdala projiziert. Von dort werden die olfaktorischen Informationen an die zahlreichen Hirnregionen der sekundären Riechrinde weitergeleitet, welche unter anderem Hippocampus, Gyrus parahippocampalis, Insula, Gyrus frontalis inferior und den orbitofrontalen Cortex umfassen(37, 39). Der Hippocampus hat dabei einen wesentlichen Anteil am

olfaktorischen Lernprozess und an der Adaption von Verhalten(40, 41). In MRT-Studien konnte gezeigt werden, dass Störungen des Riechvermögens mit einer Volumenabnahme u.a. von Strukturen der sekundären Riechrinde, insbesondere auch des Hippocampus und Parahippocampus, einhergehen(8, 42, 43). Eine entsprechende Vulnerabilität limbischer Strukturen, wie z.B. des Hippocampus und der Amygdala, wurde ebenso bei AE-Patient*innen nachgewiesen(3, 44-46). Um mögliche strukturelle Schädigungen des BO, der Riechbahn und des olfaktorischen Kortex, inklusive limbischer Strukturen, mit dem Riechvermögen von AE-Patient*innen korrelieren zu können, sind MRT-Studien mit diffusionsgewichteten Sequenzen wie der Diffusions-Tensor-Bildgebung (DTI) notwendig(47). Inflammatorische Prozesse in olfaktorischen Strukturen des limbischen Systems könnten durch kortikales Feedback im Sinne einer top-down Modulation zu Volumenreduktion des BO führen(48). In diesem Zusammenhang wäre es interessant zu untersuchen, ob die immunmodulatorische Therapie der AE zu einer Regeneration des Riechvermögens führt. Auch andere neuroimmunologischen Erkrankungen wie MS und Neuromyelitis optica (NMO) sind mit Riechstörungen assoziiert und unterscheiden sich voneinander hinsichtlich neuroanatomischer Veränderungen(49). Aus pathophysiologischer Sicht könnte in Zukunft der Zusammenhang von AE mit neuroinfektiologischen Erkrankungen wegweisend sein. In einer prospektiven Studie von Armangue et al. erkrankten 27 % der Patient*innen mit einer Herpes-Simplex-Enzephalitis (HSE) im Verlauf an einer AE(50). Das Herpes-simplex-Virus Antigen wurde insbesondere auch im Hippocampus, im olfaktorischen Kortex und in den Glia-Zellen des Tractus olfactorius detektiert(51). In unserer Studie 1 hatte keine*r der 32 AE-Patient*innen eine HSE in der Anamnese. Das Riechvermögen bei HSE-Patient*innen wurde bisher nicht untersucht. Eine vergleichende Untersuchung der OF zwischen HSE- und AE-Patient*innen wäre im Hinblick auf pathophysiologische Prozesse bei AE nach einer HSE interessant. Ein weiteres Virus, welches einer AE vorausgehen kann, könnte SARS-CoV-2 sein, wie in zahlreichen Fallberichten dargestellt wird(52-54). Bei milden bis moderaten Krankheitsverläufen von COVID-19 wurden bei bis zu 85.6 % der Patient*innen Riechstörungen festgestellt(55).

Die objektive Olfaktometrie wird insbesondere bei wissenschaftlichen und gutachterlichen Fragestellungen in den Fachbereichen der HNO, Neurologie und Psychiatrie angewandt. Sie erlaubt die objektivierende Erfassung von Riechstörungen und eignet sich besonders zur Abgrenzung eines Restriechvermögens von einer

schweren Hyposmie bzw. Anosmie(20, 56). Wie in Studien mit Patient*innen verschiedener neurologischer Krankheitsbilder wie MS, Alzheimer-Demenz und Morbus Parkinson bestätigt wurde, ist die Ableitung von OEP bei leicht- bis mittelgradigen Hyposmien weniger sensitiv im Vergleich zu psychophysischen Testung(57). In unserer Studie ließen sich jedoch bei allen Patienten mit einer Anosmie und mit einer Hyposmie in der psychophysischen Riechtestung auch pathologische OEPs nachweisen(28). Grund dafür könnte die wahrscheinlich zentrale Genese der Riechstörung sein. In Studie 1 fanden sich bei 26 % der AE-Patient*innen eine Hypogeusie in der gustatorischen Testung mittels TST. Damit sind, ähnlich, wie beim Morbus Parkinson, weniger Patient*innen von Störungen des Schmeckens als von Störungen des Riechens betroffen(58). Bei 21 % der AE-Patient*innen fanden sich in den psychometrischen Tests Störungen beider sensorischer Afferenzen. Dies könnte durch die Kreuzung gustatorischer und olfaktorischer Bahnen in Strukturen des limbischen Systems, wie Amygdala, Inselrinde und orbitofrontaler Kortex (OFC) begründet sein. Im OFC werden olfaktorische, gustatorische und trigeminale Informationen miteinander verknüpft(59). Die Art der AK hatte, ebenso wie die Krankheitsdauer, keinen Einfluss auf Riech- und Schmeckfunktion der AE-Patient*innen in unserer Studie. Auch hatte das Geschlecht der AE-Patient*innen keinen signifikanten Einfluss auf die olfaktorische und gustatorische Funktion. Die Selbsteinschätzung des Riechvermögens der AE-Patient*innen war besser als die Ergebnisse in der subjektiven und objektiven Olfaktometrie, was möglicherweise, ähnlich wie bei der MS, für einen Gewöhnungsprozess während eines langsam progredienten Verlaufs spricht(60).

Zusammenfassend zeigen die Resultate der Studie 1, dass Riech- und Schmeckvermögen bei Patient*innen mit AE gestört sind. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen zu einem besseren Verständnis des Krankheitsbildes beitragen.

In Studie 2 wurde das Riechvermögen von PPMS-Patient*innen untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass PPMS-Patient*innen im Vergleich zu GK und auch im Vergleich zu RRMS-Patient*innen, ein signifikant reduziertes Riechvermögen haben. Dieses Ergebnis bestätigte sich in einem linearen Regressionsmodell mit den Kovariaten EDSS und Krankheitsdauer(29). Es zeigte sich in unserer Studie bei 94 % der PPMS-Patient*innen Riechstörungen, davon 81 % mit einer Hyposmie und 13 % mit einer Anosmie. Insbesondere in den Einzeltestungen Diskrimination und Identifikation unterschieden sich die Ergebnisse zwischen PPMS- und RRMS-Patient*innen signifikant. Der Anteil von

RRMS-Patient*innen mit einer Riechminderung ist in unserer Studie mit 41 % vergleichbar zu anderen Studien(61). Die Pathophysiologie der Riechstörungen bei MS-Patient*innen ist bis dato nicht gut verstanden. In einer fMRT-Studie wurden Veränderungen in den olfaktorischen Riechbahnen inklusive der olfaktorischen Kortexe sowie im BO festgestellt. Auch nahm die Intensität aktivierter, olfaktorischer Netzwerke ab(62). In einer früheren MRT-Studie unserer Forschungsgruppe konnte gezeigt werden, dass die Volumenreduktion des BO mit einer erhöhten Läsionslast im Riechhirn und mit einer Riechminderung korreliert ist(63). Die Riechschwellentestung scheint Demyelinisierung und Inflammation abzubilden, die Testung von Diskrimination und Identifikation vor allem das Ausmaß axonaler Schädigung(64). Aus den Ergebnissen unserer Studie schließen wir, dass die Störung des Riechvermögens bei PPMS-Patient*innen häufig und im Vergleich zu RRMS-Patient*innen schwerer ausgeprägt ist. Pathophysiologisch könnten als Ursache der Ausprägung der Riechstörung die chronische Neurodegeneration bei PPMS diskutiert werden.

Zusammenfassend unterstützen die Ergebnisse unserer Studien die Hypothese, dass Störungen des Riechvermögens bei Patient*innen mit neuroimmunologischen Erkrankungen häufig und ausgeprägt vorkommen. Sowohl bei AE, als auch bei MS, spielen Neuroinflammation und Neurodegeneration eine große Rolle bei neuronaler Schädigung(65-67). Ob Riechstörungen vor allem auf dem Boden neurodegenerativer Prozesse entstehen, und welchen Beitrag neuroinflammatorische Prozesse dazu leisten, sollte in zukünftigen Studien weiter untersucht werden.

1.6. Literaturverzeichnis

1. Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Cellucci T, Cortese I, Dale RC, Gelfand JM, Geschwind M, Glaser CA, Honnorat J, Hoftberger R, Iizuka T, Irani SR, Lancaster E, Leypoldt F, Pruss H, Rae-Grant A, Reindl M, Rosenfeld MR, Rostasy K, Saiz A, Venkatesan A, Vincent A, Wandinger KP, Waters P, Dalmau J. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol.* 2016;15(4):391-404.
2. Hermetter C, Fazekas F, Hochmeister S. Systematic Review: Syndromes, Early Diagnosis, and Treatment in Autoimmune Encephalitis. *Front Neurol.* 2018;9:706.
3. Heine J, Prüss H, Bartsch T, Ploner CJ, Paul F, Finke C. Imaging of autoimmune encephalitis – Relevance for clinical practice and hippocampal function. *Neuroscience.* 2015;309:68-83.
4. Leypoldt F, Armangue T, Dalmau J. Autoimmune encephalopathies. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2015;1338(1):94-114.
5. Soudry Y, Lemogne C, Malinvaud D, Consoli SM, Bonfils P. Olfactory system and emotion: common substrates. *European annals of otorhinolaryngology, head and neck diseases.* 2011;128(1):18-23.
6. Lemon CH, Katz DB. The neural processing of taste. *BMC Neuroscience.* 2007;8(3):S5.
7. Courtiol E, Wilson DA. The Olfactory Mosaic: Bringing an Olfactory Network Together for Odor Perception. *Perception.* 2017;46(3-4):320-32.
8. Bitter T, Gudziol H, Burmeister HP, Mentzel HJ, Guntinas-Lichius O, Gaser C. Anosmia leads to a loss of gray matter in cortical brain areas. *Chem Senses.* 2010;35(5):407-15.
9. Tolosa E, Wenning G, Poewe W. The diagnosis of Parkinson's disease. *The Lancet Neurology.* 2006;5(1):75-86.
10. Lu J, Yang QX, Zhang H, Eslinger PJ, Zhang X, Wu S, Zhang B, Zhu B, Karunanayaka PR. Disruptions of the olfactory and default mode networks in Alzheimer's disease. *Brain and Behavior.* 2019;9(7):e01296.
11. Schmidt FA, Goktas O, Harms L, Bohner G, Erb K, Dahlslett B, Fleiner F. Structural Correlates of Taste and Smell Loss in Encephalitis Disseminata. *PLoS ONE.* 2011;6(5):e19702.
12. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, Fujihara K, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Lublin FD, Montalban X, O'Connor P, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Waubant E, Weinshenker B, Wolinsky JS. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of neurology.* 2011;69(2):292-302.
13. Wang Y-P, Gorenstein C. Psychometric properties of the Beck Depression Inventory-II: a comprehensive review. *Brazilian Journal of Psychiatry.* 2013;35:416-31.
14. von Glischinski M, von Brachel R, Hirschfeld G. How depressed is “depressed”? A systematic review and diagnostic meta-analysis of optimal cut points for the Beck Depression Inventory revised (BDI-II). *Quality of Life Research.* 2019;28(5):1111-8.
15. DGPPN B, KBV AWMF. S3-Leitlinie/Nationale VersorgungsLeitlinie Unipolare Depression – Langfassung, 2. Auflage. Version 5. 2015.
16. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. “Mini-mental state”: A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research.* 1975;12(3):189-98.
17. van Swieten JC, Koudstaal PJ, Visser MC, Schouten HJ, van Gijn J. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. *Stroke.* 1988;19(5):604-7.
18. Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G. 'Sniffin' sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses.* 1997;22(1):39-52.

19. Haehner A, Mayer AM, Landis BN, Pournaras I, Lill K, Gudziol V, Hummel T. High test-retest reliability of the extended version of the "Sniffin' Sticks" test. *Chem Senses*. 2009;34(8):705-11.
20. Hummel T, Klimek L, Welge-Lüssen A, Wolfensberger G, Gudziol H, Renner B, Kobal G. [Chemosensory evoked potentials for clinical diagnosis of olfactory disorders]. *Hno*. 2000;48(6):481-5.
21. Hawkes CH, Shephard BC, Daniel SE. Olfactory dysfunction in Parkinson's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 1997;62(5):436-46.
22. Doty RL, Brugger WE, Jurs PC, Orndorff MA, Snyder PJ, Lowry LD. Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiology & behavior*. 1978;20(2):175-85.
23. Kobal G, Hummel C. Cerebral chemosensory evoked potentials elicited by chemical stimulation of the human olfactory and respiratory nasal mucosa. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1988;71(4):241-50.
24. Welge-Lüssen A. [Chemosensory evoked potentials. Applications and significance in routine clinical practice]. *Hno*. 1999;47(5):453-5.
25. Welge-Lüssen A, Wolfensberger M, Kobal G, Hummel T. [Basics, methods and indications for objective olfactometry]. *Laryngorhinootologie*. 2002;81(9):661-7.
26. Landis BN, Welge-Luessen A, Brämerson A, Bende M, Mueller CA, Nordin S, Hummel T. "Taste Strips" – A rapid, lateralized, gustatory bedside identification test based on impregnated filter papers. *Journal of Neurology*. 2009;256(2):242.
27. Geran R, Uecker FC, Prüss H, Haeusler KG, Paul F, Ruprecht K, Harms L, Schmidt FA. Olfactory and Gustatory Dysfunction in Patients With Autoimmune Encephalitis. *Frontiers in Neurology*. 2019;10(480).
28. Schmidt FA, Harms L, Prüss H, Geran R, Olze H, Maas MB, Uecker FC. Die Ableitung olfaktorisch evozierter Potenziale in Patienten mit limbischer Enzephalitis. *Klinische Neurophysiologie*. 2019;50(01):11-6.
29. Schmidt FA, Maas MB, Geran R, Schmidt C, Kunte H, Ruprecht K, Paul F, Göktas Ö, Harms L. Olfactory dysfunction in patients with primary progressive MS. *Neurology® Neuroimmunology & Neuroinflammation*. 2017;4(4):e369.
30. Bertlich M, Stihl C, Lüsebrink E, Hellmuth JC, Scherer C, Freytag S, Spiegel JL, Stoycheva I, Canis M, Weiss BG, Ihler F, Haubner F. The course of subjective and objective chemosensory dysfunction in hospitalized patients with COVID-19: a 6-month follow-up. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2021.
31. Moein ST, Hashemian SM, Mansourafshar B, Khorram-Tousi A, Tabarsi P, Doty RL. Smell dysfunction: a biomarker for COVID-19. *International Forum of Allergy & Rhinology*. 2020;10(8):944-50.
32. Berendse HW, Ponsen MM. Diagnosing premotor Parkinson's disease using a two-step approach combining olfactory testing and DAT SPECT imaging. *Parkinsonism Relat Disord*. 2009;15 Suppl 3:S26-30.
33. Miwa T, Furukawa M, Tsukatani T, Costanzo RM, DiNardo LJ, Reiter ER. Impact of Olfactory Impairment on Quality of Life and Disability. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 2001;127(5):497-503.
34. Hummel T, Nordin S. Olfactory disorders and their consequences for quality of life. *Acta Oto-Laryngologica*. 2005;125(2):116-21.
35. Kohli P, Soler ZM, Nguyen SA, Muus JS, Schlosser RJ. The Association Between Olfaction and Depression: A Systematic Review. *Chem Senses*. 2016;41(6):479-86.
36. Haehner A, Rodewald A, Gerber JC, Hummel T. Correlation of Olfactory Function With Changes in the Volume of the Human Olfactory Bulb. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 2008;134(6):621-4.

37. Fjaeldstad A, Fernandes HM, Van Hartevelt TJ, Gleesborg C, Møller A, Ovesen T, Kringelbach ML. Brain fingerprints of olfaction: a novel structural method for assessing olfactory cortical networks in health and disease. *Sci Rep.* 2017;7:42534-.
38. Su B, Bleier B, Wei Y, Wu D. Clinical Implications of Psychophysical Olfactory Testing: Assessment, Diagnosis, and Treatment Outcome. *Front Neurosci.* 2021;15:646956-.
39. Klingler E. Development and Organization of the Evolutionarily Conserved Three-Layered Olfactory Cortex. *eNeuro.* 2017;4(1):ENEURO.0193-16.2016.
40. Martin C, Beshel J, Kay LM. An Olfacto-Hippocampal Network Is Dynamically Involved in Odor-Discrimination Learning. *Journal of Neurophysiology.* 2007;98(4):2196-205.
41. Zhou G, Olofsson JK, Koubeissi MZ, Menelaou G, Rosenow J, Schuele SU, Xu P, Voss JL, Lane G, Zelano C. Human hippocampal connectivity is stronger in olfaction than other sensory systems. *Progress in Neurobiology.* 2021:102027.
42. Segura B, Baggio HC, Solana E, Palacios EM, Vendrell P, Bargalló N, Junqué C. Neuroanatomical correlates of olfactory loss in normal aged subjects. *Behavioural Brain Research.* 2013;246:148-53.
43. Kubota S, Masaoka Y, Sugiyama H, Yoshida M, Yoshikawa A, Koiwa N, Honma M, Kinno R, Watanabe K, Iizuka N, Ida M, Ono K, Izumizaki M. Hippocampus and Parahippocampus Volume Reduction Associated With Impaired Olfactory Abilities in Subjects Without Evidence of Cognitive Decline. *Front Hum Neurosci.* 2020;14:556519-.
44. Hughes EG, Peng X, Gleichman AJ, Lai M, Zhou L, Tsou R, Parsons TD, Lynch DR, Dalmau J, Balice-Gordon RJ. Cellular and Synaptic Mechanisms of Anti-NMDA Receptor Encephalitis. *The Journal of Neuroscience.* 2010;30(17):5866.
45. Finke C, Prüss H, Heine J, et al. Evaluation of cognitive deficits and structural hippocampal damage in encephalitis with leucine-rich, glioma-inactivated 1 antibodies. *JAMA Neurology.* 2017;74(1):50-9.
46. Wagner J, Schoene-Bake J-C, Malter MP, Urbach H, Huppertz H-J, Elger CE, Weber B. Quantitative FLAIR analysis indicates predominant affection of the amygdala in antibody-associated limbic encephalitis. *Epilepsia.* 2013;54(9):1679-87.
47. Ibarretxe-Bilbao N, Junque C, Marti M-J, Valldeoriola F, Vendrell P, Bargallo N, Zarei M, Tolosa E. Olfactory impairment in Parkinson's disease and white matter abnormalities in central olfactory areas: A voxel-based diffusion tensor imaging study. *Movement Disorders.* 2010;25(12):1888-94.
48. Aqrabawi AJ, Browne CJ, Dargaei Z, Garand D, Khademullah CS, Woodin MA, Kim JC. Top-down modulation of olfactory-guided behaviours by the anterior olfactory nucleus pars medialis and ventral hippocampus. *Nature Communications.* 2016;7:13721.
49. Li LM, Guo HY, Zhao N, Zhang LJ, Zhang N, Liu J, Yang L. Comparison of olfactory function between neuromyelitis optica and multiple sclerosis. *Int J Neurosci.* 2018;128(8):772-7.
50. Armangue T, Spatola M, Vlasea A, Mattozzi S, Cárceles-Cordon M, Martinez-Heras E, Llufríu S, Muchart J, Erro ME, Abreira L, Moris G, Monros-Giménez L, Corral-Corral Í, Montejo C, Toledo M, Bataller L, Secondi G, Ariño H, Martínez-Hernández E, Juan M, Marcos MA, Alsina L, Saiz A, Rosenfeld MR, Graus F, Dalmau J, Aguilera-Albesa S, Amado-Puentes A, Arjona-Padillo A, Arrabal L, Arratibel I, Aznar-Laín G, Bellas-Lamas P, Bermejo T, Boyero-Durán S, Camacho A, Campo A, Campos D, Cantarín-Extremuera V, Carnero C, Conejo-Moreno D, Dapena M, Dacruz-Álvarez D, Delgado-Chilavert V, Deyà A, Estela-Herrero J, Felipe A, Fernández-Cooke E, Fernández-Ramos J, Fortuny C, García-Monco JC, Gili T, González-Álvarez V, Guerri R, Guillén S, Hedrera-Fernández A, López M, López-Laso E, Lorenzo-Ruiz M, Madruga M, Málaga-Diéguez I, Martí-Carrera I, Martínez-Lacasa X, Martín-Viota L, Martín Gil L, Martínez-González M-J, Moreira A, Miranda-Herrero MC, Monge L, Muñoz-Cabello B, Navarro-Morón J, Neth O, Noguera-Julian A, Nuñez-Enamorado N, Pomar V, Portillo-Cuenca JC, Poyato M, Prieto L, Querol L, Rodríguez-Rodríguez E, Sarria-Estrada S, Sierra C, Soler-Palacín P, Soto-Insuga V,

- Toledo-Bravo L, Tomás M, Torres-Torres C, Turón E, Zabalza A. Frequency, symptoms, risk factors, and outcomes of autoimmune encephalitis after herpes simplex encephalitis: a prospective observational study and retrospective analysis. *The Lancet Neurology*. 2018;17(9):760-72.
51. Esiri MM. Herpes simplex encephalitis: An immunohistological study of the distribution of viral antigen within the brain. *Journal of the Neurological Sciences*. 1982;54(2):209-26.
 52. Manganotti P, Furlanis G, Ajčević M, Moras C, Bonzi L, Pesavento V, Buoite Stella A. Intravenous immunoglobulin response in new-onset refractory status epilepticus (NORSE) COVID-19 adult patients. *Journal of neurology*. 2021:1-5.
 53. Burr T, Barton C, Doll E, Lakhotia A, Sweeney M. N-Methyl-d-Aspartate Receptor Encephalitis Associated With COVID-19 Infection in a Toddler. *Pediatr Neurol*. 2021;114:75-6.
 54. Panariello A, Bassetti R, Radice A, Rossotti R, Puoti M, Corradin M, Moreno M, Percudani M. Anti-NMDA receptor encephalitis in a psychiatric Covid-19 patient: A case report. *Brain Behav Immun*. 2020;87:179-81.
 55. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siaty DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, Dequanter D, Blecic S, El Afia F, Distinguin L, Chekkoury-Idrissi Y, Hans S, Delgado IL, Calvo-Henriquez C, Lavigne P, Falanga C, Barillari MR, Cammaroto G, Khalife M, Leich P, Souchay C, Rossi C, Journe F, Hsieh J, Edjlali M, Carlier R, Ris L, Lovato A, De Filippis C, Coppee F, Fakhry N, Ayad T, Saussez S. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*. 2020;277(8):2251-61.
 56. Lötsch J, Hummel T. The clinical significance of electrophysiological measures of olfactory function. *Behav Brain Res*. 2006;170(1):78-83.
 57. Godoy MDCL, Voegels RL, Pinna FdR, Imamura R, Farfel JM. Olfaction in neurologic and neurodegenerative diseases: a literature review. *Int Arch Otorhinolaryngol*. 2015;19(2):176-9.
 58. Tarakad A, Jankovic J. Chapter Seventeen - Anosmia and Ageusia in Parkinson's Disease. In: Chaudhuri KR, Titova N, editors. *International Review of Neurobiology*. 133: Academic Press; 2017. p. 541-56.
 59. Landis BN, Scheibe M, Weber C, Berger R, Brämerson A, Bende M, Nordin S, Hummel T. Chemosensory interaction: acquired olfactory impairment is associated with decreased taste function. *J Neurol*. 2010;257(8):1303-8.
 60. Uecker FC, Olze H, Kunte H, Gerz C, Göktas Ö, Harms L, Schmidt FA. Longitudinal Testing of Olfactory and Gustatory Function in Patients with Multiple Sclerosis. *PLoS One*. 2017;12(1):e0170492.
 61. Lucassen EB, Turel A, Knehans A, Huang X, Eslinger P. Olfactory dysfunction in Multiple Sclerosis: A scoping review of the literature. *Mult Scler Relat Disord*. 2016;6:1-9.
 62. OuYang Q, Wang Y, Zhang Y-W, Yu M, Wang X. Change in Functional Brain Activation Patterns Induced by Olfactory Stimulation in Multiple Sclerosis. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2020;16:1451-8.
 63. Goektas O, Schmidt F, Bohner G, Erb K, Ludemann L, Dahlslett B, Harms L, Fleiner F. Olfactory bulb volume and olfactory function in patients with multiple sclerosis. *Rhinology*. 2011;49(2):221-6.
 64. Bsteh G, Berek K, Hegen H, Buchmann A, Voortman MM, Auer M, Wurth S, Zinganell A, Di Pauli F, Deisenhammer F, Khalil M, Berger T. Serum neurofilament light levels correlate with change of olfactory function in multiple sclerosis. *Mult Scler J Exp Transl Clin*. 2019;5(4):2055217319885987-.
 65. Fominykh V, Brylev L, Gaskin V, Luzin R, Yakovlev A, Komoltsev I, Belousova I, Rosliakova A, Guekht A, Gulyaeva N. Neuronal damage and neuroinflammation markers in

patients with autoimmune encephalitis and multiple sclerosis. *Metabolic Brain Disease*. 2019;34(5):1473-85.

66. Körtvelyessy P, Prüss H, Thurner L, Maetzler W, Vittore-Welliong D, Schultze-Amberger J, Heinze HJ, Reinhold D, Leypoldt F, Schreiber S, Bittner D. Biomarkers of Neurodegeneration in Autoimmune-Mediated Encephalitis. *Front Neurol*. 2018;9:668.

67. Alrashdi B, Dawod B, Schampel A, Tacke S, Kuerten S, Marshall JS, Côté PD. Nav1.6 promotes inflammation and neuronal degeneration in a mouse model of multiple sclerosis. *J Neuroinflammation*. 2019;16(1):215-.

2. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Rohat Geran, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Beeinträchtigungen des Riechvermögens bei Patient*innen mit Autoimmunenzephalitis“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autor*innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

3. Anteilserklärung

Rohat Geran hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1

Geran R, Uecker FC, Prüss H, Haeusler KG, Paul F, Ruprecht K, Harms L, Schmidt FA.
Olfactory and Gustatory Dysfunction in Patients With Autoimmune Encephalitis.
Front Neurol. 2019 May 14;10:480.

Beitrag im Einzelnen:

- Eigenständige Rekrutierung der Patient*innen und gesunden Kontrollen
- Eigenständige Datenerhebung und Durchführung der Testungen von Patient*innen und gesunden Kontrollen
- Eigenständige statistische Auswertung (Durchführung statistischer Test mittels SPSS) und Erstellung der Diagramme für die Publikationsschrift mittels GraphPad Prism
- Erstellung und Bearbeitung des Entwurfs für das Publikationsmanuskript. Revision und Überarbeitung des Manuskripts.

Publikation 2

Schmidt FA, Harms L, Prüss H, **Geran R**, Olze H, Maas MB, Uecker FC.

Die Ableitung olfaktorisch evozierter Potenziale in Patienten mit limbischer Enzephalitis.

Klinische Neurophysiologie. 2019;50(01):11-6.

Beitrag im Einzelnen:

- Rekrutierung der Patient*innen und gesunden Kontrollen
- Datenerhebung und Durchführung der Testungen von Patient*innen und gesunden Kontrollen, inklusive Durchführung der objektiven Olfaktometrie
- Mitarbeit an der Durchführung der statistischen Auswertung mittels IBM SPSS
- Revision und Überarbeitung des Manuskripts für die Publikation

Publikation 3

Schmidt FA, Maas MB, **Geran R**, Schmidt C, Kunte H, Ruprecht K, Paul F, Göktas Ö, Harms L.

Olfactory dysfunction in patients with primary progressive MS.

Neurology® Neuroimmunology & Neuroinflammation. 2017;4(4):e369.

Beitrag im Einzelnen:

- Mitwirkung bei der Rekrutierung der Patient*innen und gesunden Kontrollen
- Mitwirkung bei der Datenerhebung und Durchführung der Testungen von Patient*innen und gesunden Kontrollen
- Mitarbeit an der Durchführung der statistischen Auswertung mittels IBM SPSS
- Revision und Überarbeitung des Manuskripts für die Publikation

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

4. Ausgewählte Publikationen

4.1. Publikation 1

Geran R, Uecker FC, Prüss H, Haeusler KG, Paul F, Ruprecht K, Harms L, Schmidt FA.
Olfactory and Gustatory Dysfunction in Patients With Autoimmune Encephalitis.
Front Neurol. 2019 May 14;10:480.



Olfactory and Gustatory Dysfunction in Patients With Autoimmune Encephalitis

Rohat Geran^{1,2,3*}, Florian C. Uecker⁴, Harald Prüss^{3,5}, Karl Georg Haeusler⁶, Friedemann Paul^{3,7,8}, Klemens Ruprecht^{1,3}, Lutz Harms^{1,3} and Felix A. Schmidt^{1,3,7,9}

¹ Department of Neurology, Clinical and Experimental Multiple Sclerosis Research Center, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, Berlin, Germany, ² Center for Stroke Research, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, Berlin, Germany, ³ Department of Neurology, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, Berlin, Germany, ⁴ Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, Berlin, Germany, ⁵ German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Berlin, Germany, ⁶ Department of Neurology, Universitätsklinikum Würzburg, Würzburg, Germany, ⁷ NeuroCure Clinical Research Center, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin and Berlin Institute of Health, Berlin, Germany, ⁸ Experimental and Clinical Research Center, Max Delbrueck Center for Molecular Medicine and Charité-Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin and Berlin Institute of Health, Berlin, Germany, ⁹ Berlin Institute of Health, Berlin, Germany

OPEN ACCESS

Edited by:

Robert Weissert,
University of Regensburg, Germany

Reviewed by:

Sonja Hochmeister,
Medical University of Graz, Austria
Melih Cayonu,
Republic of Turkey Ministry of
Health, Turkey

*Correspondence:

Rohat Geran
rohat.geran@charite.de

Specialty section:

This article was submitted to
Multiple Sclerosis and
Neuroimmunology,
a section of the journal
Frontiers in Neurology

Received: 28 December 2018

Accepted: 23 April 2019

Published: 14 May 2019

Citation:

Geran R, Uecker FC, Prüss H,
Haeusler KG, Paul F, Ruprecht K,
Harms L and Schmidt FA (2019)
Olfactory and Gustatory Dysfunction
in Patients With Autoimmune
Encephalitis. *Front. Neurol.* 10:480.
doi: 10.3389/fneur.2019.00480

Objective: To test the hypothesis that olfactory (OF) and gustatory function (GF) is disturbed in patients with autoimmune encephalitides (AE).

Methods: The orthonasal OF was tested in 32 patients with AE and 32 age- and sex-matched healthy controls (HC) with the standardized Threshold Discrimination Identification (TDI) score. This validated olfactory testing method yields individual scores for olfactory threshold (T), odor discrimination (D), and identification (I), along with a composite TDI score. The GF was determined by the Taste Strip Test (TST).

Results: Overall, 24/32 (75%) of patients with AE, but none of 32 HC ($p < 0.001$) had olfactory dysfunction in TDI testing. The results of the threshold, discrimination and identification subtests were significantly reduced in patients with AE compared to HC (all $p < 0.001$). Assessed by TST, 5/19 (26.3%) of patients with AE, but none of 19 HC presented a significant limitation in GF ($p < 0.001$). The TDI score was correlated with the subjective estimation of the olfactory capacity on a visual analog scale (VAS; $r_s = 0.475$, $p = 0.008$). Neither age, sex, modified Rankin Scale nor disease duration were associated with the composite TDI score.

Conclusions: This is the first study investigating OF and GF in AE patients. According to unblinded assessment, patients with AE have a reduced olfactory and gustatory capacity compared to HC, suggesting that olfactory and gustatory dysfunction are hitherto unrecognized symptoms in AE. Further studies with larger number of AE patients would be of interest to verify our results.

Keywords: autoimmune encephalitis, olfactory dysfunction, gustatory dysfunction, olfactory testing, threshold discrimination identification test

INTRODUCTION

In recent years, the term autoimmune encephalitis was established for a heterogeneous group of antibody-associated disorders of the brain that can either be caused by paraneoplastic or non-paraneoplastic conditions (1, 2). AE is characterized by a subacute onset of working memory deficits, psychiatric symptoms, and altered mental status. According to international consensus, the diagnosis of definite autoimmune limbic encephalitis can be made, if the following criteria are met: MRI abnormalities of the medial temporal lobe, epileptic slow-waves on EEG, and CSF pleocytosis (3). In anti-NMDA receptor encephalitis fewer than half of MRIs reveal abnormal findings (4, 5). Presence of antibodies in CSF and serum facilitate the diagnosis as well as a positive treatment response to immunotherapy (6, 7). In 50–60% of AE patients oligoclonal bands in CSF are detected. Hence, AE is in particular defined by means of antibodies, which either target intracellular antigens or surface antigens especially in the limbic system. The existing diagnostics yield no definitive evidence. So further diagnostic tests are desirable. Olfactory dysfunction is an increasingly detected symptom in neuroimmunological disorders such as multiple sclerosis and neuromyelitis optica spectrum disorder (8, 9). Essential parts of the olfactory pathway are located in the limbic system. Olfactory information from the olfactory cortex (including the piriform and entorhinal cortex, the olfactory tubercle and the anterior olfactory nucleus) is projected to the hippocampus, amygdala, nucleus accumbens, and hypothalamus (10). As the olfactory information is processed in these brain areas, we hypothesized that functional disturbances of the limbic system in AE patients could lead to olfactory and gustatory dysfunction (11, 12). The aim of the study was to investigate olfactory and gustatory function in AE patients. Besides possible social, emotional and behavioral consequences of olfactory, and gustatory dysfunction, its detection using a standardized test could be a helpful marker of disease activity (13).

METHODS

Study Participants

In this prospective case-control study, 32 patients with AE (44% women, 18–75 years, mean \pm standard deviation \bar{O} 52 \pm 18 years) were examined from April 2015 to May 2016. The median (\pm SD) disease duration was 18 \pm 13 months. In detail, 26 seropositive (81.3%) and 6 seronegative patients were recruited at in- and outpatient clinics of the Charité-Universitätsmedizin Berlin, Germany. Antibody testing was performed in all patients with seropositive and seronegative AE with the same commercially available cell-based assay (Euroimmun, Lübeck, Germany). Six AE patients with anti-leucine-rich glioma-inactivated 1 (anti-LGI1) antibodies, four with anti-N-methyl-D-aspartate receptor (anti-NMDAR) antibodies, four with antiglutamate decarboxylase (anti-GAD) antibodies, two with anti-contactin-associated protein 2 (anti-Caspr2) antibodies, two with anti-Hu-antibodies, one with anti- α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor

(anti-AMPA) antibodies, one with anti- γ -aminobutyric acid B receptor (anti-GABA-B-R) antibodies, one with anti-voltage-gated calcium channel (anti-VGCC) antibodies, one with anti-dipeptidyl-peptidase-like protein-6 (anti-DPXX) antibodies, one with anticollapsin response-mediator protein 5 (anti-CV2) antibodies, one with anti-metabotropic glutamate receptor 5 (anti-mGluR5) antibodies, and two with not characterized anti-neuronal antibodies were included in the study. The diagnosis of AE was verified by two experienced neurologists according to current peer-reviewed diagnostic criteria (3). At baseline all patients were already diagnosed and followed up, none was a de novo patient. Beyond that, none of the patients have had a herpes simplex encephalitis (HSE) in their medical history. At the time of testing eight patients received rituximab for immunotherapy, four patients were treated with plasmapheresis (between three and ten courses), four with intravenous immunoglobulins, three with steroids, and one with bortezomib (7, 14, 15). In addition, four AE patients were treated with a two-stage treatment. Three of these patients were first treated with plasmapheresis and afterwards with rituximab, and one patient was treated with immunoadsorption and afterwards with rituximab. Overall, 8 out of 32 AE patients had neither immunosuppressive therapy nor plasmapheresis at the time of OF and GF testing. The age- and sex-matched HC group comprised 32 individuals and were recruited among hospital staff.

Inclusion- and Exclusion Criteria

The patients were included in, respectively, excluded from the study after ENT and neurological examination as well as by completing two questionnaires. Patients with the diagnosis AE were included in the study. Exclusion criteria for study participants of both groups were known olfactory disorders (caused by e.g., infections of the upper respiratory tract, post-traumatic, sinusitis, post-infectious, allergies), a major depression in medical history, age over 75 as well as pregnancy and lactation, respectively (16). To exclude olfactory disorders of sinusitis origin an endoscopic ENT examination of the nasal passage, the sinuses, and the nasal mucosa was performed in patients with AE. Furthermore, patients suffering from diseases associated with olfactory dysfunction such as Parkinson's or Alzheimer's disease, multiple sclerosis and neuromyelitis optica spectrum disorder as well as patients taking drugs that can cause olfactory dysfunction (such as amitriptylin, methotrexat, D-Penicillamine, and certain other antibiotics, e.g., aminoglycosides, macrolides, and tetracyclines) were excluded.

The Mini Mental State Examination (MMSE) was performed before OF and GF testing to exclude severe cognitive dysfunction (17). AE patients scoring at least 25 out of 30 points were included. To identify a major depression the Beck Depression Inventory-II (BDI-II) was applied (18). The BDI-II comprises 21 questions in a self-reported multiple choice form varying in severity and symptoms of depression such as guilt, hopelessness and physical symptoms such as fatigue, lack of interest in sex and weight loss. We predefined a BDI-II score higher as 15 points as exclusion criterion. Physical disability was rated according

to the modified Rankin Scale (mRS) score ranging from 0 (no symptoms) to 6 (death) (19). Patients with a mRS score >3 were excluded from the study.

Orthonasal Olfactory Function

The orthonasal OF was examined by an unblinded investigator using the tripartite TDI score (Sniffin' Sticks test battery; Burghart GmbH, Wedel, Germany), which is composed of threshold, discrimination and odor identification subtests and is recommended by the German Society for Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery (20). The standardized and reliable ($r_{tt} = 0.72$) test is designed as an alternative forced choice (AFC) test (21). The olfactory perception threshold was determined by a 16-stage dilution series of n-butanol with 48 Sniffin' Sticks. Using the AFC principle, blindfolded subjects had to identify the sniffin stick that contained the odorant. The discrimination test was performed with 48 Sniffin' Sticks of different smell qualities to test the distinction of smells. Everyday odors had to be recognized with the identification test which consist of 16 Sniffin' Sticks. A TDI score of <16 out of 48 indicates functional anosmia, a score up to 30.5 indicates hyposmia and a score above 30.5 indicates normosmia.

Gustatory Function

To determine the GF, the Taste Strip Test (TST; Burghart GmbH, Wedel, Germany) was applied (22). The multiple forced-choice test evaluates the qualities salty, sweet, sour and bitter, each presented in four different concentrations. A maximum score of 16 points can be achieved. A test score of below nine indicates an impaired GF.

Secondary Outcomes

To detect confounding factors primary outcomes TDI and TST scores were tested in a linear regression model with the mRS-, BDI-, MMSE score, subjective estimation of the olfactory capacity on visual analog scale (VAS), age, disease duration and antibody status.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SPSS 25.0 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.). Figures were created with GraphPad Prism 7.03 (GraphPad Software Inc., La Jolla, USA). The data are presented in means with standard deviations (SD) (mean \pm SD). To test the normality the Shapiro-Wilk test was performed. Taking into consideration the non-Gaussian distribution and sample size, the non-parametric Wilcoxon signed-rank test for paired data was used to compare TDI and I score of AE patients with the age- and sex-matched HC. Whereas, the parametric equivalent Student's *t*-test for paired samples was applied to compare the obtained scores of the TST score as well as the T and D subtests of AE patients with HC. The AE patients were categorized into four groups (patients with antibodies against synaptic receptors, with antibodies against intracellular antigens, with antibodies against ion channels and other cell-surface proteins and without antibodies) to analyze

the influence of antibodies on TDI score with the Kruskal-Wallis H test and on TST score with one-way ANOVA. Finally, ANCOVA was used to verify the absence of gender influence on TDI score. Correlations were calculated applying the Pearson and Spearman correlation. A *p*-value of <0.05 was defined as significant.

TABLE 1 | Demographic and clinical data of AE patients and HC.

Characteristics	AE patients (n = 32)	HC (n = 32)
Gender		
Female (%)	14 (44)	14 (44)
Male (%)	18 (56)	18 (56)
Age, mean (SD), y	52.5 (17.8)	52.0 (17.5)
Time after disease onset, median (IQR), month	19.3 (10.3–25.0)	n.a.
Tumors present (%)	4 (12.5)	0
mRS score, mean (SD)	1.7 (1.1)	0
MMSE score, mean (SD)	27.8 (1.7)	n.a.
BDI-II score, mean (SD)	8.0 (7.1)	n.a.
Acute therapy (%)	15 (47)	0
IV corticosteroids (%)	3 (9)	0
Plasma exchange (%)	8 (25)	0
Immunoglobulins (%)	4 (13)	0
Long-term immunosuppression (%)	7 (22)	0
Oral corticosteroids (%)		
Rituximab (%)	11 (34)	0
Bortezomib (%)	1 (3)	0
Antibodies against intracellular antigens (%)	7 (22)	0
Hu (%)	2 (6)	0
CV2 (%)	1 (3)	0
GAD (%)	4 (13)	0
Antibodies against synaptic receptors (%)	7 (22)	0
NMDA receptor (%)	4 (13)	0
AMPA receptor (%)	1 (3)	0
GABA _B receptor (%)	1 (3)	0
mGluR5 (%)	1 (3)	0
Antibodies against ion channels and other cell-surface proteins (%)	12 (38)	0
LGI1 (%)	6 (19)	0
CASPR2 (%)	2 (6)	0
VGCC (%)	1 (3)	0
DPPX (%)	1 (3)	0
Not characterized (%)	2 (6)	0
Oligoclonal bands (%)	6 (19)	0

AE, autoimmune encephalitis; mRS, modified Rankin Scale score; MMSE, Mini-Mental State Examination; BDI, Beck Depression Inventory; GAD, glutamic acid decarboxylase; NMDA, N-Methyl-D-aspartate; AMPA, α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid; GABA, gamma-aminobutyric acid; mGluR5, metabotropic glutamate receptor 5; LGI1, leucine-rich, glioma inactivated 1; CASPR2, contactin associated protein receptor 2; VGCC, voltage-gated calcium channel; DPPX, dipeptidyl aminopeptidase-like protein 6; n.a., not available.

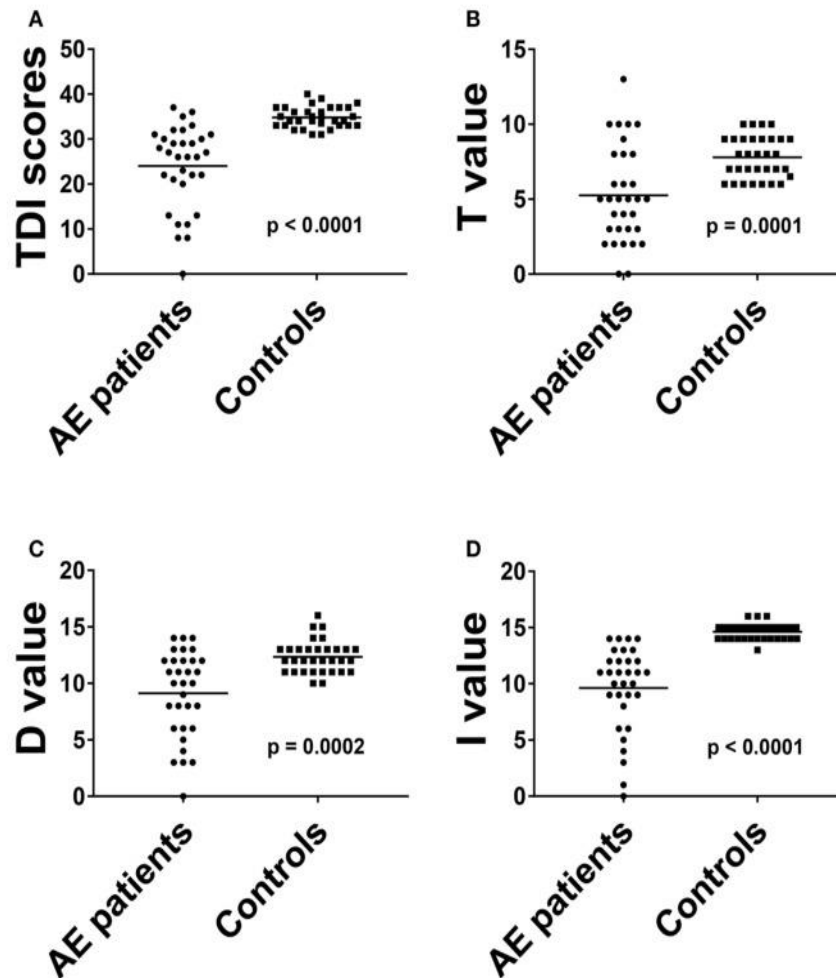


FIGURE 1 | The results of total threshold, discrimination and identification scores (A) and of all olfactory subtests (B–D) in AE patients were compared to HC. Horizontal bars: mean. AE, autoimmune encephalitis; D, discrimination score; I, identification score; T, threshold score.

RESULTS

The demographics and clinical characteristics of 32 AE patients and 32 HC examined in this study are presented in **Table 1**. In psychophysical TDI testing, a significant olfactory dysfunction was present in 24/32 (75%) of AE patients, but in none of the HC ($p < 0.001$). The GF was significantly limited in 26.3% (5/19) of AE patients in the TST and none of the HC ($p < 0.001$). Sixty percent of the patients with a gustatory dysfunction were also hyposmic, 20% anosmic. The OF results correlated with the subjective estimation of olfactory capacity on VAS ($r = 0.475$, $p = 0.008$).

Orthonasal Olfactory Function

The overall TDI score in all 32 AE patients was 24.0 ± 9.2 , the 32 HC had a median TDI score of 34.8 ± 2.3 [$p < 0.001$, (**Figure 1A**)]. Effect size for detecting olfactory dysfunction was $r = 0.87$. In 53% of all AE patients (17/32) hyposmia was detected with a score of 25.7 ± 3.3 . 7/32 (22%) of AE patients showed anosmia with a score of 9.1 ± 4.2 . All HC showed normosmia in TDI testing. Moreover, the results of the Threshold subtest ($p < 0.001$, Cohen's d 1.15), the Discrimination subtest ($p <$

0.001 , Cohen's d 1.39) and the Identification subtest ($p < 0.001$, $r = 0.85$) revealed significant differences between AE patients and HC (**Figures 1B–D**). The specificity and the positive predictive value were 97% with a cut-off score of 13 out of 16 in the Identification subtest. In addition, the sensitivity was 88% and the negative predictive value 89%. Comparing TDI scores of female (25.9 ± 6.7) and male (22.5 ± 10.3) AE patients no significant difference was found ($p = 0.424$).

Gustatory Function

The TST score in 19 patients was 11.2 ± 3.4 (**Table 2**). The TST score in the 32 HC was 13.5 ± 1.1 . 26.3% of the AE patients (5/19) had reduced GF with a score of 5.8 ± 1.7 , while none of the HC showed gustatory dysfunction. The GF was significantly reduced in AE patients [$p < 0.001$, (**Figure 2**)], and effect size for detecting gustatory dysfunction was Cohen's $d = 1.13$.

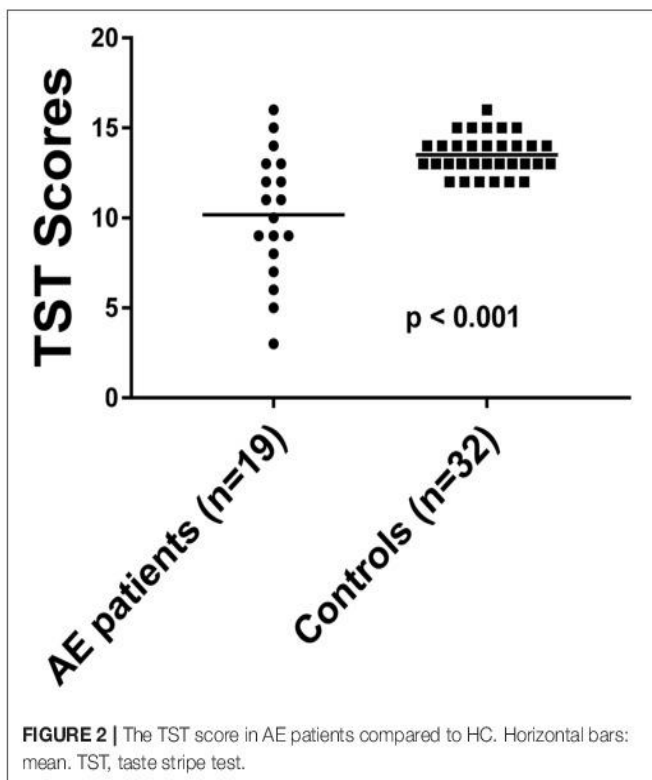
Secondary Outcomes

VAS was used as an instrument for subjective evaluation of OF and GF. The TDI score correlated significantly with olfactory capacity expressed on VAS. Besides quantitative self-evaluation

TABLE 2 | Results of orthonasal and gustatory testing of AE patients and healthy controls.

	AE patients	Controls	P-value
TDI score, mean (SD)	24.0 (9.2)	34.8 (2.3)	<0.001
Hyposmia (%)	17 (53)	0	
Hyposmia, mean (SD)	25.7 (3.3)	–	
Anosmia (%)	7 (22)	0	
Anosmia, mean (SD)	9.1 (4.2)	–	
Threshold, mean (SD)	5.3 (3.2)	7.8 (1.4)	<0.001
Discrimination, mean (SD)	9.1 (3.8)	12.3 (1.4)	<0.001
Identification, mean (SD)	9.6 (3.8)	14.6 (0.7)	<0.001
TST score, mean (SD)	10.2 (3.4)	13.5 (1.1)	<0.001
Hypogeusia (%)	5/19 (26)	0/32 (0)	
Hypogeusia, mean (SD)	5.8 (1.7)	–	

AE, autoimmune encephalitis; TDI, threshold discrimination identification test; TST, taste stripe test.



AE patients were also asked for qualitative dysosmia. Two AE patients reported phantosmia (6.25%), none reported parosmia. The autoantibody type had no significant influence on TDI score (Chi-Square = 1.531, $p = 0.675$, $r = 0.41$) in the Kruskal-Wallis H test and in the one-way ANOVA on TST score [$F_{(3, 15)} = 0.707$, $p = 0.563$, $\eta^2 = 0.12$]. In a linear regression model confounding factors such as MMSE, mRS, BDI, age, or disease duration had no influence on OF or GF, respectively.

DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the first study investigating OF and GF in AE patients. The majority of AE patients, but

none of HC showed olfactory dysfunction. A significant loss of olfactory capacity in AE patients compared to HC was seen in all olfactory subtests measuring olfactory threshold, discrimination, and identification of smells. The threshold subtest reflects a more peripheral olfactory function, whereas discrimination and identification depict higher-level processing of olfactory information (11, 23, 24). The results of the present single-center study indicate olfactory impairment in AE patients in peripheral as well as in central olfactory processing regions.

The primary olfactory cortex such as the piriform cortex, amygdala, entorhinal cortex, and anterior olfactory nucleus receive olfactory information from the olfactory bulb and project them to regions of the secondary olfactory cortex (e.g., hippocampus, parahippocampal gyrus, insula, inferior frontal gyrus, and orbitofrontal cortex) (25). Thus, olfactory impairment in AE patients could arise from functional disturbances to olfaction-related regions of the limbic system or from autoantibody-mediated increase and decrease of synaptic excitation or inhibition (3, 26). Previous neuropathological and radiological studies revealed a vulnerability of the hippocampus and amygdala to structural damage in patients with AE (5, 27–30). In this context, future MRI-studies using specific sequences such as diffusion tensor imagine (DTI) to detect possible structural damage of the olfactory pathway and the limbic system and correlate it with the olfactory capacity of AE patients would be of interest. Furthermore, it would be interesting to measure olfactory bulb (OB) and olfactory brain volumes of AE patients as these parameters seem to reflect well the olfactory capacity (31, 32). Acute inflammation in olfaction related regions of the limbic system could possibly lead to reduced olfactory bulb and olfactory brain volumes. The capability of neurogenesis in the subgranular zone of the hippocampus and subventricular zone of the lateral ventricles was investigated in former studies (33–35). The migration of neuroblasts along the rostral migration stream to the OB leads to a high plasticity of the OB. Thus, OF in AE patients could possibly improve after immunomodulatory treatment in the course of disease due to regeneration of OB.

The loss of peripheral olfactory function as well as of central olfactory function detected in our study might be explained by the cortical olfactory feedback system (35, 36). Aqrabawi et al. (37) identified the ventral hippocampus as a limbic input in a top-down modulation of olfactory sensitivity via pars medialis of the anterior olfactory nucleus to the olfactory bulb.

Olfactory dysfunction is not specific for AE patients. However, the association of olfactory dysfunction with neuroimmunological diseases was shown in different studies (38). In a recent MRI study the OF of multiple sclerosis and neuromyelitis optica spectrum disorder was compared (39). It was shown that the neuroanatomical features related to olfactory deficits differ between the two diseases, i.e., the same symptom is based on different pathomechanisms. To distinguish OF in AE patients from other neuroimmunological diseases further MRI studies comparing olfaction related brain regions of different disease entities would be of interest.

In a recent prospective study, Armangue et al. (40) showed that 27% of HSE patients develop AE. In our study none of the 32 AE patients had a HSE in their medical history. An immunohistological study showed that HSV was present in the olfactory cortex and in glia cells of olfactory tracts (41). OF in HSE patients was hitherto not examined. In this context, it would be of interest to examine OF in HSE and to compare it with AE patients.

In detail, 26% of AE patients showed hypogeusia in gustatory testing and 80% of these patients also displayed olfactory impairment. Intersections between the olfactory and gustatory system on a cortical level might explain the high incidence of combined OD and GD due to damage in regions of the central nervous system like the amygdala, the orbitofrontal cortex, the thalamus or the insula (42–44).

In our study the OF and GF of AE patients was neither correlated with the presence or categorization of antibodies nor the disease duration most likely due to the small sample size of the subgroups. To analyze the impact of antibody status and antibody titer on OF and GF, four groups (antibodies against synaptic receptors, against intracellular antigens, against ion channels and other cell-surface proteins and without antibodies) ranging from 6 to 12 patients were formed (3).

A limitation of our study is the single-center design and a heterogeneous and small sample with few patients in the different antibody subgroups, related to the rarity of AE (45). Further studies with a larger number of patients with different AE syndromes are required to detect possible differences between different AE subgroups. That might further explain different pathomechanisms leading to olfactory and gustatory impairment in AE patients. Another limitation of our study is that patients with severe cognitive deficits and high physical disability in particular at an intensive care unit setting had to be excluded in order to participate at the different tests (46). Especially these patients might show increased structural damage to the limbic system possibly leading to more severe damage of the olfactory pathway. Thus, OF and GF might be even more severely impaired in AE patients than reflected in our results. Moreover, it is a limitation of our study that the effect of different immunomodulatory treatments on OF and GF was not examined. It would be interesting to investigate in a longitudinal study whether the severity of olfactory and gustatory dysfunction is depending on the immunomodulatory therapy.

In summary, this is the first study investigating olfactory and gustatory function in AE patients. We conclude that olfactory and gustatory dysfunction are hitherto uncharacterized symptoms in AE patients, similar to visual dysfunction in

patients with NMDA receptor encephalitis (47). We suggest performing further studies with a larger number of patients. The Identification substest could be used as an olfactory screening test in clinical routine in patients with suspected AE, as it is easy to perform, time and cost effective, and showed a high sensitivity and specificity to differentiate between AE patients and HC. It would be interesting to investigate in a longitudinal study whether changes in olfactory capacity might reflect treatment response to immunomodulatory therapy. Furthermore, the AE patients in our study were tested in average 19 months after disease onset. Both the examination of OF and GF in AE patients with acute disease onset and the longitudinal follow up testing are needed to evaluate the potential diagnostic and prognostic role of olfactory and gustatory testing in AE patients. In addition, our findings might contribute to a better understanding of disease pathomechanisms. Inflammation in olfactory and gustatory structures caused by autoantibodies in AE patients could explain the presence of olfactory and gustatory disturbances in these patients.

ETHICS STATEMENT

Ethical approval was obtained by the Ethics Committee of Charité-University Hospitals Berlin. The study was conducted in accordance to the Declaration of Helsinki in its currently applicable version and applicable German laws. Written informed consent was approved by all participants.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

RG: acquisition and interpretation of data, drafting of the manuscript and figures, statistical analysis, and interpretation of data. FU, KH, and KR: analysis of data and critical revision of manuscript for intellectual content. HP: acquisition of data, analysis of data, and critical revision of manuscript for intellectual content. FP: analysis of data, critical revision of manuscript for intellectual content, and obtaining funding. LH: study concept and design, analysis of data, and critical revision of manuscript for intellectual content. FS: study concept and design, study supervision, analysis of data, and critical revision of manuscript for intellectual content.

FUNDING

We acknowledge support from the German Research Foundation (DFG) and the Open Access Publication Fund of Charité-Universitätsmedizin Berlin.

REFERENCES

- Lancaster E, Dalmau J. Neuronal autoantigens—pathogenesis, associated disorders and antibody testing. *Nat Rev Neurol.* (2012) 8:380–90. doi: 10.1038/nrneurol.2012.99
- Damell RB, Posner JB. Paraneoplastic syndromes involving the nervous system. *N Engl J Med.* (2003) 349:1543–54. doi: 10.1056/NEJMra023009
- Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Cellucci T, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol.* (2016) 15:391–404. doi: 10.1016/S1474-4422(15)00401-9
- Bacchi S, Franke K, Wewegama D, Needham E, Patel S, Menon D. Magnetic resonance imaging and positron emission tomography in anti-NMDA receptor encephalitis: a systematic review. *J Clin Neurosci.* (2018) 52:54–9. doi: 10.1016/j.jocn.2018.03.026

5. Heine J, Prüss H, Bartsch T, Ploner CJ, Paul F, Finke C. Imaging of autoimmune encephalitis—relevance for clinical practice and hippocampal function. *Neuroscience*. (2015) 309:68–83. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.05.037
6. Kreye J, Wenke NK, Chayka M, Leubner J, Murugan R, Maier N, et al. Human cerebrospinal fluid monoclonal N-methyl-D-aspartate receptor autoantibodies are sufficient for encephalitis pathogenesis. *Brain*. (2016) 139 (Pt 10):2641–52. doi: 10.1093/brain/aww208
7. Heine J, Ly L-T, Lieker I, Slowinski T, Finke C, Prüss H, et al. Immunoabsorption or plasma exchange in the treatment of autoimmune encephalitis: a pilot study. *J Neurol*. (2016) 263:2395–402. doi: 10.1007/s00415-016-8277-y
8. Uecker FC, Olze H, Kunte H, Gerz C, Göktas Ö, Harms L, et al. Longitudinal testing of olfactory and gustatory function in patients with multiple sclerosis. *PLoS ONE*. (2017) 12:e0170492. doi: 10.1371/journal.pone.0170492
9. Schmidt F, Göktas Ö, Jarius S, Wildemann B, Ruprecht K, Paul F, et al. Olfactory dysfunction in patients with neuromyelitis optica. *Multiple Scler Int*. (2013) 2013:654501. doi: 10.1155/2013/654501
10. Soudry Y, Lemogne C, Malinvaud D, Consoli SM, Bonfils P. Olfactory system and emotion: common substrates. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Diseases*. (2011) 128:18–23. doi: 10.1016/j.anorl.2010.09.007
11. Courtiol E, Wilson DA. The olfactory mosaic: bringing an olfactory network together for odor perception. *Perception*. (2017) 46:320–32. doi: 10.1177/0301006616663216
12. Bitter T, Gudziol H, Burmeister HP, Mentzel HJ, Guntinas-Lichius O, Gaser C. Anosmia leads to a loss of gray matter in cortical brain areas. *Chem Senses*. (2010) 35:407–15. doi: 10.1093/chemse/bjq028
13. Croy I, Nordin S, Hummel T. Olfactory disorders and quality of life—an updated review. *Chem Senses*. (2014) 39:185–94. doi: 10.1093/chemse/bjt072
14. Scheibe F, Prüss H, Mengel AM, Kohler S, Numann A, Kohnlein M, et al. Bortezomib for treatment of therapy-refractory anti-NMDA receptor encephalitis. *Neurology*. (2017) 88:366–70. doi: 10.1212/WNL.0000000000003536
15. Brown JW, Martin PJ, Thorpe JW, Michell AW, Coles AJ, Cox AL, et al. Long-term remission with rituximab in refractory leucine-rich glioma inactivated 1 antibody encephalitis. *J Neuroimmunol*. (2014) 271:66–8. doi: 10.1016/j.jneuroim.2014.03.012
16. Temmel AF, Quint C, Schickinger-Fischer B, Klimek L, Stoller E, Hummel T. Characteristics of olfactory disorders in relation to major causes of olfactory loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. (2002) 128:635–41. doi: 10.1001/archotol.128.6.635
17. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. “Mini-mental state”: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. (1975) 12:189–98. doi: 10.1016/0022-3956(75)90026-6
18. Beck AT, Ward CH, Mendelson MM, Mock JJ, Erbaugh JJ. An inventory for measuring depression. *Arch General Psychiatr*. (1961) 4:561–71. doi: 10.1001/archpsyc.1961.01710120031004
19. van Swieten JC, Koudstaal PJ, Visser MC, Schouten HJ, van Gijn J. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. *Stroke*. (1988) 19:604–7. doi: 10.1161/01.STR.19.5.604
20. Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G. ‘Sniffin’ sticks’: olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses*. (1997) 22:39–52. doi: 10.1093/chemse/22.1.39
21. Kobal G, Klimek L, Wolfensberger M, Gudziol H, Temmel A, Owen CM, et al. Multicenter investigation of 1,036 subjects using a standardized method for the assessment of olfactory function combining tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol*. (2000) 257:205–11. doi: 10.1007/s004050050223
22. Mueller C, Kallert S, Renner B, Stassny K, Temmel AF, Hummel T, et al. Quantitative assessment of gustatory function in a clinical context using impregnated “taste strips”. *Rhinology*. (2003) 41:2–6.
23. Hummel T, Urbig A, Huart C, Duprez T, Rombaux P. Volume of olfactory bulb and depth of olfactory sulcus in 378 consecutive patients with olfactory loss. *J Neurol*. (2015) 262:1046–51. doi: 10.1007/s00415-015-7691-x
24. Gottfried JA, Deichmann R, Winston JS, Dolan RJ. Functional heterogeneity in human olfactory cortex: an event-related functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci*. (2002) 22:10819–28. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-24-10819.2002
25. Tranel D, Welsh-Bohmer KA. Pervasive olfactory impairment after bilateral limbic system destruction. *J Clin Exp Neuropsychol*. (2012) 34:117–25. doi: 10.1080/13803395.2011.633897
26. Leyboldt F, Armangue T, Dalmau J. Autoimmune encephalopathies. *Ann NY Acad Sci*. (2015) 1338:94–114. doi: 10.1111/nyas.12553
27. Wagner J, Schoene-Bake J-C, Malter MP, Urbach H, Huppertz H-J, Elger CE, et al. Quantitative FLAIR analysis indicates predominant affection of the amygdala in antibody-associated limbic encephalitis. *Epilepsia*. (2013) 54:1679–87. doi: 10.1111/epi.12320
28. Finke C, Kopp UA, Pajkert A, Behrens JR, Leyboldt F, Wuerfel JT, et al. Structural hippocampal damage following anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Biol Psychiatr*. (2016) 79:727–34. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.02.024
29. Finke C, Prüss H, Heine J, Reuter S, Kopp UA, Wegner F, et al. Evaluation of cognitive deficits and structural hippocampal damage in encephalitis with leucine-rich, glioma-inactivated 1 antibodies. *JAMA Neurol*. (2017) 74:50–9. doi: 10.1001/jamaneurol.2016.4226
30. Heine J, Prüss H, Kopp UA, Wegner F, Then Bergh F, Munte T, et al. Beyond the limbic system: disruption and functional compensation of large-scale brain networks in patients with anti-LGI1 encephalitis. *J Neurosurg Psychiatr*. (2018) 89:1191–9. doi: 10.1136/jnnp-2017-317780
31. Skorpil M, Rolheiser T, Robertson H, Sundin A, Svenningsson P. Diffusion tensor fiber tractography of the olfactory tract. *Magn Resonance Imaging*. (2011) 29:289–92. doi: 10.1016/j.mri.2010.07.004
32. Goektas O, Schmidt F, Bohner G, Erb K, Ludemann L, Dahlslett B, et al. Olfactory bulb volume and olfactory function in patients with multiple sclerosis. *Rhinology*. (2011) 49:221–6. doi: 10.4193/Rhino10.136
33. Ihunwo AO, Tembo LH, Dzamalala C. The dynamics of adult neurogenesis in human hippocampus. *Neural Regen Res*. (2016) 11:1869–83. doi: 10.4103/1673-5374.195278
34. Reichert JL, Schopf V. Olfactory loss and regain: lessons for neuroplasticity. *Neuroscientist*. (2017) 24:22–35. doi: 10.1177/1073858417703910
35. Lazarini F, Lledo PM. Is adult neurogenesis essential for olfaction? *Trends Neurosci*. (2011) 34:20–30. doi: 10.1016/j.tins.2010.09.006
36. Huart C, Rombaux P, Hummel T. Plasticity of the human olfactory system: the olfactory bulb. *Molecules*. (2013) 18:1586–600. doi: 10.3390/molecules18091586
37. Aqrabawi AJ, Browne CJ, Dargaei Z, Garand D, Khademullah CS, Woodin MA, et al. Top-down modulation of olfactory-guided behaviours by the anterior olfactory nucleus pars medialis and ventral hippocampus. *Nat Commun*. (2016) 7:13721. doi: 10.1038/ncomms13721
38. Shin T, Kim J, Ahn M, Moon C. Olfactory Dysfunction in CNS Neuroimmunological Disorders: a review. *Mol Neurobiol*. (2018) 56:3714–21. doi: 10.1007/s12035-018-1341-0
39. Li L-M, Guo H-Y, Zhao N, Zhang L-J, Zhang N, Liu J, et al. Comparison of olfactory function between neuromyelitis optica and multiple sclerosis. *Int J Neurosci*. (2018) 128:772–7. doi: 10.1080/00207454.2018.1424152
40. Armangue T, Spatola M, Vlaga A, Mattozzi S, Cárceles-Cordon M, Martínez-Heras E, et al. Frequency, symptoms, risk factors, and outcomes of autoimmune encephalitis after herpes simplex encephalitis: a prospective observational study and retrospective analysis. *Lancet Neurol*. (2018) 17:760–72. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30244-8
41. Esiri MM. Herpes simplex encephalitis: an immunohistological study of the distribution of viral antigen within the brain. *J Neurol Sci*. (1982) 54:209–26. doi: 10.1016/0022-510X(82)90183-6
42. Landis BN, Scheibe M, Weber C, Berger R, Brämerson A, Bende M, et al. Chemosensory interaction: acquired olfactory impairment is associated with decreased taste function. *J Neurol*. (2010) 257:1303–8. doi: 10.1007/s00415-010-5513-8
43. Small DM, Voss J, Mak YE, Simmons KB, Parrish T, Gitelman D. Experience-dependent neural integration of taste and smell in the human brain. *J Neurophysiol*. (2004) 92:1892–903. doi: 10.1152/jn.00050.2004
44. Mazzola L, Royet JP, Catenoux H, Montavont A, Isnard J, Mauguière F. Gustatory and olfactory responses to stimulation of the human insula. *Ann Neurol*. (2017) 82:360–70. doi: 10.1002/ana.25010

45. Dubey D, Pittock SJ, Kelly CR, McKeon A, Lopez-Chiriboga AS, Lennon VA, et al. Autoimmune encephalitis epidemiology and a comparison to infectious encephalitis. *Ann Neurol.* (2018) 83:166–77. doi: 10.1002/ana.25131
46. Schubert J, Brämer D, Huttner HB, Germer ST, Fuhrer H, Melzer N, et al. Management and prognostic markers in patients with autoimmune encephalitis requiring ICU treatment. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* (2018) 6:e514. doi: 10.1212/NXI.0000000000000514
47. Brandt AU, Oberwahrenbrock T, Mikolajczak J, Zimmermann H, Prüss H, Paul F, et al. Visual dysfunction, but not retinal thinning, following anti-NMDA receptor encephalitis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* (2016) 3:e198. doi: 10.1212/NXI.0000000000000198

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2019 Geran, Uecker, Prüss, Haeusler, Paul, Ruprecht, Harms and Schmidt. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

4.2. Publikation 2

Schmidt FA, Harms L, Prüss H, **Geran R**, Olze H, Maas MB, Uecker FC.

Die Ableitung olfaktorisch evozierter Potenziale in Patienten mit limbischer Enzephalitis.

Klinische Neurophysiologie. 2019;50(01):11-6.

Die Ableitung olfaktorisch evozierter Potenziale in Patienten mit limbischer Enzephalitis

Olfactory Evoked Potentials in Patients with Limbic Encephalitis

Autoren

Felix A. Schmidt¹, Lutz Harms¹, Harald Prüss^{1,2}, Rohat Geran¹, Heidi Olze³, Matthew B. Maas⁴, Florian C. Uecker³

Institute

- 1 Klinik für Neurologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin
- 2 Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE), Berlin
- 3 Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin
- 4 Department of Neurology, Northwestern University, Chicago, Illinois, USA

Schlüsselwörter

limbische Enzephalitis, Olfaktorisch Evozierte Potenziale, Riechtestung, Riechstörung

Key words

limbic encephalitis, olfactory evoked potentials, olfactory testing, olfactory dysfunction

Bibliografie

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-124360>

Online-Publikation: 14.3.2018

Klin Neurophysiol 2019; 50: 11–16

© Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York

ISSN 1434-0275

Korrespondenzadresse

Dr. med. Felix A. Schmidt

Klinik für Neurologie

Charité – Universitätsmedizin Berlin

Charitéplatz 1

10117 Berlin

felix.schmidt@charite.de

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der Studie In dieser Studie wurde erstmals das Riechvermögen bei Patienten mit limbischer Enzephalitis (LE) mittels olfaktorisch evozierter Potenziale (OERP) untersucht.

Methodik Bei 19 LE Patienten (9 weibliche, 10 männliche Patienten, mittleres Alter 47 Jahre) und 19 gesunden Kontrollprobanden (GK) wurde das Riechvermögen mittels psychophysischer Schwellen-Diskrimination-Identifikations-Testung (SDI) und mittels OERPs bestimmt.

Ergebnisse 10 LE Pat. (53 %) hatten eine Hyposmie, 2 Pat. (11 %) eine funktionelle Anosmie und 7 Pat. (36 %) waren normosmisch. Der SDI-Mittelwert \pm Standardabweichung betrug bei den LE-Patienten $27,3 \pm 6,7$; bei den GK $34,7 \pm 2,2$. Der SDI-Wert der LE Patienten war im Vergleich zu den GK signifikant vermindert ($p < 0,0001$). Alle untersuchten Patienten mit eingeschränktem Riechvermögen zeigten pathologische OERPs.

Schlussfolgerung Riechstörungen konnten gehäuft bei LE Patienten nachgewiesen werden. Möglicherweise sind hierfür strukturelle Schädigungen des limbischen Systems, das an der Weiterverarbeitung von olfaktorischen Informationen beteiligt ist, ursächlich. Die Ableitung von OERPs erwies sich als geeignetes objektives Untersuchungsverfahren zur Detektion von Riechstörungen bei LE Patienten.

ABSTRACT

Objective Limbic encephalitis (LE) refers to an inflammatory process localized to structures of the limbic system that causes different neurologic and psychiatric disorders. To our knowledge, this is the first study investigating the olfactory function with olfactory evoked potentials (OEP) of patients with paraneoplastic or autoimmune encephalitis.

Methods 19 LE patients (9 female, 10 male, mean age 47 years) and 19 age- and sex-matched healthy controls (HC) were tested. The Threshold Discrimination Identification test (TDI) was used to test orthonasal olfactory function. OEPs were recorded for objective olfactometry.

Results 10 LE patients (53 %) were hyposmic, 2 patients anosmic (11 %) and 7 patients normosmic (36 %). Their mean TDI value \pm standard deviation was 27.3 ± 6.7 . All LE patients with olfactory dysfunction also showed pathological OEPs. All 19 HCs were normosmic with a mean TDI value of 34.7 ± 2.2 . There was a significant reduction of the LE patients' TDI score compared to the HC ($p < 0.0001$).

Conclusions Olfactory dysfunction seems to be a frequent symptom in LE patients. This might be due to structural changes of the limbic system. OEPs were a suitable method to detect olfactory dysfunction in these patients.

Einleitung

Die limbische Enzephalitis (LE) ist eine Autoimmunerkrankung, die mit einer Entzündungsreaktion des limbischen Systems durch pathogene Autoantikörper gegen neuronale Oberflächenstrukturen oder onkoneuronale Antikörper einhergeht [1]. Im tertiären olfaktorischen Kortex, der Teil des limbischen Systems ist, findet u. a. die Weiterverarbeitung der Riech- und Geschmackseindrücke statt [2, 3]. Bei anderen Autoimmunerkrankungen wie der Multiplen Sklerose und der Antikörper-vermittelten Neuromyelitis Optica Spektrum Erkrankung konnten Riechstörungen nachgewiesen werden [4–6]. Die Diagnostik von Riechstörungen auf diesem Gebiet gewinnt zunehmend an Bedeutung [7]. Eine Riechminderung ist ein Kardinalsymptom bei verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen wie bspw. der Parkinson-Krankheit, und kündigt diese häufig als Frühsymptom an [8]. Die Ableitung von olfaktorisch evozierten Potenzialen (OERP) ist eine objektive Methode zur Untersuchung des Geruchssinns [9]. Dabei wird die kortikale elektrische Aktivität auf die Stimulation mit einem Duftstoff gemessen [10].

Im Rahmen dieser Studie sollte untersucht werden, ob bei LE Patienten durch eine strukturelle Schädigung von Hirnarealen inklusive des limbischen Systems vermehrt Riechstörungen verursacht werden. Nach unserem Kenntnisstand gibt es bisher keine Studie, die das Riechvermögen bei LE Patienten mittels OERPs untersucht hat.

Material und Methoden

Patienten

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte von der neurologischen Normalstation sowie aus der Sprechstunde für Enzephalitis & Paraneoplasien der Hochschulambulanz der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte, Berlin. Der Studieneinschluss erfolgte nach neurologischer und HNO-ärztlicher Untersuchung. Einschlusskriterien waren die Diagnose einer limbischen Enzephalitis [11] sowie ein Alter von mind. 18 und unter 65 Jahren. Patienten mit mittelgradigen bis schweren kognitiven Defiziten wurden mittels des Mini-Mental-Status Testes ausgeschlossen, da kognitive Einbußen Einfluss auf die Durchführung der subjektiven Riechtestung haben können. Patienten mit einer Depression wurden mittels des Beck-Depressions-Inventars ausgeschlossen, da Depressionen das Riechvermögen beeinflussen können. Mittels der Modifizierten Ranking Skala wurde das Ausmaß der körperlichen Beeinträchtigung erfasst um Patienten auszuschließen, die aufgrund körperlicher Behinderung nicht an der objektiven Olfaktometrie teilnehmen können. In der otolaryngealen Untersuchung wurde die Anatomie der Nasenhaupthöhlen und insbesondere der Riechspalten endoskopisch untersucht. Patienten, deren Geruchssinn durch anatomische Auffälligkeiten beeinträchtigt war, wurden von der Studie ausgeschlossen. Folgende weitere Ausschlusskriterien wurden mittels zweier spezieller Fragebögen erfasst: Schwangerschaft, Erkrankungen, die das Riechvermögen beeinträchtigen (posttraumatische Anosmie, sinunasale Erkrankungen, Existenz oder Therapie eines Tumors im Bereich des ersten Hirnnervens, erfolgte Strahlentherapie oder Chemotherapie im Bereich des ersten Hirnnervens, Parkinson Erkrankung, Alzheimer-Krankheit, Depression). Für jeden Patienten wurde ein in Geschlecht und Alter (± 1 Jahr) übereinstimmender gesunder Kontrollproband rekrutiert.

Es konnten 19 LE Patienten und 19 Kontrollprobanden in die Studie eingeschlossen werden. Der Altersmittelwert der Patienten (9 weiblich, 10 männlich) betrug $46,8 \pm 2,0$ Jahre. Es zeigte sich hinsichtlich des Alters bei Frauen ($43,9 \pm 22,2$ Jahre) und Männern ($49,4 \pm 18,5$ Jahre) kein signifikanter Unterschied ($p = 0,575$). Die mittlere Krankheitsdauer betrug $2,0 \pm 1,1$ Jahre. In der serologischen Antikörpertestung ließen sich bei 4 Patienten NMDA-Rezeptor-Ak, 3 Patienten GAD-Ak, 3 Patienten LGI1-Ak, 1 Patienten Caspr2-Ak, 1 Patienten Hu-Ak, 1 Patient DPPX-Ak, 1 Patient CV2-Ak, 1 Patient mGluR5-Ak und 2 Patienten mit VGCC-Ak nachweisen. 2 Patienten waren seronegativ getestet und erfüllten klinisch die Kriterien einer LE (11). Sechs Patienten hatten im Krankheitsverlauf epileptische Anfälle und 4 Patienten entwickelten eine Polyneuropathie. Bei 4 Patienten wurde ein paraneoplastischer Tumor diagnostiziert (2x Kleinzelliges Bronchialkarzinom, 1x Teratom, 1x Ovarialkarzinom). Als Immuntherapie erhielten 10 Patienten Rituximab sowie 5 Patienten Plasmapherese-Behandlungen, 2 Patienten intravenöse Immunglobuline (IVIG) und ein Patient eine Kortisonpulstherapie in regelmäßigen Abständen. Ein Patient erhielt keine medikamentöse Therapie.

Ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin liegt vor. Die Patienten und gesunden Kontrollprobanden gaben ihr schriftliches Einverständnis, um an der Studie teilnehmen zu können.

Orthonasale Olfaktometrie

Das Riechvermögen wurde mithilfe des 3-teiligen, aus 112 Riechstiften bestehenden, standardisierten SDI-Testes (Schwellen-, Diskriminations- und Identifikationstestung, Burghart Messtechnik GmbH, Deutschland) evaluiert. Der Schwellentest dient zur Bestimmung der Geruchswahrnehmungsschwelle und umfasst eine 16-fache Verdünnungsreihe, der Diskriminationstest prüfte durch überschwellige Reizung mit 2 gleichen Düften die Fähigkeit zur Unterscheidung von Gerüchen. Im Identifikationstest müssen verschiedene Alltagsgerüche (Kaffee, Fisch, Nelke usw.) identifiziert werden. Unter Addition der 3 Werte entsteht der SDI-Wert. Ein SDI-Wert von < 16 bedeutet eine funktionelle Anosmie, ≥ 16 und $\leq 30,5$ Punkte eine Hyposmie, und über 30,5 Punkten eine Normosmie [12].

Objektive Olfaktometrie

Zur objektiven Riechprüfung wurden OERP's abgeleitet. Die Olfaktoriusreizstoffe Phenylethylalkohol (PEA) und Schwefelwasserstoff (H_2S) wurden mittels Olfaktometer (OM 2/S Olfaktometer, Burghart Messtechnik GmbH, Deutschland) angeboten (**Abb. 1**). Zur trigeminalen Reizung des Riechepithels wurde Kohlenstoffdioxid (CO_2) verwendet. Es wurden jeweils 6 verschiedene Testungen nacheinander (jeder der 3 Bedingungen in jeweils seitentrennter Messung) durchgeführt.

Die Reizdarbietung durch einen in der Nasenöffnung des Patienten fixierten Riechschlauches bei einem konstanten Luftfluss von 7,5 Liter/Minute, einer Lufttemperatur von $37^\circ C$ und einer relativen Luftfeuchte von 70% gewährleistete eine artefaktfreie Testung. Es wurden verschiedene Reizintensitäten eines jeden Duftstoffes jeweils der rechten und linken Nasenöffnung bei einem randomisierten Reizintervall von 30–45 s mit einer Reizdauer von 200ms angeboten (**Abb. 2**). Vigilanzstabilisierung des Patienten mittels

eines einfachen Videospiele sowie eine akustische Abschirmung optimierten die Ableitung der evozierten Potenziale (EP) im Elektroenzephalogramm (EEG). Die Ableitung der EPs erfolgte von den Elektrodenpositionen Fz, Cz und Pz monopolar gegen A1.

Ein OERP ist mit den charakteristischen Peaks P1, N1 und P2 zu erkennen (► **Abb. 3**). Dabei gelten die Bezeichnungen für P= positiver Ausschlag und N= negativer Ausschlag. Die OERPs wurden nach Mittelung von 10 Einzelaufnahmen hinsichtlich ihrer hauptsächlich Negativität (N1) mit einer Latenz von 200–700ms und der hauptsächlich Positivität (P2) mit einer Latenz von 300–800 ms vermessen [13]. Die Aufzeichnung der Potenziale erfolgte nicht kontinuierlich, sondern begann 512 ms vor Beginn des Triggers bzw. Reizes und endet 1500ms nach Beginn des Triggers. Die identifizierten Peaks N1 und P2 wurden in jeder Ableitung mit ihrer jeweiligen Latenzzeit und Amplitudenhöhe ausgemessen. Entscheidend für den positiven Nachweis eines OERPs ist das Vorhandensein der jeweiligen Peaks innerhalb der oben erwähnten Latenzzeiten. Die Auswertung erfolgte nach den Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Olfaktologie und Gustologie der deutschen HNO-Gesellschaft [14].

Mini-Mental-Status-Test (MMST)

Der Mini-Mental-Status-Test ist ein Screeningverfahren zur Feststellung von Demenzen. Die Scala reicht von 0–30 Punkten. Werte von unter 25 Punkten weisen auf eine kognitive Beeinträchtigung hin [15]. Für unsere Studie wurde eine Gesamtpunktzahl von mind. 25 Punkten als Einschlusskriterium festgelegt.

Becks-Depressions-Inventar (BDI)

Das Becks-Depressions-Inventar ist ein Selbstbeurteilungsverfahren zur Erfassung der Schwere einer depressiven Symptomatik [16, 17]. Bei dem Fragebogen, bestehend aus 21 Fragen, können maximal 63 Punkte erreicht werden. Werte zwischen 0 und 8 Punkten sprechen für keine, zwischen 9 und 13 für eine minimale Depression, zwischen 14 und 19 für eine milde, zwischen 20 und 28 für

eine mittlere und zwischen 29 und 63 für eine starke Depression. Angepasst an das Patientengut unserer Studie wurde als Einschlusskriterium ein Punktwert von unter 15 Punkten festgelegt.

Modifizierte Ranking-Skala (MRS)

Die MRS ist ein standardisiertes Messinstrument, welche das Ausmaß der körperlichen Behinderung angibt. Sie ist ein etabliertes Maß für die Beschreibung der neurologischen Beeinträchtigung in klinischen Studien [18]. Die Skala reicht von „Keine Symptome“ (0 Punkte) bis zu „Tod“ (6 Punkte). Wir setzten als Einschlusskriterium eine Punktzahl von < 4 voraus, um an der OERP-Untersuchung teilnehmen zu können.

Statistik

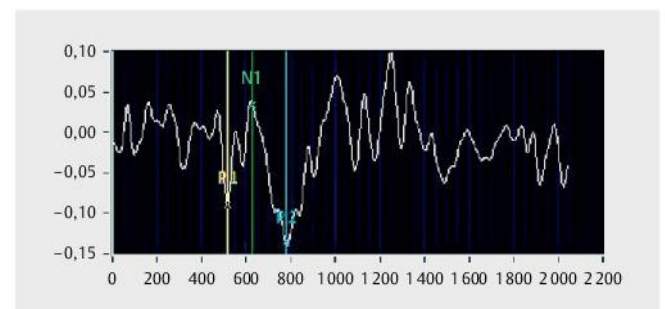
Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS 22 (SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. New York, IBM). Grafen wurden mit GrafPad Prism 7 erstellt (GrafPad Software Inc., La Jola, USA). Um die Zielgrößen miteinander zu vergleichen und auf Unterschiede



► **Abb. 2** Versuchsaufbau Olfaktometer. Gesunde Probandin exemplarisch bei der Messung. links im Bild das Olfaktometer. Die Duftstoffe werden über den Rienschlauch in die Nasenöffnung der Probandin appliziert.



► **Abb. 1** verwendetes Olfaktometer (OM 2/S Olfaktometer, Burg-hart Messtechnik GmbH, Wedel, Deutschland).



► **Abb. 3** Abbildung einer OERP-Kurve. Abgebildet ist ein OERP, auf der x-Achse ist die Latenzzeit in ms aufgetragen, auf der y-Achse ist die OERP-Amplitude in μV angegeben. Die charakteristischen OERP-Amplituden-Peaks sind mit P1, N1 und P2 gekennzeichnet.

► **Tab. 1** Demografische und klinische Daten von LE Patienten und gesunden Kontrollen.

	LE (n=19)	GK (n=19)
Alter (in Jahren)		
Mittelwert ± SA	46,8 ± 19,9	47,8 ± 18,7
Geschlecht		
weiblich/männlich	9/10	9/10
Krankheitsdauer		
Mittelwert ± SA	2,0 ± 1,1	-
Modifizierte Ranking Skala		
Mittelwert ± SA	1,9 ± 1,3	-
Becks Depressions Inventar		
Mittelwert ± SA	8,8 ± 7,5	-
Mini Mental Status Test		
Mittelwert ± SA	28,2 ± 1,3	-
Antikörpernachweis		
ja/nein	17/2	-
Immuntherapie		
ja/nein	18/1	-

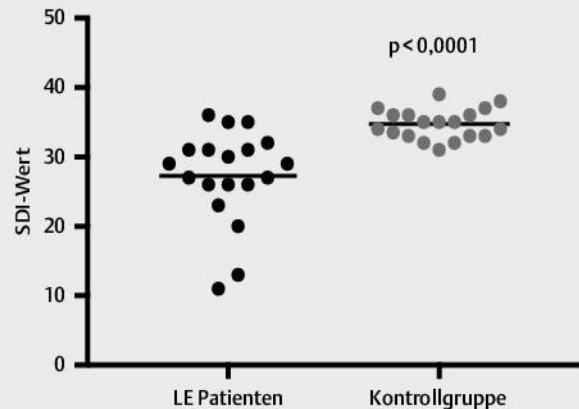
GK= gesunde Kontrollen, LE= limbische Enzephalitis, SA= Standard-Abweichung

► **Tab. 2** Ergebnisse der subjektiven und objektiven Riechtestung.

	LE Patienten	GK	p-Wert (Unterschied LE vs GK)
Subjektive Olfaktometrie			
SDI	27,3 ± 6,7	34,7 ± 2,2	<0,0001
S	6,2 ± 3,7	7,8 ± 1,3	0,182
D	10,0 ± 2,9	12,2 ± 1,2	<0,001
I	11,1 ± 2,3	14,7 ± 0,7	<0,0001
Objektive Olfaktometrie			
Pathologische OERPs (ja/nein)	12/7	-	-

GK= gesunde Kontrollen, LE= limbische Enzephalitis, OERP= olfaktorisch evoziertes Potenzial, SDI= Schwellen-, Diskriminations- und Identifikationstest. Die SDI-Ergebnisse sind als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt

zwischen den Werten zu prüfen, wurden für normalverteilte Variablen der t-Test und für nicht normalverteilte Variablen der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Das Signifikanzniveau wurde auf $p=0,05$ festgelegt. Zusammenhänge zwischen den einzelnen Werten wurden mittels Spearman-Korrelation untersucht.



► **Abb. 4** Vergleich der SDI-Testung von LE Patienten und Kontrollen. Bei Patienten mit LE war signifikant häufiger eine Riechstörung nachweisbar. Die horizontalen Linien markieren den jeweiligen Mittelwert. LE = Limbische Enzephalitis, SDI-Test = Schwellen-, Diskriminations- und Identifikationstest.

Ergebnisse

Die demografischen und klinischen Daten sind in ► **Tab. 1**, die Ergebnisse der Riechtestung in ► **Tab. 2** dargestellt.

Im SDI-Test hatten 10 der LE Patienten eine Hyposmie (53 %), 2 Patienten eine Anosmie (11 %) und 7 Patienten (36 %) zeigten eine uneingeschränkte Riechfunktion. Der SDI Mittelwert (± Standardabweichung) der LE Patienten lag bei 27,3 (± 6,7), bei den GK bei 34,7 ± 2,2 Punkten. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$) zwischen LE Patienten und GK (s. ► **Abb. 4**). In den Einzeltestungen zeigte sich im Diskriminationstest ($p < 0,001$) und im Identifikationstest ($p < 0,0001$) ein signifikanter Unterschied zwischen LE Patienten und GK, jedoch nicht beim Schwellentest ($p = 0,182$, ► **Tab. 2**). Es gab bei den LE Patienten beim SDI-Testergebnis keinen signifikanten Unterschied zwischen Männern (28,8 ± 5,1 Punkte) und Frauen (25,6 ± 8,2 Punkte) ($p = 0,310$). Die Identifikationstestung ist durch die einfache Durchführbarkeit und einen kurzen zeitlichen Aufwand (etwa 10 min) charakterisiert. Spezifität und positiver prädiktiver Wert erreichten bei einem Cutoff-Wert von 12 jeweils 100 % um zwischen LE Patienten und GK zu unterscheiden. Die Sensitivität berechnet sich zu 74 % und der negative prädiktive Wert zu 79 %.

Mittels visueller Analogskala (VAS), die von 0 Punkten (kompletter Riechverlust) bis 10 Punkte (normales Riechvermögen) reicht, wurden die LE Patienten um eine Einschätzung ihres Riechvermögens gebeten. Die Patienten mit LE hatten ein VAS von 7,7 ± 2,2 (Mittelwert ± Standardabweichung). Es zeigte sich keine Korrelation zum im SDI-Test gemessenen Riechvermögen. Die Patienten wurden auch nach qualitativem Fehlriechen befragt: es zeigte sich lediglich ein Patient mit einer Phantosmie und ein Patient (jeweils 5,3 %) mit einer Parosmie in der LE Gruppe bei ansonsten nicht eingeschränktem Riechvermögen (Normosmie) in der GK Gruppe.

Unter Nutzung eines Olfaktometers wurden die 19 LE Patienten getestet und deren OERPs abgeleitet. Alle Patienten mit einer Hyposmie oder Anosmie im SDI-Test zeigten auch in der objektiven Olfaktometrie pathologische OERPs und wurden demnach als Hy-

posmie klassifiziert. Alle Patienten die im SDI Test eine uneingeschränkte Riechfunktion hatten, zeigten auch in der objektiven Olfaktometrie eine Normosmie (► Tab. 2).

Diskussion

Nach unserem Kenntnisstand wurde in dieser Studie erstmals das Riechvermögen bei LE Patienten mittels OERPs untersucht. Es wurde bei insgesamt 64 % der LE Patienten ein vermindertes Riechvermögen in der subjektiven und objektiven Riechtestung festgestellt. Alle gesunden Kontrollprobanden zeigten ein normales Riechvermögen. Es zeigte sich bei den LE Patienten im Vergleich zur GK eine signifikant verminderte Fähigkeit zur Diskrimination und Identifikation von Gerüchen, jedoch kein signifikanter Unterschied bei der Riechschwellentestung. Es wird vermutet, dass mit der Riechschwellentestung die periphere olfaktorische Funktion erfasst wird, wohingegen die Diskriminierung und Identifikation von Gerüchen eher einer komplexeren Verarbeitung unterliegt und von kognitiven Funktionen geprägt ist [19, 20]. Unsere Studienergebnisse deuten auf eine zentrale Schädigung der Riechbahn im sekundären und tertiären olfaktorischen Kortex hin. Dies könnte durch eine strukturelle Schädigung des tertiären olfaktorischen Kortex begünstigt werden, der Teil des limbischen Systems ist und an der Verarbeitung von olfaktorischen Informationen beteiligt ist.

Die Ableitung von OERPs kommt v. a. bei wissenschaftlichen und gutachterlichen Fragestellungen im Fachbereich der HNO, der Neurologie und der Psychiatrie in Betracht [21]. Sie dient zur Abgrenzung eines Restriechvermögens von einer schweren Hyposmie bzw. Anosmie, wobei sich geringgradige Hyposmien gewöhnlich schwer mittels objektiver Olfaktometrie quantifizieren lassen [22]. Dieser Zusammenhang zeigte sich auch in Studien, in denen OERPs bei Patienten mit neurologischen Krankheitsbildern wie Multipler Sklerose, Parkinson-Erkrankung oder Alzheimerdemenz abgeleitet wurden [7]. In unserer Studie ließen sich jedoch bei allen Patienten mit einer Hyposmie in der psychophysischen Riechtestung auch pathologische OERPs nachweisen. Dies könnte durch die wahrscheinlich zentrale Genese der Riechstörung erklärt werden und sich somit in den EEG Ableitungen deutlicher darstellen.

Es wäre in diesem Zusammenhang interessant, mithilfe von Magnetresonanztomografieuntersuchungen strukturelle Schädigungen der Riechbahn und des limbischen Systems mit bspw. der diffusionsgewichteten Bildgebung zu untersuchen, sowie eine Volumenbestimmung olfaktorischer Strukturen durchzuführen und mit dem Riechvermögen der Patienten zu vergleichen.

Alter und Geschlecht der LE Patienten hatten in unserer Studie keinen Einfluss auf die Riechfunktion. Verschiedenen Studien haben gezeigt, dass es bei der normalen Bevölkerung zu einer Abnahme der Riechleistung im Alter durch Ossifikationen in der Lamina cribrosa [23, 24] und einem progredienten Verlust von olfaktorischen Rezeptorneuronen im Riechepithel [25] kommt. In verschiedenen Studien zeigte sich, dass es zu einer kontinuierlich zunehmenden Verlängerung der Latenzen und Abnahme der Amplituden der OERPs im höheren Alter kommt [26–29]. Neben dem Alter werden OERPs auch durch das Geschlecht beeinflusst. Untersuchungen haben gezeigt, dass Frauen im Durchschnitt eine höhere OERP-Amplitude aufweisen als Männer sowie eine kürzere P2-Latenzzeit [30–33]. Einige Untersuchungen über den Einfluss des Geschlechts

auf die psychophysischen Riechtestungen stellten fest, dass Frauen im SDI Test gegenüber Männern häufiger bessere Ergebnisse erzielten [34]. Andere Untersuchungen konnten dagegen keinen Einfluss des Geschlechts auf SDI-Ergebnissen nachweisen [35]. In unserer Studie zeigte das Geschlecht und Alter keinen Einfluss auf die Riechfunktion. Unsere Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass bei LE Patienten andere Pathomechanismen für das Entstehen von Riechstörungen verantwortlich sind.

Die Selbsteinschätzung des Riechvermögens der LE Patienten war besser als die psychophysisch und objektiv erhobenen Riechtestergebnisse und es zeigte sich keine Korrelation zum SDI-Wert. Die limbische Enzephalitis ist ein heterogenes Krankheitsbild mit variablem anatomischen Schwerpunkt, das sich häufig subakut manifestiert und progredient voranschreitet. Möglicherweise kommt es zu einem Gewöhnungsprozess an eine langsam progrediente Riechminderung bei den Patienten. Dieses Phänomen konnte auch bei Patienten mit Multipler Sklerose beobachtet werden [4].

Der Geruchssinn ist wichtig bei der Wahrnehmung von bspw. Brandgeruch, beim Essen und Trinken und bei der interpersonellen Kommunikation. Riechstörungen können zu einer verminderten Lebensqualität führen [36] und sind mit einem erhöhten Risiko für Depressionen assoziiert [37]. Ihr frühzeitiges Erkennen im Krankheitsverlauf ist umso wichtiger, deshalb würden wir eine Riechtestung bei LE-Patienten im klinischen Alltag empfehlen. Darüber hinaus könnte ein Zusammenhang zwischen dem Riechvermögen und dem Aktivitätsgrad der Erkrankung bestehen. In Einzelfällen könnte der sensibilisierte Patient eine akute Verschlechterung selbst erkennen.

Zusammenfassend ließen sich bei der Mehrheit der LE Patienten Riechstörungen nachweisen und zuverlässig mittels OERPs quantifizieren. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen zu einem besseren Verständnis des Krankheitsbildes und zukünftig zu einem frühzeitigeren Erkennen von Riechstörungen bei LE Patienten beitragen. Wir würden den Identifikations-Test als Screening-Test bei V.a. LE empfehlen, da dieser eine hohe Spezifität und Sensitivität zur Differenzierung zwischen LE-Patienten und GK aufwies und einfach und schnell durchführbar ist. Weitere Studien mit einer größeren Anzahl an Patienten sind nötig, um unsere Studienergebnisse zu validieren und mögliche Zusammenhänge zwischen dem Riechvermögen und der Krankheitsaktivität zu untersuchen.

KERNBOTSCHAFT

Riechstörungen kommen gehäuft bei LE Patienten vor. Die Ableitung von OERPs erwies sich als geeignetes objektives Untersuchungsverfahren zur Detektion von Riechstörungen bei LE Patienten.

Interessenkonflikt

LH has received speaker honoraria from Biogen, Teva, Bayer and Novartis. He serves on the advisory board for Roche, Novartis, Genzyme and has received travel support from Biogen, Reche, Bayer and Serono.

FS has received speaker honoraria from Genzyme for a case presentation (Multiple Sclerosis) and travel support from TEVA forECTRIMS 2017 conference.

Literatur

- [1] Dalmau J. NMDA receptor encephalitis and other antibody-mediated disorders of the synapse: The 2016 Cotzias Lecture. *Neurology* 2016; 87: 2471–2482
- [2] Lemon CH, Katz DB. The neural processing of taste. *BMC Neurosci* 2007; 18: 5
- [3] Small DM. Central gustatory processing in humans. *Adv Otorhinolaryngol.* 2006; 63: 191–220
- [4] Uecker FC, Olze H, Kunte H et al. Longitudinal testing of olfactory and gustatory function in patients with multiple sclerosis. *PLoS One* 2017; 12: e0170492
- [5] Schmidt F, Göktas O, Harms L et al. Structural correlates of taste and smell loss in encephalitis disseminata. *PLoS One* 2011; 6: e19702
- [6] Schmidt F, Göktas O, Jarius S et al. Olfactory dysfunction in patients with neuromyelitis optica. *Multiple Sclerosis International* 2013; 2013: 654501
- [7] Godoy MD, Voegels RL, Pinna Fde R et al. Olfaction in neurologic and neurodegenerative diseases: a literature review. *Int Arch Otorhinolaryngol* 2015; 19: 176–179
- [8] Müller A, Mungersdorf M, Reichmann H et al. Olfactory function in Parkinsonian syndromes. *J Clin Neurosci* 2002; 9: 521–524
- [9] Hummel T, Klimek L, Welge-Lüssen A et al. Chemosensory evoked potentials for clinical diagnosis of olfactory disorders. *HNO* 2000; 48: 481–485
- [10] Lorig TS. The application of electroencephalographic techniques to the study of human olfaction: a review and tutorial. *Int J Psychophysiol* 2000; 36: 91–104
- [11] Graus F, Titulaer MJ, Balu R et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol.* 2016; 15: 391–404
- [12] Hummel T, Kobal G, Gudziol H et al. 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. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007; 264: 237–243
- [13] Hummel T, Kobal G. Olfactory event-related potentials. In: Simon SA, Nicolelis MAL(eds) *Methods and frontiers in chemosensory research.* Boca Raton, Florida, USA: CRC press; 2001: 429–464
- [14] Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften. S2k-Leitlinie. Riech- und Schmeckstörungen. 31.10.2016. URL: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/017-050l_S2k_Riech-und-Schmeckstörungen_2017-03
- [15] Tombaugh TN, McIntyre NJ. The mini-mental state examination: a comprehensive. *Journal of the American Geriatrics Society* 1992; 40: 922–935
- [16] Hautzinger M. The Beck Depression Inventory in clinical practice. *Nervenarzt* 1991; 62: 689–696
- [17] Beck AT, Steer RA. Internal consistencies of the original and revised Beck Depression Inventories. *Journal of Clinical Psychology* 1984; 40: 1365–1367
- [18] Van Swieten J, Koudstaal P, Visser M et al. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. In: *Stroke.* 19, Nr. 5 1988; S 604–607
- [19] Jones-Gotman M, Zatorre RJ. Olfactory identification deficits in patients with focal cerebral excision. *Neuropsychologia* 1988; 26: 387–400
- [20] Masaoka Y, Yoshimura N, Inoue M et al. Impairment of odor recognition in Parkinson's disease caused by weak activations of the orbitofrontal cortex. *Neurosci Lett* 2007; 412: 45–50
- [21] Stuck BA, Beule A, Damm M et al. Positionspapier „Die chemosensorische Testung bei der gutachterlichen Abklärung von Riechstörungen“. *Laryngo-Rhino-Otol* 2014; 93: 327–329
- [22] Hummel T, Welge-Lüssen A. *Riech- und Schmeckstörungen.* 1. Auflage 2009 Stuttgart: Thieme Verlag
- [23] Doty RL. The olfactory system and its disorders. *Semin Neurol* 2009; 29: 74–81
- [24] Wilson RS, Yu L, Schneider JA et al. Lewy bodies and olfactory dysfunction in old age. *Chem Senses.* 2011; 36: 367–373
- [25] Liss L, Gomez F. The nature of senile changes of the human olfactory bulb and tract. *AMA Arch Otolaryngol* 1958; 67: 167–171
- [26] Covington JW, Geisler MW, Polich J et al. Normal aging and odor intensity effects on the olfactory event-related potential. *Int J Psychophysiol* 1999; 32: 205–214
- [27] Hummel T, Futschik T, Frasnelli J et al. Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli. *Toxicol Lett* 2003; 140-141: 273–280
- [28] Murphy C, Morgan CD, Geisler MW et al. Olfactory event-related potentials and aging: normative data. *Int J Psychophysiol* 2000; 36: 133–145
- [29] Doty RL, Kamath V. The influences of age on olfaction: a review. *Front Psychol* 2014; 5: 20
- [30] Ohla K, Lundström JN. Sex differences in chemosensation: sensory or emotional? *Front Hum Neurosci* 2013; 7: 607
- [31] Morgan CD, Geisler MW, Covington JW et al. Olfactory P3 in young and older adults. *Psychophysiology* 1999; 36: 281–287
- [32] Olofsson JK, Nordin S. Gender differences in chemosensory perception and event-related potentials. *Chem Senses* 2004; 29: 629–637
- [33] Lundström JN, Frasnelli J, Larsson M et al. Sex differentiated responses to intranasal trigeminal stimuli. *Int J Psychophysiol* 2005; 57: 181–186
- [34] Jacob TJ, Fraser C, Wang L et al. Psychophysical evaluation of responses to pleasant and mal-odour stimulation in human subjects; adaptation, dose response and gender differences. *Int J Psychophysiol* 2003; 48: 67–80
- [35] Evans WJ, Cui L, Starr A. Olfactory event-related potentials in normal human subjects: effects of age and gender. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1995; 95: 293–301
- [36] Temmel AF, Quint C, Schickinger-Fischer B et al. Characteristics of olfactory disorders in relation to major causes of olfactory loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128: 635–641
- [37] Kohli P, Soler ZM, Nguyen SA et al. The association between olfaction and depression: A systematic review. *Chem Senses.* 2016; 41: 479–486

4.3. Publikation 3

Schmidt FA, Maas MB, **Geran R**, Schmidt C, Kunte H, Ruprecht K, Paul F, Göktas Ö, Harms L.

Olfactory dysfunction in patients with primary progressive MS.

Neurology® Neuroimmunology & Neuroinflammation. 2017;4(4):e369.

Olfactory dysfunction in patients with primary progressive MS

OPEN

Felix A. Schmidt, MD
Matthew B. Maas, MD
Rohat Geran, MD
Charlotte Schmidt, MD
Hagen Kunte, MD
Klemens Ruprecht, MD
Friedemann Paul, MD
Önder Göktas, MD
Lutz Harms, MD

Correspondence to
Dr. Schmidt:
felix.schmidt@charite.de

ABSTRACT

Objective: We tested the hypothesis that olfactory function is more impaired in patients with primary progressive MS (PPMS) than that in relapsing-remitting MS (RRMS).

Methods: Standardized olfactory testing was performed in 32 patients with PPMS, 32 patients with RRMS, and 32 healthy controls (HCs). Patients with olfactory dysfunction due to an alternative primary etiology were excluded. The validated olfactory testing method yielded individual scores for olfactory threshold, odor discrimination, and odor identification, along with a composite Threshold Discrimination Identification (TDI) score.

Results: Olfactory dysfunction was identified in 27 (84%) patients with PPMS, 10 (31%) patients with RRMS, and 1 (3%) HC. While age and sex were similar between PPMS and HCs, the TDI score and all olfactory subscores were significantly worse in patients with PPMS compared with HCs (all $p < 0.001$). After adjustment for differences in age, sex, Expanded Disability Status Scale (EDSS), and disease duration, odor discrimination, odor identification, and the composite TDI score were worse in patients with PPMS vs RRMS ($p = 0.03, 0.04, \text{ and } 0.02$, respectively). Neither age, sex, EDSS, nor disease duration was significantly associated with the composite TDI score.

Conclusions: Olfactory dysfunction was more frequent and severe in PPMS compared with RRMS, independent of disease duration and overall disability status. Further research on cellular level differences in olfactory neural pathways may lead to new insights about disease pathogenesis in MS.

Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm 2017;4:e369; doi: 10.1212/NXI.0000000000000369

GLOSSARY

EDSS = Expanded Disability Status Scale; **HC** = healthy control; **PPMS** = primary progressive MS; **RRMS** = relapsing-remitting MS; **TDI** = Threshold Discrimination Identification.

MS is a chronic inflammatory demyelinating disease of the CNS, which typically follows a relapsing-remitting disease course (relapsing-remitting MS [RRMS]). However, approximately 15% of all patients with MS initially present with a primary progressive disease course (primary progressive MS [PPMS]) characterized by steadily increasing neurologic disability without recovery.¹ Some evidence suggests that—albeit part of the same underlying pathobiology—PPMS presents a less inflammatory course of MS.²

Different studies have reported olfactory dysfunction in patients with MS at rates of 20%–40% in cohorts comprised mostly of RRMS.³ The underlying pathophysiologic distinctives leading to PPMS vs RRMS are not well understood. Differences in the pattern of disease symptomatology may identify opportunities to better understand disease pathophysiology. Exploring for differences in olfactory dysfunction between PPMS and RRMS has been

From the Clinical and Experimental Multiple Sclerosis Research Center (F.A.S., R.G., H.K., K.R., F.P., L.H.), Department of Neurology, NeuroCure Clinical Research Center (F.A.S., F.P.), Department of Psychiatry (C.S.), Department of Audiology and Phoniatrics (Ö.G.), Charité-Universitätsmedizin Berlin (F.P.), Germany; Department of Neurology (M.B.M.), Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, IL; MSB Medical School Berlin (H.K.), Germany; and Experimental and Clinical Research Center (F.P.), Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Berlin, Germany.

Funding information and disclosures are provided at the end of the article. Go to Neurology.org/nn for full disclosure forms. The Article Processing Charge was funded by the authors.

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License 4.0 (CC BY-NC-ND), which permits downloading and sharing the work provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially without permission from the journal.

identified by other experts as a gap in the literature and potential area for future research.³ As such, we sought to test the hypothesis that olfactory sense impairment is present in patients with PPMS, and that olfactory dysfunction is more severe in PPMS than in RRMS.

METHODS Subjects. Standardized olfactory function testing was performed in patients diagnosed with PPMS and RRMS according to the 2010 McDonald criteria⁴ and in age-matched healthy controls (HCs). Predefined exclusion criteria were as follows: age younger than 18 or older than 70 years, pregnancy, olfactory disorders with a known different etiology (post-traumatic, postinfectious, sinonasal, infections of the upper respiratory tract, allergies, tumors treated with chemotherapy or radiation, depression, and Parkinson or Alzheimer disease), and patients taking medications that could cause olfactory dysfunction (e.g., amitriptyline, methotrexate, and doxycycline), including patients who had received corticosteroid treatment within the last 3 months since corticosteroids can also affect the olfactory function.⁵ We used the Expanded Disability Status Scale (EDSS) to measure physical disability.

Olfactory testing. The Threshold Discrimination Identification (TDI) Test was used for orthonasal olfactory testing.⁶ The olfactory threshold (T) was measured using 48 Sniffin' Sticks with a 16-stage dilution series of n-butanol. The discrimination test (D) was performed with 48 Sniffin' Sticks of different smell qualities to test the distinction of smells. Everyday odors were identified with the identification test, which consisted of 16 Sniffin' Sticks. A TDI value of less than 16 points was defined as anosmia, up to 31 points as hyposmia, and a value above 31 points as normosmia.⁶

Data analysis. Olfactory function measures in patients with PPMS were compared with HCs and patients with RRMS using

the Fisher exact test for categorical variables and the Student *t* test for continuous variables after confirming normality. There were no differences in age or sex between the PPMS and HC cohorts, although differences were identified between the PPMS and RRMS cohorts. To isolate the effect of PPMS vs RRMS pathology, we created linear regression models for each olfactory measure that included terms for MS subtype (PPMS vs RRMS), age, sex, EDSS, and disease duration. Statistical analyses were performed using SPSS 23.0 (IBM SPSS Statistics, Armonk, NY).

The study was approved by the medical ethics committee of Charité–Universitätsmedizin Berlin and was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and its currently applicable version and applicable German laws. All participants provided written informed consent to participate in the study.

RESULTS We studied 96 subjects, 32 with PPMS, 32 with RRMS, and 32 HCs. The demographics and clinical characteristics of study participants are shown in table 1. In the PPMS cohort, 26 (81%) were hyposmic and 4 (13%) anosmic, whereas 13 (41%) patients with RRMS were hyposmic and none were anosmic. Olfactory test results of the 3 cohorts and univariate differences in those characteristics are summarized in table 1 and presented in the figure. Of 16 possible points, the observed range of olfactory function scores was 0–12 for odor threshold, 5–16 for odor discrimination, and 1–16 for odor identification.

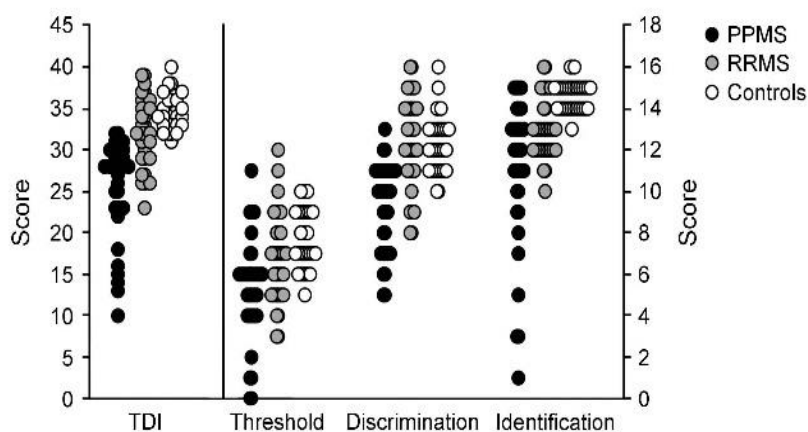
There were no significant differences in age or sex between the PPMS and HC groups. Patients with PPMS were found to have diminished odor threshold, odor discrimination, and odor identification, resulting in a lower composite olfactory function score compared with HCs. Univariate analysis also showed

Table 1 Patient characteristics

Diagnosis	PPMS	RRMS	Controls	p Value (PPMS vs RRMS)	p Value (PPMS vs controls)	p Value (RRMS vs controls)
No. of cases	32	32	32			
Age, y	53.4 ± 9.3	35.5 ± 9.3	51.9 ± 17.6	<0.001	0.68	<0.001
Sex (female)	13 (40.6)	22 (68.8)	17 (53.1)	0.044	0.45	0.31
Odor threshold	5.3 ± 2.6	6.8 ± 2.2	7.8 ± 1.4	0.016	<0.001	0.034
Odor discrimination	9.3 ± 2.2	12.4 ± 2.3	12.3 ± 1.4	<0.001	<0.001	0.84
Odor identification	10.9 ± 3.7	13.0 ± 1.5	14.6 ± 0.7	0.004	<0.001	<0.001
Composite (TDI)	25.4 ± 6.1	32.2 ± 4.2	34.8 ± 2.1	<0.001	<0.001	
Qualitative olfactory status						
Normal	2 (6)	19 (59)	31 (97)	<0.001	<0.001	<0.001
Hyposmic	26 (81)	13 (41)	1 (3)			
Anosmic	4 (13)	0 (0)	0 (0)			
EDSS	4.9 ± 2.1	2.6 ± 1.8	NA	<0.001	NA	NA
Disease duration, y	11.3 ± 8.4	5.6 ± 5.9	NA	0.002	NA	NA

Abbreviations: EDSS = Expanded Disability Status Scale; NA = not applicable; PPMS = primary progressive MS; RRMS = relapsing-remitting MS; TDI = Threshold Discrimination Identification. All values are presented in mean ± SD or n (%) unless otherwise specified.

Figure Olfactory function test results: differences of Threshold Discrimination Identification composite score and all individual olfactory subscores between 3 cohorts



Results are displayed with mean and SDs. Controls = healthy controls; PPMS = primary progressive MS; RRMS = relapsing-remitting MS; TDI = Threshold Discrimination Identification.

that patients with PPMS had lower odor threshold, discrimination, identification, and composite TDI score compared with patients with RRMS, although patients with PPMS also had worse EDSS and longer disease duration as well as differences in age and sex. Multivariate models that adjusted for age, sex, EDSS, and disease duration found that PPMS diagnosis was still associated with worse odor discrimination, identification, and composite TDI score compared with RRMS after adjustment for covariates, although no difference in odor threshold. There were no associations between any other patient characteristics and olfactory function measures except that higher EDSS was associated with diminished odor discrimination (table 2).

DISCUSSION This study shows that patients with PPMS have significantly decreased olfactory function compared with HCs. Moreover, in comparison with a cohort of patients with RRMS, PPMS diagnosis was an independent predictor of worse olfactory

function after adjustment for important covariates, whereas a standardized measure of disease disability (EDSS) and disease duration did not emerge as significant contributor to olfactory function.

Previous studies investigating olfactory function in patients with MS primarily included patients with RRMS. A decreased odor threshold was found in patients with clinically isolated syndrome and early disease stages of RRMS, whereas odor discrimination and odor identification were more often affected in later disease stages.³ A single study has reported olfactory assessments in patients with PPMS by testing odor identification alone and found mild impairment (13% affected).⁷ We have now demonstrated a significantly worse olfactory function in PPMS as compared to RRMS and further provide a model that adjusts for the significant baseline differences in disease duration and EDSS to show that the differences are not merely reflective of general disease burden but seem to be particular to disease subtype.⁷ It is important that we also found a much higher rate of olfactory impairment than in the prior cited study, suggesting that our testing method may be more sensitive.

The reasons for olfactory dysfunction in patients with MS are not well understood.³ A human autopsy cohort reported demyelination in parts of the olfactory pathway in 71% of pathologically confirmed MS cases.⁸ Decreased olfactory bulb volume is correlated with increased MS lesion load in the olfactory brain, both of which are linked to impaired olfactory function.^{3,9} Olfactory dysfunction is sometimes recognized in the context of acute relapses as well, implicating inflammatory damage.¹⁰ Observed differences between PPMS and RRMS, independent of other disease severity measures, suggest that PPMS may uniquely affect the olfactory brain tissue more than RRMS.

Although the olfactory testing techniques used here were robust, we did not use MRI to measure the lesion load and atrophy of the olfactory pathway

Table 2 Linear regression models for olfactory function measures

Olfactory measure	Threshold	Discrimination	Identification	Composite (TDI)
PPMS diagnosis (vs RRMS)	-0.86 (-2.71 to 0.99), <i>p</i> = 0.36	-1.87 (-3.54 to -0.20), <i>p</i> = 0.03 ^a	-2.32 (-4.55 to -0.10), <i>p</i> = 0.04 ^a	-5.00 (-9.05 to -0.95), <i>p</i> = 0.02 ^a
Age, y	-0.04 (-0.11 to 0.04), <i>p</i> = 0.31	-0.04 (-0.10 to 0.03), <i>p</i> = 0.28	0.02 (-0.07 to 0.11), <i>p</i> = 0.61	-0.06 (-0.22 to 0.11), <i>p</i> = 0.49
Female sex	-0.41 (-1.76 to 0.94), <i>p</i> = 0.54	0.25 (-0.97 to 1.47), <i>p</i> = 0.68	-0.06 (-1.68 to 1.56), <i>p</i> = 0.94	-0.19 (-3.14 to 2.77), <i>p</i> = 0.90
EDSS	-0.19 (-0.54 to 0.16), <i>p</i> = 0.28	-0.35 (-0.67 to -0.03), <i>p</i> = 0.03 ^a	-0.1 (-0.52 to 0.33), <i>p</i> = 0.66	-0.64 (-1.42 to 0.14), <i>p</i> = 0.10
Disease duration, y	0.07 (-0.03 to 0.17), <i>p</i> = 0.16	0.04 (-0.04 to 0.13), <i>p</i> = 0.32	0.00 (-0.12 to 0.11), <i>p</i> = 0.94	0.11 (-0.10 to 0.33), <i>p</i> = 0.30

Abbreviations: EDSS = Expanded Disability Status Scale; PPMS = primary progressive MS; RRMS = relapsing-remitting MS; TDI = Threshold Discrimination Identification.

^aSignificant.

and compare it with other regions of the brain, which may have helped clarify the etiology of the differences we observed between the PPMS and RRMS groups. At this time, techniques to accurately measure lesion burden in the small structures comprising the olfactory system are not well established or anatomically-pathologically validated. Finally, although we constructed a multivariate model to control for important disease covariates such as age and overall disability, the size of our cohort is relatively small, and we cannot exclude the possibility that the relationship between the MS subgroup and olfactory dysfunction is mediated or confounded by a variable we did not measure, or incompletely adjusted for age, sex, EDSS, and disease duration.

We conclude that olfactory dysfunction is a frequent symptom in patients with PPMS, leading to severe olfactory impairment, and is uniquely more severe in PPMS compared with RRMS. The findings suggest that olfactory dysfunction might be a surrogate of neurodegeneration in these patients. Studies correlating olfactory function with radiologic and clinical markers of disease progression would be of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Felix Schmidt: study concept and design, acquisition of data, draft of the manuscript and figures, and study supervision. Matthew Maas: analysis and interpretation of data and critical revision of manuscript for intellectual content. Rohat Geran and Charlotte Schmidt: acquisition of data and critical revision of manuscript for intellectual content. Hagen Kunte, Klemens Ruprecht, Friedemann Paul, and Önder Göktas: critical revision of manuscript for intellectual content. Lutz Harms: study concept and design and critical revision of manuscript for intellectual content.

STUDY FUNDING

No targeted funding reported.

DISCLOSURE

F. Schmid received speaker honoraria from Genzyme. M. Maas served on the scientific advisory board for Hyperfine Research and received research support from the NIH. R. Geran and C. Schmidt report no disclosures. H. Kunte served on the scientific advisory board for Roche, Novartis, and Genzyme and received travel funding and/or speaker honoraria from Bayer, Biogen, Genzyme, Merck, Mylan, Novartis, Roche, and Teva. K. Ruprecht served on the scientific advisory board for Sanofi-Aventis/Genzyme, Novartis, and Roche; received travel funding and/or speaker honoraria from Bayer, Biogen, Merck Serono, Sanofi-Aventis/Genzyme, Teva, Novartis, and Guthy Jackson Charitable Foundation; is an academic editor for *PLoS One*; received publishing royalties from Elsevier; and received research support from Novartis, Merck Serono, and German Ministry of Education and Research. F. Paul served on the scientific advisory board for Novartis and MedImmune; received

travel funding and/or speaker honoraria from Bayer, Novartis, Biogen Idec, Teva, Sanofi-Aventis/Genzyme, Merck Serono, Alexion, Chugai, MedImmune, and Shire; is an academic editor for *PLoS One*; associate editor for *Neurology® Neuroimmunology & Neuroinflammation*; consulted for Sanofi Genzyme, Biogen Idec, MedImmune, Shire, and Alexion; and received research support from Bayer, Novartis, Biogen Idec, Teva, Sanofi-Aventis/Genzyme, Alexion, Merck Serono, German Research Council, Werth Stiftung of the City of Cologne, German Ministry of Education and Research, Arthur Arnstein Stiftung Berlin, Arthur Arnstein Foundation Berlin, Guthy Jackson Charitable Foundation, and National Multiple Sclerosis Society of the USA. Ö. Göktas reports no disclosures. L. Harms served on the scientific advisory board for Novartis, Sanofi/Genzyme, Roche, and Biogen and received travel funding and/or speaker honoraria from Biogen, Merck Serono, Genzyme, Teva, Bayer Health Care, Novartis, and Grifols. Go to Neurology.org/nn for full disclosure forms.

Received January 23, 2017. Accepted in final form April 23, 2017.

REFERENCES

1. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology* 2014;83:278–286.
2. Lassmann H, van Horssen J, Mahad D. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nat Rev Neurol* 2012;8:647–656.
3. Lucassen EB, Turel A, Knehans A, Huang X, Eslinger P. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis: a scoping review of the literature. *Mult Scler Relat Disord* 2016;6: 1–9.
4. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 2011;69:292–302.
5. Heilmann S, Just T, Göktas O, Hauswald B, Hüttenbrink K-B, Hummel T. Effects of systemic or topical administration of corticosteroids and vitamin B in patients with olfactory loss. *Laryngorhinootologie* 2004;83:729–734.
6. Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A. 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. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007;264:237–243.
7. Silva AM, Santos E, Moreira I, et al. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis: association with secondary progression. *Mult Scler* 2012;18:616–621.
8. DeLuca GC, Joseph A, George J, et al. Olfactory pathology in central nervous system demyelinating diseases. *Brain Pathol* 2015;25:543–551.
9. Goektas O, Schmidt F, Bohner G, et al. Olfactory bulb volume and olfactory function in patients with multiple sclerosis. *Rhinology* 2011;49:221–226.
10. Doty RL, Li C, Mannon LJ, Yousem DM. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis: relation to longitudinal changes in plaque numbers in central olfactory structures. *Neurology* 1999;53:880–882.

5. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

6. Vollständige Publikationsliste

Kronenberg G, Schöner J, Levitanus M, Alvarado Balderrama AV, **Geran R**, Laumeier I, Schlattmann P, Nelson CP, Endres M, Gertz K. The importance of previous lifetime trauma in stroke-induced PTSD symptoms and mental health outcomes. *J Psychiatr Res.* 2021 Apr;136:589-594.

Geran R, Uecker FC, Prüss H, Haeusler KG, Paul F, Ruprecht K, Harms L, Schmidt FA. Olfactory and Gustatory Dysfunction in Patients With Autoimmune Encephalitis. *Front Neurol.* 2019 May 14;10:480.

Bellmann B, Rillig A, Skurk C, Leistner DM, Haeusler KG, Lin T, **Geran R**, Koehler L, Guttman S, Tscholl V, Roser M, Lenz K, Villringer K, Wun Park J, Fiebach JB, Landmesser U. Long-term follow up of 3 T MRI-detected brain lesions after percutaneous catheter-based left atrial appendage closure. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2018 Aug 1;92(2):327-333.

Schmidt FA, Harms L, Prüss H, **Geran R**, Olze H, Maas MB, Uecker FC. Die Ableitung olfaktorisch evozierter Potenziale in Patienten mit limbischer Enzephalitis. *Klinische Neurophysiologie.* 2019;50(01):11-6.

Rillig A, Bellmann B, Skurk C, Leistner DM, Haeusler KG, Lin T, **Geran R**, Koehler L, Guttman S, Steffens D, Kasner M, Jakob P, Tscholl V, Roser M, Lenz K, Villringer K, Park JW, Fiebach JB, Landmesser U. Left atrial appendage angiography is associated with the incidence and number of magnetic resonance imaging-detected brain lesions after percutaneous catheter-based left atrial appendage closure. *Heart Rhythm.* 2018 Jan;15(1):3-8.

Schmidt FA, Maas MB, **Geran R**, Schmidt C, Kunte H, Ruprecht K, Paul F, Göktas Ö, Harms L. Olfactory dysfunction in patients with primary progressive MS. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2017 Jun 14;4(4):e369.

7. Danksagung

Ich möchte an erster Stelle Herrn Prof. Dr. med. Lutz Harms für die Überlassung des Themas, die konstruktive Unterstützung und die wertvollen Ratschläge danken. Insbesondere auch seine klinische Expertise sind mir ein Vorbild in meiner neurologischen Ausbildung.

Mein besonderer Dank gebührt meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med. Felix Schmidt für die ausgezeichnete und engagierte Betreuung mit Beginn der Studienplanung bis zum Verfassen der Dissertation. Seiner Geduld und stetigen Unterstützung verdanke ich den Abschluss dieses Projektes.

Gerne möchte ich mich auch bei Herrn Prof. Dr. med. Harald Prüß für die Unterstützung bei der Rekrutierung ambulanter Patient*innen und für seine Expertise bedanken.

Herrn Dr. med. Florian Uecker aus der HNO-Klinik der Charité möchte ich für die gute Zusammenarbeit danken.

Diese Forschungsarbeit wäre ohne die Menschen, die an einer Autoimmunen Zephalitis oder an einer Multiplen Sklerose erkrankt sind und sich freiwillig der Wissenschaft zur Verfügung stellen, nicht möglich. Ihnen allen danke ich für die Unterstützung der Forschung und wünsche ihnen, dass sich von zukünftigem wissenschaftlichem Fortschritt profitieren.

Ich möchte mich auch bei allen Freund*innen bedanken, die mich während der Promotion auf verschiedene Weise unterstützt haben: Sema, Julius, Esra, Anya, Verena, Maxi, Tim, Ida, Andi, Joanna, David, Sarah und vielen anderen, die sich mit mir ausgetauscht haben. Mein herzlichster Dank gilt meiner Familie: meinen Eltern, die nicht nur während des Studiums und der Promotion mit größter Unterstützung an meiner Seite waren, sondern schon seit meiner Kindheit an mich geglaubt und mich kontinuierlich bei allem gefördert haben, und meinen zwei wundervollen Schwestern, die immer für mich da sind und mir in ihrer Stärke ein Vorbild sind.