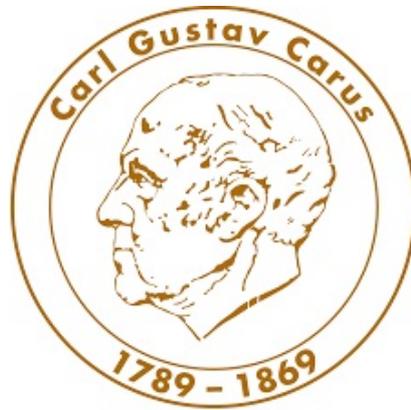


Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde  
des Universitätsklinikums Dresden

Direktor: Herr Prof. Dr. med. Dr. h.c. Thomas Zahnert



# Antinukleäre Antikörper bei postviralen Riechstörungen – eine Pilotstudie

---

## **Dissertationsschrift**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt

der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus

der Technischen Universität Dresden

von

Anne Zimmermann

**Dresden 2017**

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	0
1 Einleitung und Fragestellung .....	4
2 Riechsinn .....	8
2.1 Die Bedeutung des Riechens .....	8
2.2 Riechstörungen .....	9
2.2.1 Ätiologie/ Epidemiologie .....	9
2.2.2 Diagnostik/ Klinik.....	12
2.2.3 Therapie.....	16
2.3 Postvirale Riechstörung .....	18
2.3.1 Ätiologie/ Epidemiologie .....	18
2.3.2 Klinik .....	19
2.3.3 Therapie.....	19
3 Grundlagen der Immunologie .....	21
3.1 Das Immunsystem – ein Einblick.....	21
3.2 Immunglobuline .....	23
3.3 Immuntoleranz und Autoimmunität .....	25
3.4 Immundiagnostik und indirekte Immunfluoreszenz .....	27
3.5 Immuntherapie – ein Ausblick.....	28
4 Material und Methoden.....	30
4.1 Allgemeines Studiendesign .....	30
4.2 Patienten.....	30
4.3 Untersuchungsablauf .....	32

4.3.1	Anamnese .....	32
4.3.2	Testung der olfaktorischen Funktion .....	32
4.3.3	Blutentnahme .....	36
4.3.4	Behandlung der Proben .....	36
4.3.5	Analyse der Serumproben.....	37
4.4	Statistische Auswertung .....	38
5	Ergebnisse .....	40
5.1	Patientengruppen.....	40
5.2	Alter und Geschlecht der Patienten .....	41
5.3	Raucher/ Nichtraucher .....	42
5.4	SDI Werte.....	42
5.5	Dauer der Riechstörung .....	44
5.6	Antinukleäre Antikörper .....	45
5.6.1	ANA IgG IFT und ANA gegen Hep-2-Zellen.....	47
6	Diskussion.....	49
6.1	Patientengruppen.....	49
6.2	Alter und Geschlecht der Patienten .....	50
6.3	Raucher / Nichtraucher .....	51
6.4	SDI-Werte .....	52
6.5	Dauer der Riechstörung .....	53
6.6	Antinukleäre Antikörper .....	54

6.6.1	IgG in der indirekten Immunfluoreszenztechnik .....	54
6.6.2	Autoantikörperdiagnostik mit Hep-2-Zellen .....	55
6.7	Olfaktorische Funktion und Immunsystem .....	57
7	Zusammenfassung .....	64
8	Summary .....	66
9	Anhang .....	67
9.1	Abkürzungsverzeichnis .....	67
9.2	Literaturverzeichnis .....	69
9.3	Abbildungsverzeichnis .....	75
9.4	Tabellenverzeichnis .....	76
9.5	Patientenfragebögen .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
9.5.1	Probandeninformation .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
	Informationsblatt zur Studie .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
	Hintergrund und Ziel der Studie .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
	Untersuchung .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
9.5.2	Einwilligungserklärung .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
	Einwilligungserklärung .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
	Studie: Antinukleäre Antikörper bei postviralen Riechstörungen	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
9.5.3	Fragebogen zu Gerinnungsstörungen .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
9.6	Erklärung zur Eröffnung des Promotionsverfahrens	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>

- 9.7 Erklärung zur Einhaltung rechtlicher Vorschriften **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
- 9.8 Curriculum Vitae..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
- 9.9 Danksagung..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**

## 1 Einleitung und Fragestellung

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob bei Patienten mit postviraler Riechstörung Autoantikörper im Serum gefunden werden können. Diese Annahme stützt sich auf wissenschaftliche Arbeiten auf dem Feld der Olfaktologie, der Infektiologie und Autoimmunerkrankungen. Es konnte bisher gezeigt werden, dass es sowohl einen Zusammenhang zwischen Autoimmunerkrankungen und dem Verlust des Riechvermögens, als auch zwischen Virusinfektionen und Autoimmunerkrankungen gibt. Nun wird der Bogen geschlagen zur Autoimmunität bei postviraler Riechstörung. Um den Komplex der Riechstörungen annähernd überschauen zu können, müssen zusätzlich Arbeiten zu neurodegenerativen Erkrankungen und psychischen Störungen mit einbezogen werden. Auch hier kann das Riechvermögen betroffen sein.

Dass Infektionen autoimmune Prozesse auslösen können, zeigen akute Erkrankungen wie das rheumatische Fieber ( $\beta$ -hämolyisierende Streptokokken Gruppe A) oder das Guillain-Barré-Syndrom (*Campylobacter Jejuni*, Herpesviren, u.a.m.). Dass auch chronische Autoimmunerkrankungen wie der Diabetes mellitus Typ 1 durch virale Infekte getriggert werden können, sollte in einer Arbeit von Filippi und Herrath 2005 gezeigt werden. Sie vermuteten, dass wiederholte Infektionen bei genetisch vorbelasteten Individuen zum Ausbruch der Krankheit führen können. Dabei scheint der Mechanismus des molekularen Mimikry eine Rolle zu spielen. Das Immunsystem greift über Kreuzreaktionen zwischen viralen Proteinen und Zellantigenen eigene Strukturen an, in diesem Fall die Inselzellen des Pankreas. Der Prozess der kontinuierlichen Schädigung kann über Jahre laufen, bis eine weitere Infektion akut zu einer endgültigen Zerstörung der Zellen und damit zum Ausbruch der Krankheit führt. Bisher konnte jedoch kein eindeutiger Zusammenhang zwischen Virusinfektionen und der Ausprägung von Typ 1 Diabetes erkannt werden.

Ein Grund dafür ist unter anderem, dass sich abgelaufene Virusinfektionen schlecht nachweisen lassen. Bestimmte Titer sind auch in gesunden Individuen zu finden, was die Abgrenzung zu pathologischen Veränderungen erschwert. Die Erkrankung des Typ 1 Diabetes ist multifaktoriell bedingt und die Rolle von Virusinfektionen in der Pathogenese bisher ungeklärt (Filipi and Herrath, 2005). Unabhängig von den Triggerfaktoren ist eine genetische Prädisposition nötig, um die Krankheit zu entwickeln.

Patienten mit Autoimmunerkrankungen leiden überdurchschnittlich häufig an Depression und psychiatrischen Symptomen. Es lassen sich Autoantikörper nachweisen, von denen einige das zentrale Nervensystem (ZNS) und auch ganz spezifisch das Riechsystem angreifen. Erstmals konnte gezeigt werden, dass eine konsequente Therapie mit Antidepressiva die Riechfunktion verbessern kann. Auf der anderen Seite kann ein olfaktorisches Defizit im Gesunden Depression auslösen (Ortega-Hernandez et al., 2009a). Der psychiatrischen und der autoimmunen Erkrankung ist gemeinsam, dass beide einen Anstieg der proinflammatorischen Zytokine aufweisen und sowohl depressive Symptome als auch Riechstörungen schon früh im Krankheitsverlauf auftreten (Moscavitch et al., 2009a).

Warum das Riechen bei autoimmunen Prozessen beeinträchtigt ist, ist bisher noch nicht ausreichend geklärt. Autoimmunität entsteht aus dem Zusammenwirken von Immundysregulation, Hormonen, Umweltfaktoren und genetischen Einflüssen. All diese Komponenten sind wiederum selbst mit dem Riechen verbunden (Perricone et al., 2012). Ein Standardverfahren, um im Mausmodell Depression zu simulieren, ist die Bulbus Ektomie. Diese hat auch Einfluss auf das Immunsystem der Tiere. In einer Untersuchung von Strous und Shoenfeld 2006 kam es neben dem Riechverlust auch zu einem Anstieg der Akute-Phase-Proteine und der nächtlichen Cortisolausschüttung. T-Helferzellen wurden aktiviert, was auf ein autoimmunes Geschehen hindeutet. Außerdem kam es zu Störungen in verschiedenen Neurotransmittersystemen wie Noradrenalin und Acetylcholin. Diese Versuche zeigen einmal mehr, wie stark das Immunsystem, das ZNS und das olfaktorische System miteinander verknüpft sind (Strous and Shoenfeld, 2006a). Ein weiteres Tiermodell untersuchte das Verhalten von Honigbienen, nachdem diese mit einer Lösung aus Lipopolysacchariden behandelt wurden. Lipopolysaccharide sind unter anderem in Zellwänden von gramnegativen Bakterien zu finden. Sie sind nicht pathogen, können aber einen starken Stimulus für das Immunsystem der Bienen bilden.

Nach erfolgter Behandlung zeigten die Tiere deutliche Defizite im assoziativen Lernen gegenüber ihren gesunden Artgenossen. Ihre bisherige Fähigkeit war vermindert, einen Duft mit Zuckerwasser in Verbindung zu bringen, außerdem reagierte ihr Immunsystem stark mit antibakterieller Aktivität. Zusammengenommen zeigt dies, dass sich die Riechstörung der Biene allein auf die Aktivität des Immunsystems zurückführen lässt, nicht auf die Infektion selbst (Mallon et al., 2003a).

Beim Menschen kann das Riechvermögen als Vorhersagewert für den künftigen Verlauf zum Beispiel der Demenz vom Alzheimer-Typ dienen. Es fungiert unter anderem als wichtiger Marker zur Früherkennung der Krankheit, wenn die Funktionseinschränkung rechtzeitig erkannt wird (Strous and Shoenfeld, 2006a). Interessant hierbei ist, wie wenige Betroffene sich ihrer Riechstörung überhaupt bewusst sind. Patienten, die im Rahmen der Alzheimer-Krankheit an einer leichten kognitiven Beeinträchtigung leiden, wissen unter Umständen nichts von ihrer verminderten olfaktorischen Sensitivität. Ähnlich verhält es sich bei der Myasthenia gravis, einer Autoimmunerkrankung, die mit einer neuromuskulären Übertragungsstörung einhergeht. Von den 27 in einer Studie von Leon-Sarmiento et al. untersuchten Patienten mit Myasthenia gravis wiesen alle ein Defizit beim UPSIT (University of Pennsylvania Smell Identification Test) auf. Nur 15 % von ihnen gaben jedoch anamnestisch eine Riechstörung an. Die anderen waren sich dessen bis dahin gar nicht bewusst gewesen. Als mögliche Erklärung könnte dienen, dass Riechtestungen in dieser Ausführlichkeit unter Neurologen nicht alltäglich durchgeführt werden. Üblich sind in der Praxis Kurztests mit 1-2 Düften. Mit diesem Verfahren können jedoch höchstens Anosmien, aber keine Hyposmien detektiert werden. Der Patient selbst scheint einen schleichenden Riechverlust erst sehr spät zu bemerken. Wenn die Störung auffällt, wird sie häufig als Schmeckstörung missdeutet, da komplexe Aromen der Speisen nicht mehr wahrgenommen werden können (Leon-Sarmiento et al., 2012).

Auf der Basis dieses Wissens werden in der vorliegenden Dissertationsschrift folgende Fragen beantwortet:

- Können bei Patienten mit postviraler Riechstörung Hinweise auf Autoimmunprozesse in Form von Autoantikörpern gefunden werden?
- Wenn ja, welche sind das?
- Unterscheidet sich das Autoantikörper-Profil bei Patienten mit postinfektiöser Riechminderung von dem der Patienten mit Riechstörungen anderer Genese?
- Was verbindet das olfaktorische System mit autoimmunen Erkrankungen?

## 2 Riechsinn

### 2.1 Die Bedeutung des Riechens

Dem Riechen wird von allen Sinnesqualitäten, neben dem Hören, Sehen, Fühlen und Schmecken, scheinbar die geringste Bedeutung beigemessen. Der Verlust dieses Sinnes scheint zunächst weniger dramatisch. Doch wie schwer das tatsächlich wiegt, erkennt man erst, wenn er ausfällt. Speisen schmecken fad, da der Feingeschmack für Aromen verloren geht und das alltägliche Leben ist weniger facettenreich. Es besteht eine große Unsicherheit bezüglich des eigenen Körpergeruchs. Patienten mit Hyposmie neigen zu übertriebener Körperhygiene und übermäßigem Gebrauch von Parfüm (Hummel and Nordin, 2004). Im Allgemeinen ermöglicht uns das Riechen positive Erlebnisse und Genussmomente. Schon ein schwacher Duft reicht aus, um sofort vielfältige Assoziationen auszulösen, man erinnert sich an eine andere Zeit, an längst vergessene Orte oder an eine bestimmte Person. Schon von Geburt an nutzt der Mensch den Geruchssinn zur Orientierung. Bei Neugeborenen kann während der ersten Lebensstage und Wochen eine Hinwendung zur eigenen Mutter beobachtet werden. Der Duft der Brust oder ihr Körpergeruch wird eindeutig dem anderer Frauen vorgezogen (MacFarlane, 1975). Im Erwachsenenleben spielt das Riechvermögen eine vordergründige Rolle bei der Auswahl von Speisen und Getränken. Es verschafft Genuss, aber auch Mäßigkeit. Bei Patienten mit Hyposmie ist immer wieder zu beobachten, dass sie an Gewicht zunehmen. Sie essen süßer und fettiger, um das mangelnde Genusserleben zu kompensieren. Auch nehmen sie größere Mengen auf als noch vor Beginn der Störung. Das fehlende Geschmackserlebnis regt an zu übermäßigem Verzehr (Hummel and Nordin, 2004). Im Gegensatz dazu verlieren Patienten mit Parosmien oder Phantosmien den Appetit und damit auch an Gewicht. Speisen schmecken für den Betroffenen anders als gewohnt und tragen ein als ekelig empfundenen Aroma (Hummel and Nordin, 2004).

Nun soll das Riechvermögen nicht nur Genuss bei Speisen und Getränken ermöglichen, es ist auch maßgeblich an der Erkennung von Gefahren beteiligt. Wichtige Beispiele hierfür sind ein Schmelbrand in der Küche, ein Gasleck im Keller oder die Erkennung verdorbener Lebensmittel vor dem Verzehr.

Des Weiteren scheint die Nase eine Rolle bei der Wahl des Lebensgefährten zu spielen. Dabei werden Partner ausgesucht, die andere als die eigenen HLA-Merkmale (humanes Leukozytenantigen) tragen. Diese Gene spielen eine große Rolle für das Immunsystem und können von Säugetieren scheinbar olfaktorisch kodiert wahrgenommen werden. Dabei konnte in großen Studien beobachtet werden, dass bei der Partnerwahl den Personen mit möglichst heterogenen HLA-Merkmalen der Vorzug gegeben wird. Vor allem Frauen schienen darin evolutionsbiologisch einen großen Vorteil für ihre Nachkommen zu sehen. Es hat auch Einfluss auf die Zufriedenheit im Sexualleben und den Kinderwunsch des Paares (Kromer et al., 2016; Winternitz et al., 2017). Wie genau das funktioniert ist derzeit noch Gegenstand wissenschaftlicher Forschung. Es muss weiter untersucht werden, wie groß der Einfluss tatsächlich ist und ob die Ergebnisse reproduzierbar sind unabhängig von den vielen anderen Faktoren, die bei der Partnerwahl eine Rolle spielen.

## **2.2 Riechstörungen**

### **2.2.1 Ätiologie/ Epidemiologie**

Man kann davon ausgehen, dass Riechstörungen im deutschsprachigen Raum zu den nicht seltenen Erkrankungen gehören. Vennemann et al. untersuchten eine sehr große Gruppe von Probanden und konnten beobachten, dass 18 % der Studienteilnehmer eine Hyposmie aufwiesen. 3,6 % der untersuchten Probanden zeigten eine funktionelle Anosmie (Vennemann et al., 2008). Schätzungen zufolge werden ca. 79.000 Patienten jährlich aufgrund von Riechstörungen allein in Deutschland in HNO-Kliniken behandelt (Damm et al., 2004).

### 2.2.1.1 Sinunasale Riechstörung

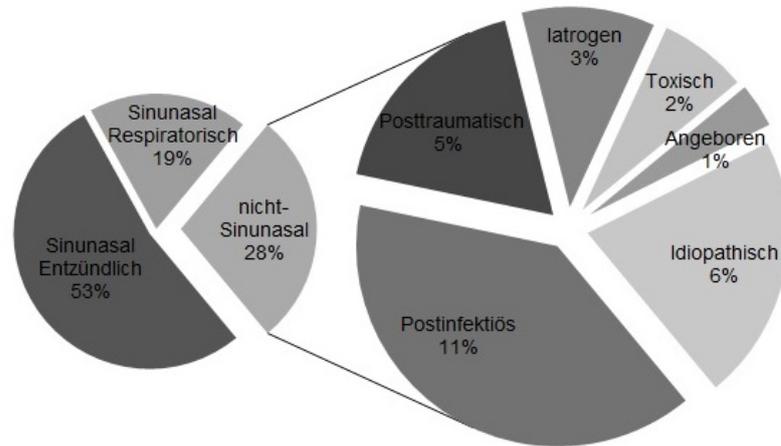
Die Ursachen von Riechstörungen können ganz vielfältig sein (siehe auch Abbildung 1). Aus einer Umfrage von Damm et al. 2004 geht die sinunasale Riechstörung mit 72 % aller Erkrankungen als die Häufigste hervor. Dabei unterscheidet der Kliniker zwischen einer entzündlichen Erkrankung der Nase und der Nasennebenhöhlen und einer etwas selteneren nicht-entzündlichen Form, einer respiratorischen Störung. Letztere kann bedingt sein durch eine Fehlstellung des Nasenseptums, eine posttraumatische anatomische Veränderung oder eine nicht-anatomische nasale Hyperreaktivität auf Medikamente oder Hormone. Die Minderung der olfaktorischen Sensitivität wird dann durch die mechanische Obstruktion der Riechspalte und die damit einhergehende Veränderung der Strömungseigenschaften bedingt. Die entzündliche Ursache einer sinunasalen Riechstörung kann in der Nase oder den Nasennebenhöhlen zu finden sein. Dabei lässt sich eine infektiöse von einer nicht-infektiösen Genese unterscheiden. Unter den infektiösen Ursachen ist die chronisch-rezidivierende, eitrige Rhinosinusitis zu nennen. Eine nicht-infektiöse Ursache ist eine Hyperreaktivität mit allergischer Komponente oder auch die Rhinosinusitis mit Nasenpolypen. In einer Studie an 56 Patienten mit nasaler Polyposis konnte gezeigt werden, dass das retronasale Riechvermögen der Patienten besser war als das orthonasale, während gesunde Probanden keinen Unterschied aufwiesen (Landis et al., 2003). Oft kann die Diagnose einer sinunasalen Riechstörung bestätigt werden, wenn sich die Symptome unter Gabe von lokalen oder systemischen Kortikosteroiden bessern (Stuck et al., 2003).

### 2.2.1.2 Nicht-sinunasale Riechstörung

Unter den nicht-sinunasalen Riechstörungen finden sich die postvirale (in 11 % der Fälle) sowie die posttraumatische Störung (5 %). Hier führt ein Schädel-Hirn-Trauma zu organischen Schäden am Riechsystem und in der Folge zur Anosmie. Vor allem bei okzipitaler Verletzung mit Coup und Contrecoup zeigen sich häufig Schäden.

Es kann durch Scherkräfte zum Abriss der Fila olfactoria des Nervus olfactorius kommen, sowie zu Läsionen der Riechschleimhaut. Bei Einblutung in Tractus und Bulbus olfactorius sind Degenerationen beider Strukturen als Spätfolgen beobachtet worden (Delank and Fechner, 1996).

Seltenerer Fälle sind die iatrogene (3 %), toxisch-chemische (2 %) und angeborene Riechstörung (1 %). Letztere kann als Symptom einer Erbkrankheit oder aber isoliert am ansonsten gesunden Menschen auftreten. Die kongenitale Anosmie zeichnet sich durch das Fehlen bzw. die Hypoplasie von Bulbus und Tractus olfactorius aus. Den Nachweis erbringt eine MRT-Untersuchung (Yousem et al., 1996). Bei Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen ist die Riechminderung meist eines der ersten Symptome der Erkrankung und sollte daher ernsthaft untersucht werden. Beispiele für eine solche Erkrankung sind die Parkinson-Krankheit und Myasthenia gravis. In beiden Fällen treten Riechstörungen schon sehr früh im Krankheitsverlauf auf und nehmen mit der Zeit zu (Strous and Shoenfeld, 2006a; Benkler et al., 2009). Kann keine konkrete Ursache gefunden werden, spricht man von idiopathischer Riechstörung (in 6 % der Fälle), allerdings sollte diese Diagnose nur vergeben werden, wenn alle diagnostischen Möglichkeiten erfolglos ausgeschöpft wurden.



**Abbildung 1:** Die Abbildung zeigt die Häufigkeiten, mit der Riechstörungen unterschiedlicher Genese im deutschsprachigen Raum auftreten. 72 % der Erkrankungen sind sinusnasaler, 28 % nicht-sinusnasaler Genese.

## 2.2.2 Diagnostik/ Klinik

### 2.2.2.1 Diagnostisches Procedere

Die Diagnostik in einer HNO-Klinik sollte bei Verdacht auf eine Riechstörung einem festen Schema folgen, empfohlen von der Arbeitsgemeinschaft Olfaktologie und Gustologie der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie e.V., Bonn in ihrer Leitlinie „Diagnostik und Therapie von Riechstörungen“ (Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie e.V., Bonn, 2016). Beginnend mit der Anamnese wird gezielt nach Auslösern für die Störung, der zeitlichen Entwicklung, Vorerkrankungen, sowie Parosmien oder Phantosmien gefragt. Es folgt eine ärztliche Untersuchung, wobei der HNO-Status erhoben wird, einschließlich endoskopischer Beurteilung von Nase und Riechspalte.

Kann dabei ein akuter Infekt als Auslöser einer temporären Riechminderung ausgeschlossen werden, folgt der nächste diagnostische Schritt, die Prüfung der olfaktorischen Funktion zum Beispiel mit der Sniffin´Sticks-Testreihe.

Der Identifikationstest kann dabei vor und nach Abschwollen der Nasenschleimhaut durchgeführt werden. Tritt nach lokaler Gabe abschwellender Medikamente eine Besserung des Riechvermögens ein, ist eine sinunasale Ursache als wahrscheinlich anzunehmen. Anschließend wird ein ausführlicher Riechtest durchgeführt. Dieser prüft zusätzlich zur Identifikation auch Riechschwelle und Diskrimination von Düften (Hummel et al., 1997), er dient der Diagnostik von quantitativen Riechstörungen. Gesunde Probanden erzielen bei diesem Testverfahren Ergebnisse von insgesamt über 30,5 Punkten. Eine Hyposmie liegt vor, wenn Patienten Werte zwischen 16,5 und 30 Punkten erreichen. Riecheindrücke werden dann vereinzelt wahrgenommen, jedoch sind die Patienten in ihrem Alltag stark eingeschränkt. Ist der Geruchssinn komplett ausgefallen, spricht man von funktioneller Anosmie. Die Patienten erreichen im Sniffin´Sticks-Test nur mehr Werte von bis zu 16 Punkten.

Zusätzlich zur Riechtestung wird ein orientierender, globaler Schmecktest durchgeführt. Die Patienten erhalten überschwellige Lösungen als Tropfen oder Spray für vier der fünf Grundgeschmacksarten, die von der Zunge erkannt werden können. Dazu zählt „süß“ in Form einer 10 %-igen Saccharoselösung, „sauer“ als 5 %-ige Zitronensäurelösung, „salzig“ als 7,5 %-ige Natriumchloridlösung, sowie „bitter“ in einer 0,05 %-igen Chininhydrochloridlösung. Dem Patienten werden ein oder mehrere Sprühstöße oral appliziert. Direkt im Anschluss wird er aufgefordert, den Geschmack zu identifizieren. Nur „umami“, der Geschmack von Glutamat, wird bei diesem Testverfahren nicht untersucht. Eine ausführliche Untersuchung und Riechtestung mit geeigneten Tests ist sehr wichtig, da die subjektive Einschätzung des Riechvermögens von Patienten oft nicht mit dem Resultat der objektiven Tests korreliert. Das kann ganz unterschiedliche Formen annehmen. Patienten nehmen ihre Riechstörung entweder erst sehr spät wahr und fühlen sich nur mäßig beeinträchtigt oder aber sie verspüren einen starken Leidensdruck bis hin zum Aggravieren der Erkrankung (Leon-Sarmiento et al., 2012).

### 2.2.2.2 Parosmie und Phantosmie

Besonders leiden betroffene Patienten unter einer qualitativen Riechstörung - der veränderten Wahrnehmung von Düften. Dazu zählen Parosmie und Phantosmie. Die Ursache von qualitativen Riechstörungen ist leider noch nicht abschließend verstanden. Es scheinen sowohl periphere als auch zentrale Einflussfaktoren eine Rolle zu spielen. Bei der Parosmie wird eine Umdeutung von tatsächlich vorhandenen Geruchswahrnehmungen beobachtet. Es kommt zu einer veränderten Wahrnehmung in Anwesenheit eines Duftes. Die Empfindung kann als unangenehm, seltener als angenehm beschrieben werden. Wie genau es zu dieser Fehlwahrnehmung kommt, ist bisher nicht eindeutig geklärt. Frasnelli et al. beschrieben die Annahme, dass die Erkrankung unter anderem durch eine Schädigung olfaktorischer Rezeptorneurone im Riechepithel zu erklären ist. Die noch vorhandenen Neurone können den Duft detektieren und ein Riecherleben auslösen, jedoch sind zu wenige Neurone funktionstüchtig, als dass das Muster der Duftmoleküle richtig abgebildet werden kann. So kommt es zur Fehlwahrnehmung, der Geruch wird nicht erkannt und als neu und unangenehm empfunden (Frasnelli et al., 2004). In MRT-Studien konnte bisher gezeigt werden, dass das Volumen des Bulbus olfactorius der Betroffenen reduziert war. Außerdem konnten Verluste von grauer Substanz an primärem und sekundärem olfaktorischem Kortex nachgewiesen werden. Es handelt sich bei der Parosmie um eine unabhängige olfaktorische Störung. Männer und Frauen jeden Alters können gleichermaßen betroffen sein (Bitter et al., 2011; Croy et al., 2013). Besonders häufig tritt die Parosmie in Kombination mit einer quantitativen Riechstörung nach Schädel-Hirn-Trauma oder postinfektiöser Riechstörung auf. In diesem Zusammenhang kann die Fehlwahrnehmung von Düften als Zeichen der Regeneration von olfaktorischem Epithel und Rezeptorneuronen gewertet werden. Die Erscheinung gilt als prognostisch günstiges Zeichen für die quantitative Riechstörung (Frasnelli et al., 2004).

Bei der Phantosmie handelt es sich um eine Fehlwahrnehmung ohne erkennbaren Auslöser. Sie kann plötzlich beginnen und intermittierend oder dauerhaft auftreten. Als Ursache wird eine Überaktivität von olfaktorischen Rezeptorneuronen mit einer Verminderung inhibitorischer Neuronen diskutiert (Frasnelli et al., 2004). Der vom Patienten wahrgenommene Geruch wird meist als negativ konnotiert beschrieben, so zum Beispiel als „faulig“, „nach Abwasser“ oder „chemisch“ riechend. Solange der Fehlgeruch vorherrscht, ist die Riechleistung des Betroffenen stark eingeschränkt. Auch schmecken alle Speisen, die er in der Zeit zu sich nehmen möchte nach dem beschriebenen Aroma. Der Sinneseindruck lässt sich durch Essen und Trinken nicht beheben. Das führt schnell zur Abneigung gegen viele Lebensmittel und in der Folge zu einem gestörten Essverhalten mit Gewichtsabnahme (Leopold et al., 2002).

### **2.2.2.3 Alter und Depression**

Das Riechvermögen nimmt mit dem Alter kontinuierlich ab. In einer großen Studie von Seubert et al. 2017 konnten 2.234 Teilnehmer im Alter von 60 – 90 Jahren untersucht werden. Im Mittel zeigten 24,8 % der Probanden eine olfaktorische Dysfunktion mit steigender Prävalenz im höheren Alter (Seubert et al., 2017). Der Großteil der Betroffenen jedoch scheint die Riechstörung erst spät oder gar nicht zu bemerken (Brämerson et al., 2004; Hummel et al., 2009b). Vor allem Männer richten weniger Aufmerksamkeit auf ihr Geruchserleben. Im Gegensatz dazu legen Frauen größeren Wert auf ihr Riechenvermögen, eine Verschlechterung wird eher bemerkt und sie leiden stärker unter der Beeinträchtigung (Hummel and Nordin, 2004).

Ein starker Zusammenhang findet sich zwischen Riechstörungen und depressiver Verstimmung. Das olfaktorische System ist nicht allein für das Erkennen von Gerüchen verantwortlich, es hat auch einen großen Einfluss auf unsere Stimmung und Emotionen. Die Ektomie des Bulbus ist das klassische Modell, um im Tierversuch eine Depression zu simulieren. Auch beim Menschen beobachtet man gehäuft milde bis mittelschwere Depressionen bei Patienten mit einem Riechverlust oder angeborener Anosmie. Eine strukturelle Schädigung an Bulbus oder Tractus bringt den degenerativen Umbau weiterer Hirnareale, sowie Störungen im adrenergen und serotonergen Neurotransmittersystem mit sich. Zusätzlich kann die enge Beziehung zum limbischen System depressive Symptome hervorrufen (Ortega-Hernandez et al., 2009a). Negoias et al. konnten 2016 mittels MRT-Untersuchungen zeigen, dass Patienten mit Depressionen ein vermindertes Bulbusvolumen aufwiesen. Signifikant war es vor allem bei jenen Patienten, die nicht gut auf Psychotherapie ansprachen. Olfaktorische Reizungen scheinen ein wichtiger Faktor für die Balance der Neurotransmitter im limbischen System zu sein. Möglicherweise stellt ein vermindertes Bulbusvolumen einen vulnerablen Faktor für die Ausbildung einer Depression dar (Negoias et al., 2016). In der Regel stehen die Patienten mit einer Riechstörung unter einem großen Leidensdruck. Sie sind im täglichen Arbeits- sowie Privatleben stark eingeschränkt.

### **2.2.3 Therapie**

Es stehen verschiedene therapeutische Ansätze abhängig von der zugrunde liegenden Ursache zur Verfügung. Leider gibt es bisher wenige randomisierte Studien mit großer Patientenzahl, die die Wirksamkeit der einzelnen Therapien untersucht. Eine Riechstörung kann medikamentös behandelt werden. Weitere Möglichkeiten liegen in der operativen Versorgung oder bei Verfahren wie Riechtraining, Akupunktur oder Homöopathie. Am weitesten verbreitet an HNO-Kliniken ist die medikamentöse Therapie. Diese kann lokal oder systemisch erfolgen. Die Gabe von Glukokortikoiden stellt den medikamentösen Standard bei chronischer Sinusitis dar. Hierbei scheint die systemische Gabe in ihrer Wirksamkeit der lokalen überlegen zu sein (Seiden and Duncan, 2001).

Sie bringt schnell eine Linderung der Beschwerden und eignet sich daher auch als diagnostisches Instrument bei sinunasaler Riechstörung. In Kombination mit Antibiotika oder Präparaten mit Zink oder Vitamin A werden Glukokortikoide eingesetzt, um die Schwellung und Entzündung der Nasenschleimhaut zu lindern (Damm et al., 2004).

Handelt es sich bei der Erkrankung in erster Linie um ein anatomisches Problem mit Belüftungsstörung der Riechspalte, kann endoskopisch operativ vorgegangen werden. Dies kann zum Beispiel der Fall sein bei Septumdeviation, Nasen- oder Nasennebenhöhilentumoren oder auch Nasenpolypen. Bei chronischer Sinusitis, die antibiotisch nicht mehr behandelbar ist, kann ein operativer Eingriff Linderung bringen. Es ist jedoch zu beachten, dass eine Operation auch das Risiko einer Verschlechterung des Riechvermögens birgt. Im Allgemeinen ist der Erfolg abhängig vom präoperativen Riechvermögen (Damm et al., 2004).

Das Riechepithel und die olfaktorischen Rezeptorneuronen sind regenerationsfähig. Um das Auswachsen von Neuronen und die Bildung von Synapsen zu fördern, kann unterstützend ein Riechtraining eingesetzt werden. Dieses sollte aus verschiedenen Düften bestehen, an denen morgens und abends für mehrere Minuten gerochen wird. Die wiederholte Stimulation soll das Riechepithel zur schnelleren Regeneration anregen. Besonders wirkungsvoll ist das Training, wenn es hoch konzentriert und zeitnah zum schädigenden Ereignis durchgeführt wird (Damm et al., 2013).

Eine nasale Hyperreaktivität kann allergisch bedingt sein, was eine ausführliche allergologische Diagnostik und Therapie nach Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie erfordert (Schäfer et al., 2014). Sie kann auch hervorgerufen werden durch irritative Noxen oder Medikamente, die nicht vertragen werden. Dann gilt es, den Auslöser zu erkennen und ihn entsprechend zu meiden, unterstützend sollten topische Steroide gegeben werden. Sie sind in Tropfenform oder als Nasenspray verfügbar. Liegt eine endokrine nasale Hyperreagibilität vor, können nach genauer Diagnostik Medikamente umgestellt und gegebenenfalls Hormone substituiert werden.

Bei qualitativen Riechstörungen sind die therapeutischen Möglichkeiten bisher noch stark eingeschränkt. In vielen Fällen bessert sich die Symptomatik jedoch im Laufe der Zeit oder verschwindet sogar ganz. Die Strategie der Wahl ist also weiterhin die Beobachtung des Krankheitsverlaufes mit regelmäßigen Kontrollen und der Beratung und Betreuung des Patienten (Frasnelli et al., 2004).

Es sind weitere Studien nötig, um ein klares Bild aller verfügbaren Therapien und ihrer Wirksamkeit zu bekommen. In jedem Fall ist der Patient darüber aufzuklären, dass sich eine Riechstörung unter Umständen auch spontan bessern kann. Zum einen ist das Riechepithel mit den Rezeptorneuronen zur Regeneration fähig, zum anderen kann die olfaktorische Sensibilität nach Abklingen der Grunderkrankung wiederkehren. Vor allem bei Riechverlust nach Virusinfektion wird in einem Drittel der Fälle eine Erholung innerhalb des ersten Jahres nach Erkrankung beobachtet (Damm et al., 2013). Auch bei posttraumatischem Riechverlust kommt es bei 10 % bis 35 % der Patienten zu einer spontanen Besserung der Riechfunktion (Reden et al., 2006).

## **2.3 Postvirale Riechstörung**

### **2.3.1 Ätiologie/ Epidemiologie**

Von allen Patienten, die sich mit einer Störung der olfaktorischen Sensibilität in einer HNO-Klinik in Behandlung begeben, leiden ca. 11 % unter einer postviralen Riechstörung. Das macht dieses Krankheitsbild zur dritthäufigsten Ursache einer Riechminderung im deutschsprachigen Raum (Förster et al., 2004a). Je nach Region und Klinik kann der Anteil an Patienten mit postinfektiösem Riechverlust sogar deutlich höher sein, bis zu 91 % aller Betroffenen (Damm et al., 2004). Die genaue Ursache der Erkrankung ist bisher noch Gegenstand wissenschaftlicher Forschung. Das Virus Parainfluenza III wird als Auslöser diskutiert (Sugiura et al., 1998; Konstantinidis et al., 2006a). Diese Annahme stützt sich auf Beobachtungen, wonach sich die monatliche Inzidenz dieser Viruserkrankung und die des Auftretens postviraler Riechstörungen weitestgehend deckten.

Auf das Jahr gesehen fanden sich zwei Erkrankungsgipfel, im März und im Mai. Hier wurden die meisten Neuerkrankungen registriert. Auffällig war, dass gehäuft Frauen ab dem mittleren Lebensalter betroffen waren (Konstantinidis et al., 2006a).

### **2.3.2 Klinik**

Eine postvirale Riechstörung liegt vor, wenn die Erkrankung in direktem zeitlichen Zusammenhang mit einem viralen Infekt der oberen Atemwege auftritt. Es kommt infolge des Infektes zu einer Schädigung des Riechepithels. Auch die körpereigene Immunreaktion scheint eine bedeutende Rolle zu spielen. So könnten die Rezeptoren unter anderem durch die lokale Entzündungsreaktion geschädigt werden oder durch autoimmune Prozesse, bei denen über Kreuzreaktionen körpereigene Strukturen angegriffen werden. In einer Arbeit von Jafek et al. 2002 wurden Biopsien betroffener Patienten untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Rezeptorzellen degeneriert waren, in ihrer Anzahl vermindert und nur noch fleckig über das Riechepithel verteilt angeordnet (Jafek et al., 2002a). In der Folge könnte sowohl eine Hyposmie, als auch eine Anosmie entstehen. In vielen Fällen litten die Patienten zusätzlich unter einer qualitativen Riechstörung, einer Parosmie, die sich für den Betroffenen besonders unangenehm auswirkte. Bei dem klinischen Bild einer Hyposmie war nur ein Teil der Rezeptorzellen geschädigt. Es kam zu einer Verminderung der olfaktorischen Sensitivität (Konstantinidis et al., 2006a).

### **2.3.3 Therapie**

Therapeutisch kann man der postviralen Riechstörung mit einem Riechtraining begegnen. Der Patient erhält in der Regel vier verschiedene Duftstoffe, mit denen er zweimal täglich trainiert. Morgens und abends soll für einige Minuten intensiv an den mit Düften gefüllten Behältnissen gerochen werden. So wird die Regeneration der Riechschleimhaut gefördert und die Nervenzellen werden angeregt auszuwachsen und neue Verknüpfungen zu bilden.

In einer großen multizentrischen Studie konnten Damm et al. 2013 zeigen, dass ein Training vor allem mit hoch konzentrierten Düften erfolgreich sein kann. Die Patienten trainierten über einen Zeitraum von 18 Wochen. Vor allem bei Patienten, bei denen der Riechverlust noch nicht länger als 12 Monate bestand, konnten gute Erfolge erzielt werden. Das Riechtraining scheint bisher die wirksamste Therapieoption bei postviraler Riechstörung zu sein (Hummel et al., 2009a; Damm et al., 2013).

Stenner et al. führten 2008 eine Studie mit Glukokortikoiden durch und konnten deren Wirkung auch bei postviraler Riechstörung zeigen. Die Patienten erhielten zunächst systemische Glukokortikoide und im Anschluss wurde die Therapie topisch fortgesetzt. Dabei kam sowohl Budesonid allein als auch in Kombination mit einem Antibiotikum zum Einsatz. Vor allem für die topische Behandlung mit Glukokortikoiden konnte eine signifikante Wirkung bei Patienten mit nicht-sinusalen Riechstörung festgestellt werden (Stenner et al., 2008). Für die Behandlung mit Ginkgo Biloba, Zink, Vitaminpräparaten und anderen Mitteln liegen bisher keine signifikanten Ergebnisse vor.

Die Prognose bei postinfektöser Riechstörung ist abhängig von der Dauer der Erkrankung und dem Alter der Patienten. Untersuchungen durch Reden et al. 2006 haben gezeigt, dass ein Drittel der Patienten ein Jahr nach dem schädigenden Ereignis ein deutlich gebessertes Riechvermögen aufwies. Dabei bestand eine negative Korrelation zum Alter. Je älter ein Patient zum Zeitpunkt des Riechverlustes durch Virusinfektion war, desto schlechter die Chance auf Regeneration des Geruchssinnes. Das Geschlecht des Patienten schien darauf keinen Einfluss zu haben (Reden et al., 2006). Die Entwicklung von Parosmien ist in diesem Zusammenhang ein positiver Prognosefaktor. Sie können Zeichen für die Regeneration und Neubildung von Synapsen sein (Frasnelli et al., 2004).

## **3 Grundlagen der Immunologie**

### **3.1 Das Immunsystem – ein Einblick**

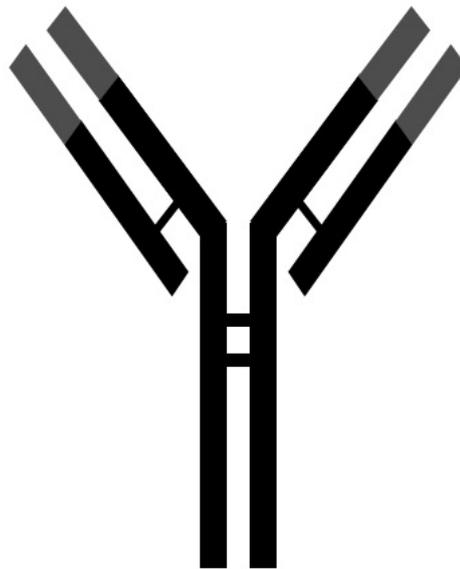
Unser Immunsystem schützt uns täglich vor den schädigenden Einwirkungen unserer Umwelt, sei es durch die Luft über unser Atmungssystem, durch Kontakt zu Menschen und Tieren über die Haut oder durch unsere Nahrung über den Magen-Darm-Trakt. Alle Flächen unseres Körpers können als Eintrittspforte für Erreger dienen. Neben den äußeren Einflüssen kann auch aus unserem Inneren Gefahr drohen, beispielsweise durch Tumorzellen. Dass wir trotzdem meist gesund sind, verdanken wir der Leistung unseres Immunsystems. Es hält die Balance zwischen dem Eliminieren potentiell gefährlicher Stoffe und der Toleranz gegenüber körpereigenen Strukturen. Erreger müssen gefunden und abgetötet werden, bevor sie sich im Körper ausbreiten können, ohne dabei das umliegende Gewebe zu schädigen. Eigene nicht gefährliche Gewebe sollen der immunologischen Abwehr dabei entgehen. Zur Verfügung stehen das angeborene und das erlernte, auch adaptive Immunsystem. Die angeborene Immunität deckt eine Vielzahl von Erregern ab, kann immer und schnell reagieren und Schadstoffe unspezifisch eliminieren. Gleichzeitig macht sie durch die entstandene Entzündungsreaktion Komponenten des adaptiven Immunsystems auf das Antigen aufmerksam. Dabei ist das angeborene System nicht spezifisch für einzelne Erreger und kann keine dauerhafte Immunität hervorbringen. Die adaptive Immunität dagegen erkennt bestimmte Merkmale auf der Oberfläche von Erregern und setzt daraufhin eine Kette von Reaktionen in Gang, um den Keim gezielt abzutöten. Bei diesen Oberflächenmerkmalen handelt es sich um Antigene, gegen die eine Reaktion des Körpers erfolgt und in dessen Folge Antikörper gebildet werden. Nach überstandener Infektion bleibt ein immunologisches Gedächtnis erhalten. Bei erneutem Eindringen des Keimes in den Körper kann das Immunsystem diesen sofort gezielt bekämpfen, das sogar schneller und stärker und so einen Ausbruch der Krankheit verhindern – wir sind im Prinzip lebenslang immun (Murphy et al., 2009).

Man unterscheidet zwei Typen von adaptiven Immunabwehrmechanismen. Die zelluläre Abwehr arbeitet mit T-Lymphozyten. Trifft eine T-Zelle auf einen Erreger, erkennt sie diesen als körperfremd und greift an. Um ihn unschädlich zu machen, stehen ihr verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung. Zum einen schüttet sie Stoffe aus, die für den Erreger giftig sind, zum anderen entsteht an der Stelle im Gewebe eine Entzündungsreaktion. So lockt sie weitere Zellen des angeborenen Immunsystems an, die ihr dabei helfen, den Fremdstoff zu töten und zu phagozytieren. Spezielle T-Helferzellen sind nötig, um B-Lymphozyten und damit die spezifische Immunabwehr zu aktivieren (Abbas, 1989a). Der zweite Immunmechanismus soll hier näher beleuchtet werden. Dabei handelt es sich um die nicht-zelluläre Komponente des Immunsystems, die humorale Abwehr. Hauptzellen dieses Weges bilden die B-Lymphozyten, gebildet im Knochenmark. Die noch unreifen Zellen wandern in periphere lymphatische Organe, wo sie auf Antigene treffen, d.h. auf Partikel von Erregern, die als körperfremd erkannt werden. Passt der an ihrer Oberfläche exprimierte Antikörper zu einem der Antigene und erfolgt parallel eine Aktivierung durch eine T-Helferzelle mit den gleichen Rezeptoren, binden beide aneinander. Die B-Zelle entwickelt sich zum reifen Lymphozyten und beginnt mit einer raschen Folge von Zellteilungen. Das Ergebnis sind Plasmazellen, Zellen, die Antikörper in großer Zahl produzieren und ins Blut abgeben. Weiterhin entstehen B-Lymphozyten mit veränderten Antikörpern auf ihrer Oberfläche, die noch besser das erkannte Antigen binden und bekämpfen können. Unterstützt und gesteuert wird dieser Prozess durch Zytokine, die von den T-Helferzellen ausgeschüttet werden (Abbas et al., 1993a). Das ganze spielt sich ab im Rahmen von Tagen bis Wochen, außerdem werden Gedächtniszellen gebildet. Diese bleiben über Jahrzehnte im Körper erhalten und bilden das „Immunologische Gedächtnis“. Dringt nach überstandener Infektion erneut der gleiche oder ein strukturell ähnlicher Erreger ein, wird die Gedächtniszelle aktiv und löst sofort eine Immunreaktion aus, die viel schneller und stärker vonstattengeht als bei der ersten Infektion. So lässt sich unter Umständen verhindern, dass die Krankheit ein zweites Mal ausbricht, der Organismus ist gegen den Erreger immun. Auf diesem System basieren auch Schutzimpfungen. Dem Körper werden Antigene bestimmter Erreger in ungefährlicher, aufbereiteter Form präsentiert. Die Immunantwort läuft wie oben beschrieben ab und der Organismus kann bei erneuter Infektion mit dem Krankheitserreger schnell und gezielt reagieren.

### 3.2 Immunglobuline

Immunglobuline finden sich sowohl auf der Oberfläche von B-Lymphozyten ausgebildet (meist IgM), von Plasmazellen gebildet und ins Blut abgegeben (meist IgG), sekretiert (IgA), als auch zellgebunden auf Mastzellen, Granulozyten und Epithelzellen. Die Antikörpermoleküle bestehen aus zwei verschiedenen Komponenten (Abbildung 2 zeigt ein Antikörperschema), einer konstanten Region, die sich bei allen Molekülen nur geringfügig verändert und einer variablen Region, die eine enorme Vielzahl von möglichen Kombinationen annehmen kann. Der Grundkörper des Moleküls wird gebildet von der konstanten Region und bestimmt maßgeblich seine Funktion, einerseits ob der Antikörper membrangebunden auf einer Zelloberfläche sitzt oder frei im Blut zirkuliert, andererseits welche Zellen und Komponenten des Immunsystems aktiviert werden, sobald der Antikörper ein Antigen gebunden hat. Auch wird bestimmt, zu welchem der fünf Isotypen, IgA, IgG, IgM, IgD, IgE, der Antikörper zählt, was seine Funktionen und Fähigkeiten maßgeblich beeinflusst. IgA zum Beispiel dient der Abwehr von Oberflächeninfektionen. Es tritt als Monomer oder in Sekreten als Dimer auf. Als solches kommt es im Speichel, der Muttermilch, dem Harntrakt, den Atemwegen und der Tränenflüssigkeit vor. IgA wird aktiv sezerniert, um mögliche Erreger zu binden und auszuschleusen. IgM dagegen kommt im Serum als großes Molekül in Form von Pentameren vor. Dank seiner vielen Bindungsstellen bildet es die erste Abwehr mikrobieller Infektionen im Körperinneren, außerdem ist IgM auf der Oberfläche reifer B-Lymphozyten zu finden (Ungeheuer et al., 1985). Auch IgG richtet sich gegen mikrobielle Erreger. Es bildet den größten Anteil an Immunglobulinen im Serum. Die Moleküle werden durch den Blutstrom ständig durch den Organismus transportiert und können so schnell und an jeder Stelle des Körpers Fremdstoffe erkennen und das Immunsystem aktivieren. Als einziges Immunglobulin ist IgG plazentagängig. In der letzten Phase der Schwangerschaft kommt es zur Übertragung der Immunglobuline entlang eines Konzentrationsgradienten. Das gewährt dem Neugeborenen einen „Nestschutz“ für die ersten Lebensmonate (Schneider et al., 1997).

Um Parasiten erfolgreich abwehren zu können, steht dem Organismus IgE zur Verfügung. Es ist gebunden an der Oberfläche von Mastzellen und basophilen sowie eosinophilen Granulozyten. Diese werden aktiviert, sobald das Immunglobulin ein entsprechendes Antigen erkennt. Es kommt sofort zur Entzündungsreaktion. Über die Funktion von IgD ist bislang nur wenig bekannt. Sicher ist nur, dass es als Monomer auf der Oberfläche reifer B-Lymphozyten exprimiert wird.



**Abbildung 2:** Die Abbildung zeigt ein vereinfachtes Schema eines Antikörpermoleküls. Es besteht aus zwei schweren Ketten (lange Schenkel) und zwei leichten Ketten (kurze Schenkel), die dünnen Verbindungslinien deuten Disulfidbrücken an. Die konstante Region ist schwarz dargestellt, die variable Region in grau.

Die variable Region eines Antikörpers soll das Antigen optimal binden können (Dreyer and Bennett, 1965; Ungeheuer and Heinrich, 1985). Jedes Antikörpermolekül besitzt zwei variable Regionen. Sobald, wie oben beschrieben, die B-Zelle ihr Antigen erkannt hat, durchläuft sie mehrere Entwicklungszyklen. In jedem Zyklus wird die variable Region des Antikörpers zufällig verändert, es kommt zu Punktmutationen in der DNA-Sequenz. Dabei werden nur einzelne Aminosäuren einer Sequenz ausgetauscht, was schon ausreichen kann, die Bindungsfähigkeit zum Antigen enorm zu verbessern (Lucas, 2003a). Bringt diese Veränderung einen Vorteil, indem eine stärkere Bindung zum Antigen erzielt werden kann, entwickelt sich die veränderte B-Zelle weiter. Sie teilt sich, es entstehen Plasmazellen mit dem verbesserten Antikörper und sie tritt erneut in den Kreislauf ein. Hat die Veränderung keine Besserung bewirkt, wird die Zelle der Apoptose zugeführt. Auf diese Art und Weise erreichen die B-Zellen immer bessere Qualität, sie passen sich dem erkannten Erreger an, um ihn ganz spezifisch eliminieren zu können. Durch den Mechanismus der zufälligen Punktmutationen stehen dabei scheinbar unendlich viele Kombinationsmöglichkeiten zur Verfügung.

### **3.3 Immuntoleranz und Autoimmunität**

Schon Watts und Isenberg erkannten vor fast 30 Jahren die Verbindung zwischen Antikörpern gegen mikrobielle Erreger und den Autoantikörpern und warfen die Frage auf, ob es sich dabei um zwei Seiten einer Münze oder um mehrere Münzen mit unterschiedlicher Prägung handelt (Watts and Isenberg, 1990). Sie konnten feststellen, dass sich antinukleäre Antikörper (ANA) sowohl im Serum von Patienten mit einer Autoimmunerkrankung fanden, als auch im Blut gesunder Probanden nachweisbar waren. Heute wissen wir, dass antinukleäre Antikörper tatsächlich im Serum vieler Menschen zu finden sind. Sie können sich gegen ein spezifisches Gewebe oder den gesamten Organismus als systemische Autoimmunerkrankung richten. Allerdings werden sie erst ab einer bestimmten Konzentration klinisch relevant im Sinne einer Autoimmunerkrankung (Gressner and Arndt, 2013).

Toleranz des Immunsystems gegenüber eigenen Strukturen entsteht während der Lymphozytenreifung im Thymus. Hier werden autoreaktive T-Zellen, die sich gegen Gewebe des eigenen Organismus richten, erkannt und aussortiert. Das erfolgt hauptsächlich über antigenpräsentierende dendritische Zellen. Bindet ein T-Lymphozyt an ein körpereigenes Antigen, gibt die präsentierende Zelle das Signal zur Apoptose, zum geordneten Zelltod. Auf diese Weise werden autoreaktive Lymphozyten aussortiert, bevor sie Schaden anrichten können. Dennoch scheinen einige Zellen dieser Regulation zu entgehen und gelangen in die Peripherie. Zu einer autoimmunen Reaktion kommt es, wenn der autoreaktiven T-Zelle ein körpereigenes Antigen von einer dendritischen Zelle präsentiert wird. Dieses könnte zum Beispiel im Rahmen einer Entzündungsreaktion versehentlich prozessiert worden sein. Durch Bindung an den Komplex aus dendritischer Zelle und Antigen wird der T-Lymphozyt aktiviert und eine Entzündungsreaktion gegen das körpereigene Molekül ausgelöst.

Auch das humorale Immunsystem kann sich gegen eigene Strukturen richten. Gelangt eine autoreaktive B-Zelle in die Peripherie, präsentiert sie auf ihrer Oberfläche Moleküle, die sie aufgenommen und verarbeitet hat. Darunter können körpereigene und fremde Antigene sein. Einige B-Lymphozyten reagieren scheinbar polyspezifisch, das heißt sie erkennen mehrere verschiedene Antigene. Das hat den Vorteil, dass sie schnell auf eindringende Erreger reagieren können, andererseits auch den Nachteil, dass mit deren Aktivierung auch Autoantikörper gebildet werden können (Pisetsky et al., 1990). Erkennt eine T-Helferzelle das fremde Antigen auf seiner Oberfläche und aktiviert damit den polyspezifischen B-Lymphozyten, beginnt dieser sich zu teilen und Antikörper zu produzieren. Nur befinden sich darunter auch Antikörper gegen das körpereigene Antigen, also Autoantikörper. Humorale Mechanismen zur Toleranzerhaltung können anti-idiotypische-Antikörper sein. Sie zirkulieren im Blut, richten sich gegen die variable Region anderer Antikörper und können diese dadurch neutralisieren. Bereits in „in vivo“ Studien konnte nachgewiesen werden, dass sie einen positiven Effekt haben, indem sie Autoantikörper blockieren und damit eine autoimmune Reaktion abmildern (Vangone et al., 2014).

### 3.4 Immundiagnostik und indirekte Immunfluoreszenz

Um Autoantikörper nachweisen zu können, wurde in dieser Studie mit indirekter Immunfluoreszenz gearbeitet, da die Moleküle nicht unmittelbar angefärbt werden, sondern ein weiterer Antikörper mit einem Farbstoff nötig ist, um sie sichtbar zu machen. Die Antikörper, die es nachzuweisen gilt, befinden sich im Blutserum. Für die Analyse sind mehrere Arbeitsschritte nötig. Als Grundlage dient eine spezielle Oberfläche. Das kann eine Zellkultur sein, ein Zellausstrich oder ein Ausschnitt aus einem Gewebe. Tritt verdünntes Serum mit der Oberfläche in Kontakt, können die gesuchten Antikörper nach einer gewissen Inkubationszeit spezifisch an ihre Antigene binden. Im darauffolgenden Waschschrift wird das Serum entfernt, nur die gebundenen Antikörpermoleküle bleiben haften. Als nächstes wird die Oberfläche mit anderen Antikörpern, den sogenannten Zweitantikörpern, in Kontakt gebracht. Diese haben die Eigenschaft, an die gesuchten Moleküle zu binden, außerdem tragen sie einen Farbstoff, der später in der Immunfluoreszenz leuchten wird. Im zweiten Waschschrift wird das überschüssige Material mit nicht gebundenen Antikörpern abgespült. Damit ist das Präparat für die Fluoreszenzmikroskopie vorbereitet (Gressner and Arndt, 2013). In dieser werden sowohl Muster als auch Intensität der Signale beurteilt. Da die Auswertung der Bilder sehr zeitaufwendig und geschultes Personal nötig ist, wird an Computerprogrammen gearbeitet, die in der Lage sind, Zellen mit ihren Fluoreszenzmustern zuverlässig erkennen und bewerten zu können (Wiliem et al., 2015). Das Verfahren der indirekten Immunfluoreszenz ist hochspezifisch für den Nachweis von Autoantikörpern. Wichtig für exakte Ergebnisse ist vor allem die richtige Verdünnung des Serums. Bei zu hoher Konzentration kann es zu falsch negativen Werten kommen, die Autoantikörper scheinen miteinander und nicht mit der Oberfläche im Test-Kit zu reagieren. Ist die Konzentration dagegen zu niedrig, kann der Effekt von anderen Antikörpern unspezifisch überdeckt werden. Mithilfe verschiedener Ausgangsverdünnungen ist es möglich, einen Titer für die antinukleären Antikörper des zu untersuchenden Serums anzugeben.

Weitere Vorteile der Methode der indirekten Immunfluoreszenz sind die einfache Herstellung der Testoberfläche, z.B. einer Zellkultur oder einem Gefrierschnitt, und vor allem ihre Vielseitigkeit. Auf einem Testfeld können gleichzeitig mehrere Antikörper in einem Arbeitsschritt getestet werden. Jeder Antikörper zeigt ein charakteristisches Fluoreszenzmuster, das der Verteilung des Antigens entspricht und damit spezifisch detektierbar ist.

### **3.5 Immuntherapie – ein Ausblick**

Die Immuntherapie ist mittlerweile fester Bestandteil in der onkologischen Behandlung. Dank der Nobelpreisträger Köhler und Milstein, denen 1975 der erste Durchbruch gelang, ist das Feld der monoklonalen Antikörper auch therapeutisch nutzbar. Köhler gelang es, Zellkulturen aus Myelomzellen und Lymphozyten zu kultivieren. Durch Isolation und Klonen einzelner Lymphozyten entstanden reine Kulturen, die monoklonale Antikörper produzierten (Köhler and Milstein, 1975). Von da an arbeiteten Wissenschaft und Industrie mit Hochdruck an der Entwicklung neuer Therapieverfahren auf Grundlage der monoklonalen Antikörper. Mittlerweile ist es möglich, Antikörper industriell mit den gewünschten Eigenschaften herzustellen und sie werden sowohl in der Diagnostik als auch Therapie eingesetzt. Die Intention ist folgende: Wurden spezifische Antigene auf der Oberfläche von zum Beispiel Tumorzellen identifiziert, kann der passende monoklonale Antikörper kreiert und verabreicht werden. Das Immunsystem des Patienten empfängt die Signale, erkennt den Tumor als fremd und gefährlich und richtet eine Immunreaktion gegen alle Zellen, die diese Oberflächenmerkmale tragen. Die Art des Effektes ist abhängig von der Art des Antikörpers. Sie können die Bindungsstelle besetzen und damit Wachstumsfaktoren die Ankopplung untersagen. Sie können auch direkt Apoptosesignale senden oder das Komplementsystem aktivieren. Neben den monoklonalen Antikörpern wird in der Onkologie mit Vakzinierung gearbeitet. Bei diesem Verfahren soll der Organismus aktiv eine potente T-Zell – Antwort entwickeln. Dafür werden Impfungen mit Peptiden der tumorassoziierten Antigene oder ganzen Proteinen durchgeführt. Der Vorteil dieses Verfahrens, bisher nur adjuvant eingesetzt, ist die sehr geringe Rate an unerwünschten Arzneimittelwirkungen.

Für beide Methoden gilt, dass sie immer in Kombination mit einer herkömmlichen Chemotherapie eingesetzt werden. So zeigten sich eine deutliche anti-tumorale Wirkung und eine geringe Rate unerwünschter Wirkungen. Die Immuntherapie ist ein bedeutender Schritt hin zu einer individualisierbaren und gut verträglichen Therapie (Halama et al., 2008). Heinzer et al. konnten 2002 zeigen, dass sich in der Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms die systemische und die lokoregionäre Immuntherapie ergänzend einsetzen lassen. So lassen sich pulmonale Metastasen mit inhalativem Interleukin-2 behandeln. Das Immunsystem reagiert lokal, ohne dass die systemische Toxizität der Behandlung erhöht wird. Diese Therapie lässt sich auch auf andere Tumorentitäten wie das maligne Melanom, das Mamma- und das Ovarialkarzinom anwenden, sollten diese pulmonale Metastasen entwickeln (Heinzer et al., 2002).

Doch nicht nur die Onkologie forscht auf dem Gebiet der Immuntherapie. Breite Anwendung findet sie bereits in der Allergologie in der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde. Hier kommt die spezifische Immuntherapie bei der Therapie von Allergikern zum Einsatz. Bei diesem Verfahren werden dem Patienten Allergene in aufsteigender Konzentration dargeboten mit dem Ziel, eine immunologische Veränderung und somit eine langfristige Toleranz gegenüber dem Allergen zu erreichen. Die Behandlung wird, abhängig von Art der Behandlung und des Allergens, über einen Zeitraum von drei bis fünf Jahren, manchmal sogar lebenslang, durchgeführt. Es gibt zwei verschiedene Methoden, die subkutane und die sublinguale Applikation des Allergens. Erstere eignet sich besonders für die Desensibilisierung bei IgE-vermittelter Reaktion, zum Beispiel auf Bienen- oder Wespengift. Hier ist es nicht möglich, Allergenkarrenz zu halten, somit ist eine Desensibilisierung unbedingt anzuraten. Die sublinguale Therapie, entweder in Tablettenform oder als wässrige Lösung, ist wirkungsvoll bei allergischer Rhinokonjunktivitis bei Gräserpollenallergie. Sie beginnt vor der Saison, dauert währenddessen an und sollte in drei aufeinanderfolgenden Jahren durchgeführt werden. Auch hiermit konnten sehr gute Ergebnisse erzielt und die Lebensqualität der Patienten deutlich verbessert werden (Kleine-Trebbe et al., 2009).

## **4 Material und Methoden**

### **4.1 Allgemeines Studiendesign**

Es handelte sich um eine Pilotstudie, die mit ambulanten Patienten der Sprechstunde „Riechen und Schmecken“ im Universitätsklinikum Dresden durchgeführt wurde. Die gewonnenen Blutproben wurden an Prof. Dr. med. Winfried Stöcker, Euroimmun, Lübeck versandt. Im Vergleich standen zwei Patientengruppen. Zum einen die Gruppe 1 mit postviraler Riechminderung, zum anderen die Kontrollgruppe Gruppe 2 mit Riechminderung anderer Ätiologie wie zum Beispiel traumatisch, sinusal oder auch idiopathisch. Ein Antrag an die Ethikkommission der medizinischen Fakultät „Carl Gustav Carus“ der Technischen Universität Dresden wurde gestellt und positiv begutachtet (EK 189062013). Die Grundsätze der Deklaration von Helsinki (1964 - 2004) wurden mit dieser Studie gewahrt und aktiv umgesetzt. Im Folgenden werden die Bezeichnungen „Patient“, „Proband“ und Ähnliche in der männlichen Form benutzt, unabhängig vom eigentlichen Geschlecht der Personen. Dies geschieht mit dem Ziel, Übersichtlichkeit zu schaffen und den Datenschutz für jeden einzelnen Studienteilnehmer zu wahren.

### **4.2 Patienten**

In die Studie sind insgesamt 108 Patienten eingeschlossen worden, die sich im Rahmen der Sprechstunde „Riechen und Schmecken“ im Universitätsklinikum Dresden mit einer Riechminderung vorgestellt hatten. 52 Patienten mit postviraler Riechstörung konnten Gruppe 1 zugeordnet werden, 56 Patienten Gruppe 2, der Kontrollgruppe. Sie sind im Alter von 25 bis 86 Jahren. Der Untersuchungsablauf bestand aus einer ausführlichen Anamneseerhebung, HNO-ärztlicher Untersuchung, Riechtests mittels Sniffin´ Sticks, sowie einem abschließenden Arztgespräch.

Die Patienten waren mindestens 18 Jahre alt, ausführlich über Ablauf und Hintergrund der Studie aufgeklärt und willigten schriftlich in die Teilnahme ein. Für die Studie musste eine Blutprobe von ca. 10 ml gewonnen werden. Frauen in Schwangerschaft und Stillzeit wurden ausgeschlossen, um sie vor einer möglichen Infektion im Rahmen der Blutentnahme zu schützen. Um eine Blutungsneigung der Patienten im Vorfeld ausschließen zu können, mussten alle Probanden einen Fragebogen ausfüllen (siehe auch Anhang/ Patientenfragebögen). Dieser sollte ein erhöhtes Blutungsrisiko aufdecken, unter anderem mithilfe von Fragen zur Krankengeschichte und eingenommenen Medikamenten. Patienten mit Verdacht auf verlängerte Blutungszeit wurden von der Studie ausgeschlossen und es erfolgte keine Blutentnahme.

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Alter über 18 Jahre	Alter unter 18 Jahre
Eingeschränktes Riechvermögen	Schwangerschaft und Stillzeit
	Verdacht auf Gerinnungsstörung
	Einnahme blutverdünnender Medikamente

**Tabelle 1:** Hier dargestellt sind die Ein- und Ausschlusskriterien laut Studienprotokoll.

## 4.3 Untersuchungsablauf

### 4.3.1 Anamnese

Bei Erstvorstellung des Patienten wurde eine ausführliche Anamnese erhoben, ergänzt durch eine HNO-ärztliche Untersuchung, einschließlich Endoskopie der Nase und Allergieberatung. Zu den allgemeinen Fragen zählten Rauch- und Alkoholanamnese, berufliche Schadstoffexposition, Medikamenteneinnahme sowie chronische Erkrankungen und Operationen im Kopfbereich. Speziell in Bezug auf die Riechstörung wurden Art und Dauer erfragt, mögliche Auslöser und Veränderlichkeit des Problems. Weiterhin wurden Angaben zu Nasenatmung und Allergien erhoben. In Hinsicht auf die Blutentnahme wurde den Patienten neben Informationsblättern zu Studie und Datenschutz auch ein Fragebogen zur Blutgerinnung ausgehändigt. Dieser erfragte Auffälligkeiten wie langes Nachbluten nach kleinen Traumen, gehäufte „blaue Flecken“, Zahnfleischbluten, bei Frauen verstärkte Regel etc. Das diente der Erfassung der Ein- und Ausschlusskriterien für die Studie.

### 4.3.2 Testung der olfaktorischen Funktion

Ein umfassender Riechtest mittels Sniffin' Sticks dauerte ca. 30 Minuten und erfordert eine gute Konzentration und aktive Mitarbeit des Patienten. Er bestand aus drei Teilen, der Riechschwelle, der Diskrimination und der Identifikation. Die Ergebnisse aller drei Teile wurden zu einem Gesamtwert, dem sogenannten SDI-Wert (**S**chwelle, **D**iskrimination, **I**dentifikation) zusammengefasst. Für alle drei Teile standen standardisierte Riechstifte der Firma Burghart zu Verfügung. Es handelt sich um Stiftkörper, die mit natürlichen und künstlichen Aromen aus Lebensmittel- und Kosmetikindustrie befüllt sind (Kobal et al., 1996; Hummel et al., 1997, 2007).

Durch Öffnen der Kappe wurde der Duft freigesetzt und der Patient konnte daran riechen. Der Stift sollte dabei für drei Sekunden im Abstand von ca. 2 cm vor der Nase des Probanden sein. Durch leichtes Bewegen des Stiftes konnte der Geruch beidseits gleichmäßig aufgenommen werden.

Für den Schwellentest wurde ein Set aus 16 x 3 Stiften genutzt. Jeweils ein Stift aus jeder Dreiergruppe war mit Phenylethylalkohol (PEA) befüllt, die anderen beiden mit dem annähernd geruchlosen Lösungsmittel Propylenglykol. PEA verströmt einen angenehmen Duft, den man mit „blumig“ oder „Rose“ beschreiben kann. Stift Nr. 1 hatte hiervon die stärkste Konzentration, Nr. 16 die Schwächste, dazwischen befand sich der Duft in schrittweiser Verdünnung. Jeder Patient bekam bei verbundenen Augen eine Dreierkombination bestehend aus PEA und zwei geruchlosen Stiften der gleichen Stufe präsentiert. Nach dem Triple-forced-choice-Prinzip (Hummel et al., 1997) sollte er angeben, welcher der dargebotenen Stifte einen Geruch trägt. Wie in Abbildung 3 verdeutlicht, wurde die Konzentration an PEA, beginnend mit der zweit-schwächsten, langsam gesteigert, bis der Patient den Duft wahrnehmen und sicher erkennen konnte. Identifizierte der Proband zweimal hintereinander den richtigen Stift, stellte dies einen Wendepunkt dar und die Konzentration wurde wieder um eine Stufe verringert. Konnte der richtige Stift nicht mehr erkannt werden, war der nächste Wendepunkt erreicht und die Konzentration wurde erneut schrittweise erhöht, bis der PEA-Stift eindeutig erkannt wurde. Nach diesem Schema näherte sich der Untersucher an die individuelle Riechschwelle des Patienten an. Sie wurde berechnet aus dem Durchschnitt der Punktwerte für die letzten vier von insgesamt sieben Wendepunkten. Möglich waren so Werte zwischen 16 und 1. Der Durchschnitt der gesunden Bevölkerung erreicht, in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht, Werte zwischen 6 und 11 Punkten. Ein Mann zwischen 36 und 55 Jahren z. B. liegt mit 6,25 – 10,5 Punkten zwischen der 25. und 75. Perzentile (Hummel et al., 2007).

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

**Abbildung 3:** Die Abbildung zeigt ein Protokoll des Schwellentests. In der linken Spalte sind die Zahlen von 1 (höchste Konzentration an PEA) bis 16 (niedrigste Konzentration an PEA) aufgetragen. Die Pfeile in der obersten Zeile geben die Richtung an, ob die Konzentration gesteigert (▲) oder verringert (▼) wird. Die roten Markierungen stellen diejenigen Wendepunkte dar, die in die Auswertung eingehen, aus deren Durchschnittswert wird das Ergebnis ermittelt. Der Proband aus diesem fiktiven Beispiel erzielt einen Wert von 6,5 Punkten.

Der Diskriminationstest prüfte, inwieweit Düfte unterschieden werden können. Hierzu stand erneut ein Set aus 16 x 3 Duftstiften zur Verfügung. Der Patient erhielt eine Augenbinde, um von visuellen Reizen abgeschirmt zu werden. Nach dem bereits bekannten Schema wurden Dreierkombinationen zum Riechen angeboten. Alle drei Stifte enthielten Duftstoffe der gleichen Intensität, nur ein Stift war mit einem anderen Aroma befüllt als die anderen beiden. Der Patient erhielt die Aufgabe, den anders riechenden Stift nach der Triple-forced-choice-Methode zu identifizieren. Zur Auswertung wurden die richtig erkannten Stifte addiert, was zu Werten zwischen 0 und 16 Punkten führte. Der Mann aus dem Beispiel oben, im Alter von 36 - 55 Jahren, erzielt hier Werte von 10 bis 14 Punkten (25. – 75. Perzentile).

Für den Identifikationstest wurden 16 Duftstifte mit Gerüchen aus Küche und Alltag verwendet. Der Patient wurde aufgefordert, an je einem Stift zu riechen. Zum Versuchsaufbau zählten außerdem Karten mit je vier Bildern und Begriffen von Düften, darunter der Gesuchte. Eine wiederholte Präsentation des Duftstiftes war in dieser Versuchsanordnung möglich. In die Auswertung gingen alle richtig erkannten Düfte ein. Der gesunde Mann im Alter zwischen 36 - 55 Jahren erzielt hier Werte von 12 bis 14 Punkten (25. - 75. Perzentile).

Der SDI-Wert errechnete sich aus der Summe der erreichten Punkte bei Schwellentest, Diskrimination und Identifikation. Insgesamt waren somit maximal 48 Punkte erreichbar. Ausgehend vom SDI-Wert ist eine Einteilung in Normosmie („normales Riechvermögen“), Hyposmie („vermindertes Riechvermögen“) und funktionelle Anosmie („kein bzw. nicht ausreichendes Riechvermögen“) möglich, wie in Tabelle 2 gezeigt (Kobal et al., 2000).

Alter in Jahren	< 15	16 - 35	36 - 55	> 55
<b>Normosmie</b>	> 24,5	> 30,3	> 28,8	> 27,5
<b>Hyposmie</b>	24,5 - 15	30,3 - 15	28,8 - 15	27,5 - 15
<b>Anosmie</b>	< 15	< 15	< 15	< 15

**Tabelle 2:** Dargestellt ist die Einteilung der SDI-Werte für Normosmie, Hyposmie und Anosmie in Abhängigkeit vom Patientenalter.

Zum Abschluss wurde ein kurzer Schmecktest durchgeführt, bestehend aus vier farbcodierten Fläschchen mit Pumpzerstäuber. Sie enthielten Saccharose 10 % („süß“), Zitronensäure 5 % („sauer“), Natriumchlorid 7,5 % („salzig“) und Chininhydrochlorid 0,05 % („bitter“). Die Lösung wurde dem Patienten in den Mund bzw. auf die Zunge gesprüht. Der Proband durfte den Mund schließen, probieren und musste angeben, welchen Geschmack er erkannt hat. Dabei lag vor ihm eine Liste mit den Begriffen „süß“, „sauer“, „salzig“, „bitter“. In die Auswertung ging die Anzahl der richtig erkannten Schmeckqualitäten von 0/4 bis 4/4 ein.

### **4.3.3 Blutentnahme**

Für die Proben wurde Serum aus dem peripheren Blut benötigt. Die Abnahme erfolgte in der Regel aus der Ellenbeuge, wie die Patienten es vom Hausarzt kannten, oder dem Handrücken. Zum Einsatz kamen Sarstedt Safety-Multifly-Kanülen 21G und Sarstedt Serum-Gel Monovetten 7,5 ml. Nach gründlicher Hautdesinfektion nach der „Sprüh-Wisch-Sprüh“ Methode, Stauung und Punktieren erfolgte die Blutentnahme. Die Patienten konnten dabei entspannt sitzen oder auf Wunsch auch liegen. Sie wurden im Vorfeld über die seltenen Komplikationen einer Blutentnahme wie Infektion, Nervenläsion oder Hämatombildung mündlich aufgeklärt. Im Rahmen der Studie traten keine der genannten Zwischenfälle auf.

### **4.3.4 Behandlung der Proben**

Nach Blutentnahme wurden die Röhrchen ein- bis zweimal vorsichtig geschwenkt und standen dann aufrecht für 12 - 30 Minuten bei Raumtemperatur. In dieser Zeit konnte das Blut gerinnen und die festen Bestandteile begannen sich bereits abzusetzen. Als Überstand blieb das Serum zurück, eine gelblich-klaare Flüssigkeit, die nur noch aus Wasser, Proteinen und Elektrolyten bestand. Um das Serum in reiner Form zu erhalten, wurde die Probe bei 2050 Umdrehungen/min für 10 Minuten zentrifugiert und der Überstand abpipettiert.

Die fertige Serumprobe wurde mit einem pseudonymisierten Code aus Ziffern und Buschstaben versehen und in den Tiefkühlschrank verbracht. Bei -30 °C war sie so über mehrere Monate stabil, da die zu untersuchenden Immunglobuline keine Enzymaktivität mehr aufwiesen. Für den Versand verwendeten wir Styroporkisten mit Trockeneis. Die Proben wurden, nachdem sie für mindestens 24 h bei -30 °C komplett durchgefroren waren, zügig auf Trockeneis gepackt und sofort versandt. Das Institut Euroimmun, Seekamp 31, 23560 Lübeck nahm die Analyse der ANAs vor, abschließend wurden Reste der Proben verworfen.

#### **4.3.5 Analyse der Serumproben**

In der Diagnostik von antinukleären Antikörpern arbeitete das Labor EUROIMMUN AG unter Prof. Dr. med. Winfried Stöcker mit indirekter Immunfluoreszenz und monospezifischen Sekundärantikörpern. Das gesuchte Immunglobulin wurde mit einer speziellen Oberfläche in Kontakt gebracht und konnte daran binden. Das konnte ein Gefrierschnitt des entsprechenden Gewebes sein, eine Zellkultur oder auch synthetische Materialien, die die entsprechenden Oberflächenmerkmale aufwiesen. Auf diesen Träger wurde verdünntes Patientenserum aufgebracht. Befanden sich Autoantikörper gegen die Oberfläche in der Serumprobe, konnten diese binden. Im ersten Waschschrift wurde überschüssiges Serum mit allen nicht gebundenen Antikörpern abgespült. Dann wurde die Platte mit monospezifischen Sekundärantikörpern inkubiert. Sie trugen einen Fluoreszenzfarbstoff und konnten ihrerseits die an der Oberfläche haftenden Antikörper des Patienten binden. Im zweiten Waschschrift wurden überschüssige Sekundärantikörper entfernt, der Träger konnte unter dem Fluoreszenzmikroskop ausgewertet werden (Gressner and Arndt, 2013). Die Sekundärantikörper gaben ein optisches Signal genau da, wo sie den zu untersuchenden antinukleären Antikörper gebunden hatten. Das ließ Aussagen zur Lokalisation der gesuchten ANAs zu. Vor allem bei Trägern mit Hep-2-Zellen konnte der erfahrene Untersucher genau angeben, an welcher Struktur die Autoantikörper gebunden hatten.

Die Besonderheit an den verwendeten monospezifischen Sekundärantikörpern war, dass sie nur an ANA IgG binden. Es wurden nur Immunglobuline des Isotyps G erkannt und markiert, da IgG die größte klinische Relevanz haben.

Im ersten Teil der Labortestung wurde das Serum der Patienten mithilfe verschiedener Gefrierschnitte und Hep-2-Zellen auf antinukleäre Antikörper untersucht. Der zweite Teil bestand aus einer umfassenden Antikörperdiagnostik mit Schwerpunkt auf neuronalen Geweben. Hier wurde mit Gefrierschnitten von verschiedenen Hirngeweben und HEK-Zellen (Human Embryonic Kidney-Zellen) gearbeitet. Die Zellen wurden mit verschiedenen neuronalen Antigenen transfiziert und präsentierten diese auf ihrer Oberfläche. Das Verfahren der indirekten Immunfluoreszenz fand erneut Anwendung wie oben beschrieben, nur diesmal ohne Spezialisierung auf eine bestimmte Immunglobulinklasse. Bei der Autoantikörperdiagnostik wurde nach IgA, IgM und IgG gleichermaßen gefahndet.

#### **4.4 Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung der Daten fand mithilfe des Programms SPSS 22.0 sowie Microsoft Excel 2010 statt. Gegenübergestellt wurde der Patientengruppe 1 mit postviraler Riechstörung die Vergleichsgruppe 2 mit Riechminderungen unterschiedlicher Genese. Angenommen wurde hier, dass sich bei postviralen Patienten etwa doppelt so viele Merkmalsträger finden wie in der Vergleichsgruppe. Untersucht wurden die SDI-Werte der Patienten, Alter und Geschlecht, Dauer der Riechstörung sowie das Auftreten von Autoantikörpern und antinukleären Antikörpern im Serum. Es kam eine zweiseitige Testung mit  $\alpha=0.05$  und einer Power von 0.95 zum Einsatz. Um einen signifikanten Unterschied in den beiden Gruppen zu finden, wurde der Pearson Chi-Quadrat-Test und ergänzend der Fisher-Exakt-Test verwendet.

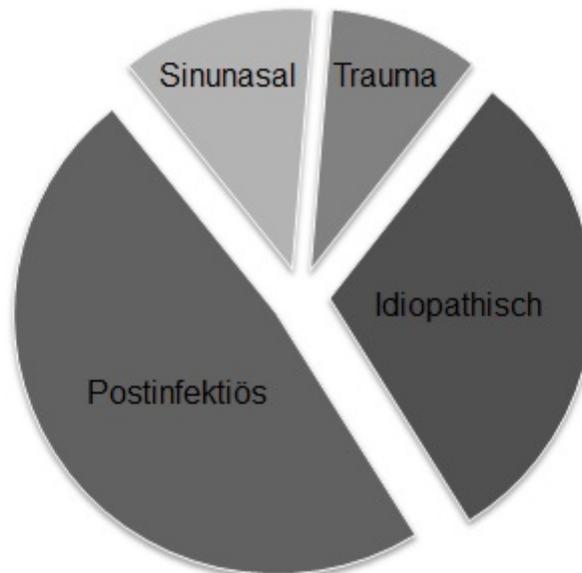
Mithilfe des Pearson Chi-Quadrat-Test konnte gezeigt werden, dass zwischen den beiden Patientengruppen ein Unterschied in Bezug auf das Auftreten von Merkmalen bestand. Dazu wurde die beobachtete Häufigkeit mit der theoretisch zu erwartenden Häufigkeit verglichen. Außerdem konnte eine Aussage zur Stärke dieses Zusammenhangs getroffen werden. Hierfür wurden Kreuztabellen angelegt, die die Merkmalsausprägung für beide Patientengruppen erfassten.

Mithilfe des Chi-Quadrat-Tests konnte ermittelt werden, ob der Unterschied zwischen beiden Gruppen jeweils signifikant war. Dazu wurde das Ergebnis der Teststatistik mit dem kritischen Wert der Chi-Quadrat-Teststatistik verglichen. Der kritische Wert war jeweils abhängig von der angenommenen Wahrscheinlichkeit ( $\alpha$ ) und den Freiheitsgraden ( $df$ ) der Kreuztabelle (Reinboth, 2007). Lag der Wert für die Teststatistik über dem kritischen Wert, konnte das Ergebnis als signifikant gewertet werden. Es zeigte, dass zwischen beiden Patientengruppen ein Unterschied in Bezug auf das Merkmal bestand, der nicht durch Zufall erklärbar war. Wenn eine Kreuztabelle nicht größer als  $2 \times 2$  maß, betrug der Freiheitsgrad nur  $df=1$ . In diesem Fall wurde eine Kontinuitätskorrektur angewendet, die die Teststatistik geringer ausfallen ließ. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen musste dann größer sein, um trotzdem noch als signifikant zu gelten. Lag der Wert der Teststatistik mit Korrektur über dem kritischen Wert, konnte das Ergebnis als signifikant gewertet werden (Rowe and Heinisch, 2012).

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Patientengruppen

Für die Untersuchung konnten insgesamt 108 Patienten gewonnen werden. Sie wurden aus der laufenden Sprechstunde für Riech- und Schmeckstörungen der HNO-Klinik des Universitätsklinikums Dresden im Zeitraum von Mai 2014 bis November 2016 rekrutiert. Es erfolgte eine HNO-ärztliche Untersuchung mit Anamnese und Endoskopie der Nase und des Rachenraumes, außerdem wurden ein Riech- und orientierender Schmecktest durchgeführt. Im Anschluss wurde eine Blutprobe abgenommen, um daraus Serum der Patienten zu gewinnen. Jeder Patient wurde, abhängig vom Störungsbild, einer von zwei Gruppen zugeordnet. Gruppe 1 umfasst insgesamt 52 Patienten mit postviraler Riechstörung. In Gruppe 2 sind alle Patienten mit einem Riechverlust anderer Genese als einem viralen Infekt eingeteilt. Unter den 56 Patienten in Gruppe 2 finden sich sowohl einige mit sinunasaler, posttraumatischer und idiopathischer Riechstörung, als auch mit Riechverlust nach Operation im Kopfbereich.



**Abbildung 4:** Dargestellt sind die unterschiedlichen Ursachen der Riechstörungen beider Patientengruppen. Gruppe 1 umfasst 52 Patienten mit postviraler Riechstörung. Die 56 Patienten der Gruppe 2 zeigen unterschiedliche Ursachen für ihre Riechstörung, darunter sinunasal, posttraumatisch und idiopathisch.

## 5.2 Alter und Geschlecht der Patienten

Das Alter der Patienten in Gruppe 1 betrug im Mittel 57 Jahre (Standardabweichung 11,9). Der jüngste Patient war 25, der älteste 77 Jahre alt. Die zweite Gruppe war der ersten ganz ähnlich. Hier lag das mittlere Alter bei 58 Jahren (Standardabweichung 12,9) und das Spektrum reichte von 27 bis 86 Jahren. Der Median der Altersverteilung lag bei beiden Gruppen bei 59 Jahren. In der Gruppe der postviralen Riechstörungen waren zu 67,3 % Frauen vertreten, der Anteil der männlichen Probanden lag demnach bei 32,7 %.

In Gruppe 2 mit Riechstörungen anderer Genese kehrte sich das Verhältnis um und der Anteil Männer überwog. Hier fanden sich nur 37,5 % weibliche, dafür 62,5 % männliche Probanden. Zwischen beiden Gruppen zeigte sich der Unterschied der Geschlechterverteilung signifikant mit  $p=0,004$  im Chi-Quadrat-Test mit Kontinuitätskorrektur.

### **5.3 Raucher/ Nichtraucher**

Insgesamt fanden sich nur wenige Raucher unter den im Rahmen der Studie behandelten Patienten. In der Gruppe der postviralen Riechstörung gaben 11,5 % der Befragten regelmäßigen Nikotinkonsum an. Das waren insgesamt nur 6 der 52 Patienten. In Gruppe 2 waren es mit acht Rauchern bei 56 Personen 14,3 %. Zwischen beiden Patientengruppen konnte kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Raucher erkannt werden ( $p=0,645$ ).

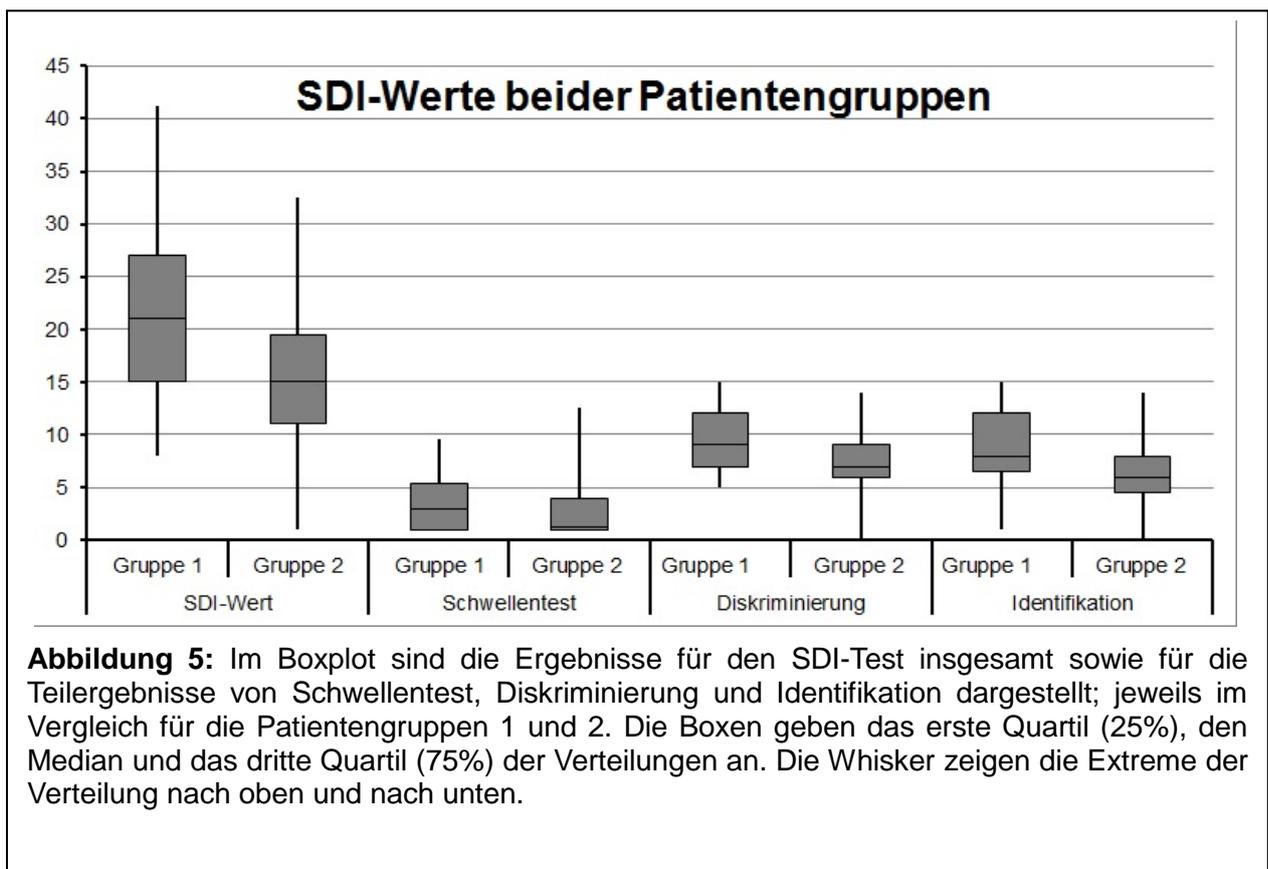
### **5.4 SDI Werte**

Um das Ausmaß der Riechstörung der Patienten einschätzen zu können, wurden die SDI-Werte ermittelt. In Gruppe 1 erreichten die Patienten mit postviraler Riechstörung im Mittel SDI-Werte von 21,9 Punkten (Standardabweichung 7,6). Der Median lag bei 21 Punkten. Die Einzelergebnisse zeigten, dass vor allem bei dem Schwellentest wenige Punkte gesammelt wurden. Hier erzielten die Patienten mit postviraler Riechstörung im Mittel nur 3,5 Punkte. Dabei erreichten 33 % der Patienten nur einen Wert von 1, was bedeutet, sie konnten nichts oder nur den stärksten der dargebotenen Düfte wahrnehmen. Diskrimination und Identifikation dagegen lieferten höhere Werte. Hier konnten im Mittel 9,5 Punkte (Standardabweichung 2,8) bei der Diskrimination und 8,8 Punkte (Standardabweichung 3,5) bei der Identifikation erzielt werden.

Für die Patientengruppe 2 waren die Werte niedriger. Das Ergebnis des SDI-Tests lag im Mittel bei 15,8 Punkten (Standardabweichung 6,7). Der Schwellentest war auch hier mit im Mittel 2,9 Punkten der Teil mit den wenigsten Punkten. Der Median lag nur bei 1,25 Punkten.

Bei der Diskrimination konnte im Mittel ein Wert von 7,1 Punkten (Standardabweichung 3,1) erzielt werden. Beim Identifikationstest lag der Durchschnitt bei 6,3 Punkten (Standardabweichung 3,2). Bei beiden Teilen, der Diskrimination und der Identifikation, gab es Probanden in Gruppe 2, die null Punkte erzielten. Diese Tests waren nicht auswertbar. Ein solches Ergebnis ließ Zweifel an der Mitarbeit, der Konzentration und Motivation des Patienten aufkommen.

Abbildung 5 zeigt alle erreichten Punktwerte in Abhängigkeit vom durchgeführten Test und der Patientengruppe. Gruppe 1 schien tendenziell leicht höhere SDI-Werte erzielen zu können. Für die beiden Gruppen konnte jedoch kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden ( $p=0,195$ ). Auch die Einzelwerte für Schwellentest, Diskriminierung und Identifikation zeigten keine signifikanten Abweichungen.



## 5.5 Dauer der Riechstörung

Im Rahmen der Anamnese wurde erfasst, über wie viele Monate die Riechstörung zum Zeitpunkt der Erstvorstellung in der Klinik bereits bestand. In Gruppe 1 mit Patienten mit postviraler Riechstörung lag der Mittelwert bei 20,6 Monaten, jedoch gab es eine erhebliche Streuung der Werte innerhalb der Gruppe (Standardabweichung 53,5). Die Zeiten schwankten zwischen einem Monat bis hin zu maximal 360 Monaten vom Beginn des Riechverlustes bis zur Vorstellung in der Klinik für HNO-Heilkunde. Gruppe 2 zeigte noch höhere Werte. Die maximale Dauer der Riechstörung betrug 480 Monate, das waren 40 Jahre. Der kürzeste Krankheitsverlauf lag bei einem Monat. Im Mittel ergaben sich 54,3 Monate Krankheitsdauer (Standardabweichung 70,1) vom auslösenden Ereignis bis zur Vorstellung in der Sprechstunde für Riech- und Schmeckstörungen der HNO-Uniklinik Dresden.

Die Mittelwerte beider Gruppen unterschieden sich signifikant voneinander im t-Test für Mittelwertgleichheit ( $t(100,6)=-2,796$ ,  $p=0,006$ ), jedoch unterlagen die Werte für die Dauer der Riechstörung einer erheblichen Streuung. Im Levene-Test der Varianzgleichheit konnte gezeigt werden, dass sich die Varianzen beider Gruppen unterschieden ( $p=0,087$ ).

## 5.6 Antinukleäre Antikörper

Insgesamt wurde das Serum der Patienten beider Gruppen auf je 55 verschiedene Antikörper getestet. Es handelte sich um antinukleäre Antikörper und Antikörper, die ein autoimmunes Geschehen im Körper anzeigen können. Dabei konnten 19 dieser Autoantikörper im Serum einiger Patienten nachgewiesen werden. Die positiven Befunde ließen sich je nach Höhe des Titers in die vier Gruppen „grenzwertig“ oder „schwach positiv“ (1:100), „positiv“ (1:320), „stark positiv“ (1:1000) und „sehr stark positiv“ (1:10 000) unterteilen.

Die im Rahmen der Studie positiv getesteten Patienten wiesen alle Ergebnisse der ersten beiden Kategorien auf. Im Verhältnis 74:49 zeigen sich insgesamt mehr positive als grenzwertige Befunde. Tabelle 3 zeigt die gefundenen Autoantikörper und ihr Auftreten in beiden Patientengruppen. Im Rahmen der weiteren Untersuchung wurden beide Gruppen in Bezug auf ihr Autoantikörperprofil hin verglichen. Es sollte gezeigt werden, dass sich beide Patientengruppen in ihren Autoantikörpern unterscheiden. Ein signifikanter Unterschied bestand bei den Werten für ANAs gegen Hep-2-Zellen und ANA IgG IFT.

Autoantikörper	Gruppe 1		Gruppe 2	
	Befund +	Befund ++	Befund +	Befund ++
ANA IgG IFT	12	11	5	5
Hep-2-Zellen	15	10	5	6
Anti-Myelin	0	1	0	0
Schilddrüse	0	5	0	5
Ovar	0	1	0	1
Oesophagus	0	0	0	1
Spermatozoen	0	1	0	2
Magen	0	2	1	1
Granu EOH	0	2	0	4
Nerven	1	0	0	0
M. Iliopsoas (Skelettmuskel)	1	0	5	2
Niere	0	1	0	0
Magen	0	0	1	0
Thyreoglobulin IgG IFT	0	3	0	1
Thyreoglobulin EUROPLUS	0	3	0	1
IF-Typ DNA-ANCA	0	1	0	0
pANCA IgG IFT	0	1	0	0
Anti-Gefäßendothel IgG IFT Kapillarendothel	0	2	0	0
HUVEC	0	1	0	0

**Tabelle 3:** Die Tabelle führt alle bei Patienten im Rahmen der Studie gefundenen Autoantikörper auf. Abzulesen sind die Häufigkeiten der positiven Befunde in beiden Patientengruppen. Der Befund + zeigt einen Titer von 1:100 an, bei ++ liegt der Titer bei 1:320.

### 5.6.1 ANA IgG IFT und ANA gegen Hep-2-Zellen

In die statistische Analyse ging sowohl das Merkmal ANA IgG IFT als auch ANA gegen Hep-2-Zellen ein. So kam es zu einer Doppelung, da antinukleäre Antikörper gegen Hep-2-Zellen zur Immunglobulinklasse IgG gehören und damit auch im indirekten Immunfluoreszenztest (IFT) auf Immunglobulin G erfasst wurden. Im Folgenden soll stellvertretend nur noch das Merkmal ANA gegen Hep-2-Zellen betrachtet werden.

Antinukleäre Antikörper gegen Hep-2-Zellen traten signifikant häufiger bei Patienten mit postviraler Riechstörung auf ( $p=0,003$ ). 48 % der Probanden trugen dieses Merkmal. In der Gruppe mit Riechstörung anderer Genese waren es nur 19,6 % der Patienten mit positivem Befund. Der Chi-Quadrat-Test nach Pearson zeigte für  $\alpha=0,05$  und  $df=1$  eine zweiseitige Signifikanz von  $p=0,002$ . Mit Kontinuitätskorrektur, aufgrund des geringen Freiheitsgrades von  $df=1$ , ergab sich eine Signifikanz von  $p=0,003$ . Der Fisher-Exakt-Test erbrachte einen Wert von  $p=0,002$ . Der Unterschied zwischen beiden Patientengruppen in Bezug auf das Merkmal ANA gegen Hep-2-Zellen war signifikant.

Es wurde auch untersucht, ob ANAs gegen Hep-2-Zellen bei Patienten mit postviraler Riechstörung im Zusammenhang zu qualitativen Riechstörungen stehen. Bei der Anamnese zur Parosmie wurde unterschieden zwischen keine Beschwerden, veränderte Wahrnehmung vom klinischen Grad I mit regelmäßigen Parosmien und Grad II mit täglichen Parosmien und großem Leidensdruck. Insgesamt gaben 19 Patienten (43 %) aus Gruppe 1 an, unter einer Parosmie zu leiden, 7 davon unter der schweren Form. Auf nur 9 Patienten trafen beide Merkmale zu, sie trugen ANA gegen Hep-2-Zellen und litten an einer Parosmie. Der Chi-Quadrat-Test nach Pearson ergab für  $\alpha=0,05$  und  $df=2$  keine Signifikanz ( $p=0,27$ ). Es bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Ausprägung einer Parosmie und dem Vorhandensein von ANA gegen Hep-2-Zellen.

Unter einer Phantosmie, der Fehlwahrnehmung von Gerüchen ohne Gegenwart eines Reizes, litten laut Anamneseerhebung 4 Patienten. Zwei Patienten waren an der leichten und zwei an der schweren Form erkrankt. Je ein Patient dieser Paare trug das Merkmal ANA gegen Hep-2-Zellen, der andere nicht.

Der Chi-Quadrat-Test ergab für  $\alpha=0,05$  und  $df=2$  keine Signifikanz ( $p=0,99$ ). Es war kein Unterschied in der Verteilung zu erkennen. Die Ergebnisse sprachen nicht für einen Zusammenhang zwischen qualitativer Riechstörung und ANA gegen Hep-2-Zellen. Die Stichprobengröße reichte nicht aus, um den Zusammenhang eingehend untersuchen zu können.

80 % der Träger antinukleärer Antikörper gegen Hep-2-Zellen waren weiblich. Der Wert der Teststatistik im Chi-Quadrat-Test lag mit 3,53 knapp unter dem kritischen Wert 3,84 für  $\alpha=0,05$  und  $df=1$ . Somit lag die Signifikanz bei  $p=0,06$ , nach Kontinuitätskorrektur bei  $p=0,11$ . Dieses Ergebnis sprach für einen Trend, dass mehr Frauen als Männer ANA gegen Hep-2-Zellen aufwiesen. Signifikant war das vorliegende Ergebnis allerdings nicht.

Für Kriterien wie Dauer der Erkrankung, Ergebnis im SDI-Test oder das Alter der Patienten ließ sich kein Zusammenhang zum Auftreten von ANA gegen Hep-2-Zellen feststellen. Patienten ohne antinukleäre Antikörper waren im Mittel 56,9 Jahre alt (Standardabweichung 11,3). Patienten mit ANAs waren im Mittel 57,9 Jahre alt (Standardabweichung 12,7), somit war kein signifikanter Unterschied erkennbar. Die erzielten SDI-Werte lagen bei Patienten mit ANAs gegen Hep-2-Zellen bei 21,3 (Standardabweichung 6,9) und bei Patienten ohne antinukleäre Antikörper bei 22,5 (Standardabweichung 8,2). Die Erkrankungsdauer unterschied sich in ihren Mittelwerten, der Unterschied war allerdings statistisch nicht signifikant ( $p=1,61$ ). Patienten mit ANAs kamen im Durchschnitt 31,5 Monate (Standardabweichung 74,8) nach Beginn ihrer Riechstörung zur Erstvorstellung in die Klinik für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde des Universitätsklinikums Dresden, Patienten ohne ANAs nur 10,6 Monate (Standardabweichung 15,6) nach Auftreten erster Symptome.

## 6 Diskussion

### 6.1 Patientengruppen

Patienten der Gruppe 1 litten an einer postviralen Riechstörung. Die Zuordnung erfolgte auf Grundlage der Anamnese und nach Ausschluss einer sinunasalen Genese durch die HNO-ärztliche Untersuchung. So konnten 52 Patienten eingeschlossen werden. Der häufigste Vorstellungsgrund im Patientenkollektiv der Gruppe 2 war die sinunasale Riechstörung. Ermittelt wurde dies aus den erhobenen Daten von Mai 2014 bis November 2016 im Rahmen der ambulanten Sprechstunde für Riech- und Schmeckstörungen an der Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde am Universitätsklinikum Dresden. Das große Aufkommen an sinunasalen Störungen konnte mit der hohen Prävalenz dieser Erkrankung erklärt werden. Schätzungen zufolge leidet ein Erwachsener ca. 2- bis 5-mal im Jahr an einer akuten Rhinosinusitis, Schulkinder sogar doppelt so häufig. Die Zahl der Patienten mit chronischer Rhinosinusitis lässt sich noch schwerer abschätzen, man kann jedoch davon ausgehen, dass bis zu 5% der Bevölkerung an einer solchen Erkrankung leiden (Stuck et al., 2011). Das macht die sinunasale Riechstörung zur mit Abstand häufigsten Erkrankung mit Riechverlust.

Ein posttraumatischer Riechverlust kann durch ein Schädel-Hirn-Trauma bedingt sein. Auch iatrogen hervorgerufen durch eine Operation im Kopfbereich, der Nase oder den Nasennebenhöhlen kann es zu einem Ausfall des Riechvermögens kommen. Die Patienten berichteten von einem sofortigen Verlust aller Geruchsempfindungen oder einer Störung im Intervall kurz nach dem Unfall. Insgesamt machten diese Fälle allerdings nur einen kleinen Teil aller Erkrankungen mit Riechverlust aus. Ebenfalls eingeschlossen wurden Patienten mit der Diagnose idiopathische Riechstörung. Hier konnte bisher keine genaue Ursache für den meist schleichend beginnenden Riechverlust gefunden werden.

Es war jedoch nicht auszuschließen, dass unter ihnen auch ein Patient mit einer nicht diagnostizierten postviralen Riechstörung war. Durch die falsche Zuordnung zur Gruppe 2 würden solche Fälle die Ergebnisse verfälschen können. Auch andersherum kann ein Patient fälschlicherweise zur Gruppe 1 gezählt worden sein. Gab er anamnestisch einen viralen Infekt an, doch hatte die Riechstörung eine andere Ursache, würde er falsch zugeordnet worden sein.

## **6.2 Alter und Geschlecht der Patienten**

Die Patienten wurden alle aus der laufenden Sprechstunde heraus für die Studie gewonnen. Die Verteilung von Männern und Frauen auf beide Gruppen war nicht homogen. Vielmehr war ein signifikanter Unterschied erkennbar ( $p=0,004$ ). Gruppe 1 zeigte signifikant mehr Frauen, in Gruppe 2 war der Anteil der Männer höher. Im ausgewählten Patientenkollektiv spiegelte sich wieder, in welchem Verhältnis die Erkrankungen bei Männern und Frauen in der allgemeinen Bevölkerung auftreten. Unter den Patienten mit postviraler Riechstörung fanden sich in vorliegender Untersuchung zu 67 % Frauen. Das stimmte mit Angaben aus früheren statistischen Erhebungen überein, wonach ca. 70 % der Patienten mit postviralem Riechverlust weiblich waren. Insgesamt gesehen lag der Anteil weiblicher Betroffener bei den 40-70 jährigen am Höchsten, mit einem Häufigkeitsgipfel bei 50-60 Jahren. Damit waren Frauen mittleren Alters am stärksten von postviralen Riechstörungen betroffen (Sugiura et al., 1998). Das Durchschnittsalter der Patienten in der aktuellen Studie lag bei 57 Jahren, was vorangegangenen Erhebungen entsprach. Das zeigte auch, dass das Patientenkollektiv in seiner Zusammensetzung in Bezug auf Alter und Geschlechtsverteilung der Gesamtheit aller Betroffenen entsprach. Bei der posttraumatischen Genese war das Verhältnis der Geschlechter ausgeglichen. Ebenso ließen sich keine auffälligen Schwankungen in der Altersverteilung erkennen. Die sinunasale Riechstörung wiederum zeigte ein leichtes Überwiegen des weiblichen Geschlechts. Das Verhältnis von Frauen zu Männern betrug ungefähr 4:3. Bei Erkrankungen dieser Genese ließ sich deutlich ein Anstieg der Inzidenz im Alter von 40-70 Jahren erkennen (Sugiura et al., 1998; Konstantinidis et al., 2006a).

### 6.3 Raucher/ Nichtraucher

Dass das Rauchen unter anderem einen negativen Einfluss auf den olfaktorischen und den gustatorischen Sinn hat, ist bekannt. In einer Studie mit großer Probandenzahl konnten Vennemann et. al 2008 zeigen, dass das Risiko eine Riechminderung zu erlangen bei Rauchern signifikant erhöht war. Bei starken Rauchern von mehr als 20 Zigaretten pro Tag war sowohl das Risiko für eine Riechstörung als auch für die Entwicklung einer Schmeckstörung erhöht (Vennemann et al., 2008). Nur ein kleiner Teil der Patienten in vorliegender Studie gab einen regelmäßigen Nikotinkonsum an. Nicht erfasst wurden hierbei allerdings die Personen, die in der Vergangenheit geraucht hatten und glaubhaft versichern konnten, seit Jahren damit aufgehört zu haben. So waren es nur 11,5 % der Patienten mit postviraler und 14,3 % der Patienten mit anderer Riechstörung, die regelmäßig rauchten.

So lagen beide Gruppen mit diesen Werten unter dem bundesweiten Durchschnitt. Im Jahr 2016 lag der Anteil der Raucher demnach bei 27 % der deutschen Bevölkerung (Effertz, 2016). Möglich erscheint noch, dass die Patienten in der Anamnese über ihren Nikotinkonsum nicht die Wahrheit gesagt haben oder die Abweichung vom Bundesdurchschnitt lässt sich auf das Alter der von uns untersuchten Patientengruppe zurückführen. Der Anteil an Rauchern ist im jungen Erwachsenenalter am höchsten, vor allem zwischen 20 und 39 Jahren rauchen 38-40 % der deutschen Männer regelmäßig. Bei den Frauen liegt der Anteil immerhin bei 27-28 %, laut einer Erhebung der Deutschen Krebsgesellschaft e.V. von 2013 (Christmann, 2017). Die Patienten in Gruppe 1 und 2 der aktuellen Studie dagegen waren im Mittel 57 und 58 Jahre alt.

## 6.4 SDI-Werte

Das Riechvermögen der Studienpatienten wurde mittels Sniffin´ Sticks Test untersucht. Dieses Verfahren erlaubt die zuverlässige und wiederholbare Messung des Riechvermögens.

Eine Einteilung in Normosmiker mit normaler olfaktorischer Funktion, Hyposmiker mit eingeschränktem Riechsinn und funktionellen Anosmikern mit fehlendem oder stark vermindertem Riechvermögen ist möglich. Ab einem Gesamtergebnis von 30,5 erreichten Punkten im Sniffin´Sticks Test kann von einer Normosmie ausgegangen werden. Zwischen 16,5 und 30,5 Punkten spricht man von einer Hyposmie. Konnten nur weniger als 16,5 Punkte erzielt werden, liegt wahrscheinlich eine funktionelle Anosmie vor (Hummel et al., 1997). Die Werte für Patienten mit einer postviralen Riechstörung schienen im Mittel höher zu sein (21,95 +/- 7,6) als die der Patienten mit Riechverlust anderer Genese (15,84 +/- 6,7), jedoch zeigte sich der Unterschied nicht signifikant ( $p=0,195$ ). Das kann unter anderem an der Auswahl der Probanden liegen. Es sollten möglichst viele Patienten mit postviraler Riechstörung in die Studie eingeschlossen werden können, um die Aussagekraft der Untersuchung durch ein großes Patientenkollektiv zu steigern. Daher wurden auch Patienten eingeschlossen, die knapp normosmische Werte zeigten, jedoch subjektiv eine Verschlechterung ihres bisherigen Riechvermögens beklagten. Außerdem konnte bei Patienten mit postviralem Riechverlust unter Umständen eine sehr schnelle Besserung des Riechvermögens beobachtet werden, vor allem im ersten halben Jahr nach dem schädigenden Ereignis (Reden et al., 2006). Kam der Patient zum Kontrolltermin nach drei oder sechs Monaten in die Sprechstunde, wurde er in die Studie mit einbezogen, obwohl sich sein Riechvermögen bereits deutlich verbessert hatte im Vergleich zum ersten Termin kurz nach dem viralen Infekt.

## 6.5 Dauer der Riechstörung

Bei der Anamnese jedes Studienteilnehmers wurde unter anderem die Dauer der Riechstörung erfasst. Die Zeit zwischen erstem Auftreten der Symptome bis zur Vorstellung bei einem HNO-Arzt und damit Diagnose und Einleitung einer Behandlung ist interessant für die Beobachtungen zum weiteren Verlauf der Erkrankung und zum Abschätzen einer Prognose. Es konnte bisher beobachtet werden, dass sich das Riechvermögen bei Patienten mit postviralem Riechverlust innerhalb des ersten halben Jahres nach der Infektion erholen und verbessern kann. Die Neuronen des Riechepithels sind durchaus in der Lage sich zu regenerieren und neu auszuwachsen. Vor allem intensives Riechtraining schien den Patienten großen Benefit zu bringen, wenn die Schädigung des Riechepithels weniger als 12 Monate zurück lag (Damm et al., 2013). Wie schnell jedoch ein Patient in einer speziellen Sprechstunde für Riechstörungen in einer großen Klinik für HNO-Heilkunde vorstellig wird, hängt von verschiedenen Faktoren ab. Zum einen ist es das Leidenskriterium, das eine Rolle spielt, vor allem Männer und ältere Menschen legen häufig weniger großen Wert auf das Riechvermögen und den Feingeschmack (Hummel and Nordin, 2004). Ist der Leidensdruck gering, erfolgt die Vorstellung beim HNO-Arzt erst sehr spät. Zum anderen hat das ärztliche Versorgungssystem in Deutschland einen entscheidenden Einfluss auf die Latenz zwischen dem schädigendem Ereignis und der Konsultation eines Facharztes. Der Betroffene sucht in der Regel zuerst seinen Hausarzt auf. Dieser untersucht ihn und unternimmt selbst einen Therapieversuch oder entscheidet sich für eine Überweisung zum niedergelassenen Spezialisten für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde. Bei diesem wiederholt sich das Procedere mit Anamnese, Untersuchung, Diagnostik und Therapieversuch. Stellt sich keine Besserung ein, erfolgt die Überweisung zur HNO-Universitätsklinik. Bis zum vereinbarten Termin dort sind Wochen und Monate seit Beginn der Riechstörung vergangen. Die Angaben über die Dauer der Riechstörung in dieser Studie stammten ausschließlich vom Patienten selbst. Sie waren abhängig vom Gedächtnis oder den Aufzeichnungen der Betroffenen. Je länger die Zeiträume, desto unpräziser werden die Angaben und desto größer die Streuung um den tatsächlichen Wert.

## 6.6 Antinukleäre Antikörper

### 6.6.1 IgG in der indirekten Immunfluoreszenztechnik

Die gefundenen antinukleären Antikörper, nachgewiesen mithilfe des monospezifischen Sekundärantikörpers, gehörten alle zur Immunglobulinklasse IgG. Das Merkmal ANA IgG IFT kam gemeinsam mit dem Merkmal ANA gegen Hep-2-Zellen so häufig vor, da ANA gegen Hep-2-Zellen zur Immunglobulinklasse G gehören. Hier kam es zu einer Doppelung in der Auswertung. Jedoch fanden sich IgG nicht nur unter den ANAs, sondern auch im zweiten Teil der Labortestungen, der umfassenden Autoantikörperdiagnostik. Sie wurde durchgeführt mit dem Schwerpunkt auf Antikörper gegen neuronales Gewebe, um einen eventuellen Zusammenhang zwischen den Riechstörungen der Patienten und hirnorganischen Erkrankungen aufzuzeigen.

Auch das Alter der Patienten hat einen Einfluss auf Anzahl und Art der Immunglobuline. Mit zunehmendem Alter steigt der Anteil an IgG und IgA im Serum an. IgM dagegen sinkt ab, die B-Lymphozyten produzieren weniger IgM, je älter der Organismus wird. Interessant hierbei ist eine Studie von Manoussakis et. al. die zeigte, dass alle untersuchten Probanden mit Hypergammaglobulinämie auch ANAs aufwiesen (Manoussakis et al., 1987).

Eine Hypergammaglobulinämie mit IgG lässt sich auf eine gesteigerte Aktivität von B-Lymphozyten zurückführen. Das entspricht dem Zusammenhang, der in der vorliegenden Studie deutlich wurde. Auch hier konnte beobachtet werden, dass viele Patienten positiv für ANA IgG IFT und ANAs gegen Hep-2-Zellen waren. Das untersuchte Patientenkollektiv war im Mittel eher älter (Median 59 Jahre), was ein Überwiegen des Immunglobulins G erklärt.

### 6.6.2 Autoantikörperdiagnostik mit Hep-2-Zellen

Das Merkmal „positiv für ANAs gegen Hep-2-Zellen“ trat bei Patienten der Gruppe 1 signifikant häufiger auf als in der Kontrollgruppe. Die Diagnostik für antinukleäre Antikörper verwendet Gefrierschnitte einzelner Gewebe oder Hep-2-Zellen. Dabei haben die Zellen den Vorteil, dass ANAs besser sichtbar gemacht und innerhalb der Zelle exakt lokalisiert werden können. Je nach Zielantigen binden die ANAs zum Beispiel an Histone, Zentromere oder im Zytoplasma. Das Arbeiten mit Hep-2-Zellen stellte ein Screening auf antinukleäre Antikörper dar. Ein positiver Befund gab zunächst einmal an, dass ANAs im Serum des Patienten vorhanden waren. Um sie genau bestimmen zu können, musste das Muster in der Immunfluoreszenz beurteilt werden. Hierzu wurden zwei Testfelder kombiniert. Auf einem befanden sich Hep-2-Zellen, auf dem anderen ein Gefrierschnitt von zum Beispiel Primatenleber (Stöcker et al., 2016). Jeder antinukleäre Antikörper bildete, je nach Zielantigen, ein spezifisches Muster auf diesen beiden Testfeldern. Von geschultem Personal konnte das Fluoreszenzmuster eindeutig identifiziert und so der antinukleäre Antikörper benannt werden. In vorliegender Studie konnte gezeigt werden, dass signifikant mehr Patienten mit postviraler Riechstörung ANAs tragen, jedoch lag der Titer bei keinem der Patienten im klinisch relevanten Bereich. Vorhergehende Studien konnten zeigen, dass auch gesunde Probanden ANAs tragen können, mit niedrigem Titer und ohne Krankheitswert (Teubner et al., 2002; Gundín et al., 2016).

Eine Untersuchung durch Teubner et. al. 2002 konnte zeigen, dass 25 % der untersuchten gesunden Probanden ANAs im Serum tragen. Dabei kommen antinukleäre Antikörper signifikant häufiger bei Frauen vor als bei Männern (Teubner et al., 2002). Wann diese ANAs für den Patienten relevant werden, hängt unter anderem vom Antikörper selbst und dem jeweiligen klinischen Kontext ab. Der Nachweis allein genügt nicht, eine Krankheit festzustellen, da auch viele Gesunde antinukleäre Antikörper tragen. Eine Untersuchung durch Mariz et. al. 2010 fand antinukleäre Antikörper in der untersuchten Patientengruppe bei 12,9 % der gesunden Probanden. Des Weiteren konnte ein Trend im Alter festgestellt werden. Je höher das Alter, desto größer war der Anteil an ANA-positiven Probanden in der Gruppe. Den Wissenschaftlern ist es gelungen, einen Teil der positiv getesteten Patienten nach 3-5 Jahren nachuntersuchen zu können. Es zeigte sich, dass keiner der Probanden eine Krankheit entwickelt hatte. Bei 27 % der initial positiv getesteten Probanden mit niedrigem Titer waren die ANAs bei der zweiten Untersuchung sogar verschwunden (Mariz et al., 2010). Vor allem bei über 80 jährigen kommen ANAs in größerer Zahl vor, auch wenn die Probanden klinisch gesund sind. Man kann davon ausgehen, dass sich bei ca. 31 % der älteren Bevölkerung antinukleäre Antikörper finden (Manoussakis et al., 1987). Im untersuchten Patientengut der vorliegenden Studie fanden sich bei 50 % der Probanden antinukleäre Antikörper. Dieser Unterschied zur bisherigen Literatur lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass mit 55 verschiedenen ANAs eine sehr große Anzahl und Vielfalt untersucht wurde. Ein Großteil der Probanden war bereits älter, was die Wahrscheinlichkeit, ANAs zu finden, erhöht. Hinzu kommt, dass im Rahmen der Studie bereits Titer ab 1:100, „grenzwertig positiv“, berücksichtigt wurden, um keine ANAs zu übersehen. Solche niedrigen Werte haben keine Geltung für den Patienten, in der klinischen Diagnostik wird ihnen keine Bedeutung beigemessen. Nur 32,4 % der Probanden wiesen einen Titer von 1:320 auf, was als „positiv“ gewertet werden kann, jedoch immer noch zu niedrig ist, um klinisch für den Patienten relevant zu werden.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass Patienten mit postviraler Riechstörung signifikant häufiger Träger von antinukleären Antikörpern waren, verglichen mit Riechstörungen anderer Genese. Weitere Untersuchungen sollten folgen um zu zeigen, dass antinukleäre Antikörper auch ein Risikofaktor für die Entwicklung einer postviralen Riechstörung sein könnten. Möglicherweise stellen sie eine Prädisposition im Immunsystem dar, die die Erkrankung begünstigen kann.

## **6.7 Olfaktorische Funktion und Immunsystem**

In dieser Studie wurde die Frage gestellt nach dem Zusammenhang zwischen dem olfaktorischen System und dem Immunsystem. Um die Verbindung aufzeigen und verstehen zu können, war weitere Recherche in der wissenschaftlichen Literatur nötig.

Zwischen dem olfaktorischen und dem Immunsystem bestehen komplexe Verbindungen. Eine Immunreaktion kann Einfluss haben auf Riechvermögen, Verhalten und Gedächtnis. Umgekehrt kann auch das olfaktorische System Einfluss auf andere Funktionen im ZNS nehmen. Strous und Schoenfeld untersuchten 2006 diese Zusammenhänge genauer. Um die Folgen eines Riechverlustes studieren zu können, wurde im Nagermodell eine Bulbus Ektomie durchgeführt. Neben einem Ausfall der Riechfunktion zeigten die Tiere depressives Verhalten. Zusätzlich konnte im Gehirn ein Rückgang der Phagozytose der Neutrophilen, der Zellzahl der negativen Akute-Phase-Proteine und der Anzahl der anti-inflammatorischen Zytokine beobachtet werden. Auf der anderen Seite stiegen die Leukozytenadhäsion und Aggregation, Phagozytose von Monozyten, die Zellzahl von Neutrophilen und die positiven Akute-Phase-Proteine an. Es wurden vermehrt T-Helferzellen aktiviert. Bulbusektomierte Ratten zeigten eine erhöhte nächtliche Ausschüttung von Kortisol. Eine Störung in einem der Systeme, dem olfaktorischen, neurologischen oder dem Immunsystem, beeinflusste auch die jeweils anderen (Strous and Shoenfeld, 2006a).

Durch die unmittelbare Verknüpfung des olfaktorischen mit dem limbischen System haben Düfte einen starken Einfluss auf unsere Stimmung. Untersucht wurde in einer Studie von Moscovitch et.al. 2009 der Zusammenhang zwischen neurodegenerativen, psychiatrischen und autoimmunen Erkrankungen. Allen gemeinsam war ein Entzündungsgeschehen mit Anstieg der pro-inflammatorischen Zytokine. Depressive Stimmung, Ängstlichkeit und Riechstörungen traten schon früh im Krankheitsverlauf auf. Obwohl es sich um unterschiedliche Erkrankungen handelte, wiesen alle auch diese gemeinsamen Elemente auf. Das Riechvermögen spielt eine Schlüsselrolle bei hirnganischen Erkrankungen. Es ist eng mit dem Immunsystem und neuroendokrinem System verwoben und daher schwer abzugrenzen. Es kann unter Umständen mit einbezogen werden, um künftige hirnganische Erkrankungen und deren Verläufe vorherzusagen. Düfte können unterstützend als Stimmungsaufheller in der Therapie eingesetzt werden und um das Immunsystem zu stärken (Strous and Shoenfeld, 2006a; Moscovitch et al., 2009a).

Was allen neurodegenerativen Erkrankungen gemeinsam ist, ist die Entzündung im ZNS mit erhöhten Leveln an Zytokinen und verringerten anti-inflammatorischen Molekülen. Deretzi et al. untersuchten 2011, ob möglicherweise eine gestörte Blut-Hirn-Schranke eine Rolle spielt. Dadurch wird das Gehirn sensibler für Entzündungsvorgänge in der Peripherie und eventuell werden Hirnerkrankungen dadurch begünstigt oder hervorgerufen. Pathogene können das ZNS unter anderem über die Nasenschleimhaut oder den Blutweg erreichen. Der Gastrointestinaltrakt spielt als Eintrittspforte für Erreger eine wichtige Rolle. Er besitzt ein großes Immunorgan mit spezialisierten Abwehrmechanismen und immunregulatorischer Funktion. Zu untersuchen sind die Wechselwirkungen zwischen Gehirn und Gastrointestinaltrakt in Bezug auf neurodegenerative Erkrankungen. Eine Infektion mit *Helicobacter pylori* zum Beispiel ruft eine hormonelle und zelluläre Immunantwort hervor, die über molekulares Mimikry und Kreuzreaktion das ZNS angreifen kann (Deretzi et al., 2011).

Das Riechvermögen ist mit dem Immunsystem auf komplexe Art und Weise verknüpft. Beide Systeme besitzen die Fähigkeit, zwischen eigen und fremd zu unterscheiden und beide sind MHC abhängig. MHC steht für Major Histocompatibility Complex, es handelt sich um Gene, die für verschiedenste Proteine kodieren, unter anderem auch für Proteine des Immunsystems und des olfaktorischen Systems.

Die Gene, die für olfaktorische Rezeptoren abgelesen werden, liegen nah den Schlüsselstellen derer für Autoimmunerkrankungen, das schafft eine physiologische und funktionelle Verbindung. Autoimmunität ist ein Mosaik aus Dysregulation, Umweltfaktoren und hormonellen und genetischen Einflüssen. All diese Komponenten sind wiederum selbst mit dem olfaktorischen System verbunden. Das Riechvermögen zeigt sich nachweislich vermindert bei neurologischen oder neurodegenerativen Erkrankungen und bei psychischen Störungen. Es ist mit beeinträchtigt bei zum Beispiel M. Alzheimer, M. Parkinson, Schizophrenie, Depression, aber auch bei Autoimmunerkrankungen wie dem systemischen Lupus erythematosus, Sjögren-Syndrom und autoimmunen Schilddrüsenerkrankungen (Perricone et al., 2012).

Im Mausmodell konnte durch Rattazzi et. al. 2015 gezeigt werden, wie sich eine Schwäche des Immunsystems konkret auf das olfaktorische System und die Psyche auswirken kann. Hierzu wurde ein Gen ausgeschaltet, RAG-1, welches für ein Enzym kodiert, das bedeutend ist für die Entwicklung von B- und T-Lymphozyten. Die Mäuse mit einem RAG-1-Knockdown waren immuninkompetent. Die immunologischen Defizite gingen mit einem beeinträchtigten Riechvermögen und einem erhöhten Angstlevel einher. RAG-1-Knockout Mäuse zeigten verändertes Verhalten und traten in den Testungen ängstlicher auf. Die Genexpression im Gehirn war verändert, was zu einer verringerten Expression von Genen des olfaktorischen Systems und in der Folge zu einer Riechminderung führte. In der Immunfluoreszenz konnten desorganisierte Glomeruli und reduziertes olfaktorisches Markerprotein, welches für die Signaltransduktion wichtig ist, im Bulbus der RAG-1-Knockout Mäuse gefunden werden. Ihr olfaktorisches Epithel war weniger dick und zellärmer als das vergleichbarer gesunder Mäuse. Im Test brauchten sie fünfmal länger ein verstecktes Futterstück zu finden als ihre gesunden Artgenossen. Bei der Diskrimination von Düften zu Wasser schnitten die Knockout-Mäuse schlechter ab und zeigten zudem untypisches Verhalten. Die Immunologische Störung durch den RAG-1-Knockdown löste Angst und eine Riechstörung bei den Tieren aus. Ein immunologisches Defizit führte gleichermaßen zu psychischem Ungleichgewicht mit Ängstlichkeit und olfaktorischen Störungen. Das legt nahe, dass alle drei Elemente die gleichen Signalwege nutzen und so miteinander verbunden sind (Rattazzi et al., 2015).

Wie das olfaktorische System selbst Einfluss nehmen kann auf das Immunsystem des Körpers, zeigt eine Studie von Rui et. al. von 2016. Die Forschergruppe arbeitete mit Stammzellen des olfaktorischen Epithels auf der Suche nach einem neuen therapeutischen Ansatz für die rheumatoide Arthritis. Bei der rheumatoiden Arthritis handelt es sich um eine chronische Entzündung in Gelenken, Knorpel und Knochen. Vor allem proinflammatorische Zytokine und autoreaktive T-Zellen wie Th1 und Th17 spielen in der Pathogenese eine Rolle. Es wird an Therapien mit mesenchymalen Stammzellen geforscht. Dabei handelt es sich um multipotente Vorläuferzellen, die sich in alle Zelllinien weiterentwickeln können. Sie werden gewonnen aus Knochenmark oder Nabelschnurblut.

Eine weitere Art von Stammzellen wurde entdeckt in der Lamina propria des olfaktorischen Epithels. Es handelt sich um die olfaktorischen ekto-mesenchymalen Stammzellen (OE-MSCs). Sie weisen eine hohe Proliferationsrate auf und verfügen über eine erhebliche Regenerationsfähigkeit. Zusätzlich haben sie immunsuppressive Funktion. OE-MSCs regeln T-reg herauf und Th1 und Th17 Zellen herunter. Sie produzieren TGF- $\beta$  (transforming growth factor) und IL-10, beides immunsuppressive Signalmoleküle und wirken auf das angeborene und das adaptive Immunsystem. Während einer Entzündung sind OE-MSCs sensibel für IL-17, einem proinflammatorischen Zytokin. Die Stammzellen werden durch das Zytokin in ihrer Funktion beeinträchtigt, ihre Produktion von T-reg wird herabgesetzt. Möglicherweise ist die Schädigung der Zellen im Rahmen der Entzündung mit verantwortlich für den Riechverlust bei chronischer Rhinosinusitis oder nach viraler Infektion (Rui et al., 2016). In einer Studie von Tian et. al. 2016 konnte gezeigt werden, dass ein Knockdown von IL-17 Rezeptoren in den OE-MSCs diesen Effekt verhindern kann. Die manipulierten Zellen zeigten eine gesteigerte immunsuppressive Leistung mit effektiver Kontrolle der Entzündungsmediatoren. An Mäusen mit Kollagen-induzierter Arthritis, einem Modell für die rheumatoide Arthritis, konnte der Ausbruch der Krankheit bei Anwesenheit von OE MSCs verzögert und die Schwere deutlich abgemildert werden. Unter Umständen kann diese Erkenntnis zu neuen Therapieoptionen bei Autoimmunerkrankungen führen (Rui et al., 2016; Tian et al., 2016).

Weitere Forschung mit Stammzellen gibt es auf dem Gebiet der neurodegenerativen Erkrankungen. Im Mausmodell zur Multiplen Sklerose (MS) wird mit neuronalen Stammzellen gearbeitet. Die MS ist eine Erkrankung mit chronischer Entzündung und nachfolgender Demyelinisierung des ZNS. Endogene neuronale Stammzellen spielen eine wichtige Rolle bei der Regeneration im ZNS, indem sie neue Neuronen und Gliazellen bilden. Eine Arbeit von Kherzri et al. 2013 beschäftigte sich mit der experimentellen autoimmunen Enzephalitis, dem Mausmodell um MS zu simulieren.

Dabei wurde der Einfluss verschiedener Botenstoffe auf die neuronalen Stammzellen untersucht, unter anderem von Dibutyryl-cAMP. Dieses Signalmolekül konnte das Fortschreiten der Erkrankung verlangsamen und die Demyelinisierung verringern, indem es die Stammzellen zur Proliferation und Migration anregte. Sie wurden zu den Demyelinisierungsherden rekrutiert und differenzierten dort zu Gliazellen, es kam zur Remyelinisierung. Dabei legten die Stammzellen weite Strecken zurück und gelangten so zu verschiedensten Stellen im Hirnparenchym und sogar bis in den Bulbus olfactorius. Dieser Effekt wurde bisher nur im Mausmodell beobachtet, trotzdem scheint der Einsatz von Dibutyryl-cAMP ein vielversprechender Therapieansatz bei demyelinisierenden Erkrankungen zu sein (Khezri et al., 2013).

Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen dem Immunsystem und dem olfaktorischen System gab es auch an Patienten mit Psoriasis vulgaris und Pemphigus vulgaris. Bei der Psoriasis handelt es sich um eine systemische Autoimmunerkrankung mit verschiedenen Komorbiditäten. In einer Studie von Aydin et al. 2016 schnitten die Patienten mit Psoriasis im Vergleich zu gesunden Probanden signifikant schlechter im Sniffin´ Sticks Test ab. 80 % der untersuchten Patienten mit Psoriasis zeigten eine Hyposmie. Auch stand das Ergebnis mit der Schwere der Erkrankung in Zusammenhang. Patienten mit mittelschwerer bis schwerer Erkrankung laut PASI Score (>10) zeigten signifikant schlechtere Ergebnisse als Patienten mit leichter Psoriasis (PASI <10). Die Empfehlung der Wissenschaftler lautete daher, bei Patienten mit Psoriasis vulgaris immer auch die Riechfunktion zu untersuchen (Aydin et al., 2016).

Das Riechvermögen ist auch bei Patienten mit Pemphigus vulgaris eingeschränkt. Es handelt sich dabei um eine Autoimmunerkrankung, die zur Akantholyse führt. Die Studienteilnehmer unter Meric et al. 2014 wurden endoskopisch auf Läsionen in der Nase untersucht. Je mehr Läsionen nachgewiesen werden konnten, desto mehr klagten die Patienten auch über Obstruktion, Schmerz, Blutungen und Krustenbildung. Auch im Riechtest schnitten die Patienten umso schlechter ab, je mehr Läsionen an der Nasenschleimhaut zu finden waren. Pemphigus vulgaris beeinträchtigte deutlich das Riechvermögen der Patienten und verminderte die Lebensqualität (Meric et al., 2014).

Eine weitere wichtige Autoimmunerkrankung ist der systemische Lupus erythematosus (SLE). Aufgrund seiner vielfältigen Symptome ist er schwer zu diagnostizieren und noch schwerer zu behandeln. Nach wie vor steht kein kausaler Therapieansatz zur Verfügung. SLE ruft als Autoimmunerkrankung Entzündungen von Haut, Gelenken, Nieren und Herz hervor. Es können fokale neurologische Symptome auftreten wie Angst, Depression, Psychosen und kognitive Defizite. Auch das verminderte Riechvermögen ist eines der Symptome der Erkrankung. Möglicherweise kommt es aufgrund des schädigenden Effektes auf Neuroblasten zum Riechverlust.

In mehreren Studien wurden Patienten mit SLE auf ihr Riechvermögen hin untersucht und die Ergebnisse der Testung mit gesunden Probanden verglichen. Ca. 46 % der untersuchten Lupuspatienten litten an einer Hyposmie, sogar 10 % an einer Anosmie. Die Werte des Riechtests korrelierten hierbei mit der Krankheitsaktivität und der ZNS-Beteiligung (Shoenfeld et al., 2009; Kapadia et al., 2012a).

Bisher weiß man, dass Autoantikörper eine wichtige Rolle in der Pathogenese von neuropsychiatrischen Symptomen bei Autoimmunerkrankungen spielen. SLE Patienten tragen viele verschiedene Autoantikörper in ihrem Serum, jedoch müssen diese zuerst die Blut-Hirn-Schranke passieren, um im ZNS wirken zu können. Ca. 25-70 % der Patienten leiden unter neuropsychiatrischen Symptomen (Shoenfeld, 2007). Um den Einfluss vom SLE auf das zentrale Nervensystem im Tiermodell untersuchen zu können, arbeiteten unter anderem Shoenfeld et al. 2007 mit dem experimentellen neuropsychiatrischen Lupus.

Hierfür wurden Autoantikörper aus dem Serum von Lupuspatienten extrahiert und den Nagern direkt ins Ventrikelsystem injiziert. Es handelte sich um Antiphospholipid-AK und Anti-ribosomal-P-AK, die zwei Gruppen von Mäusen verabreicht wurden. Die Kontrollgruppe erhielt reines IgG.

Nach dem Eingriff konnten der Einfluss der Autoantikörper auf Kognition und Verhalten der Nager beobachtet werden. Die Tiere, die mit Antiphospholipid-AK behandelt wurden, zeigten Hyperaktivität und ein herabgesetztes Angstlevel. Die Tiere mit Anti-ribosomal-P-AK dagegen entwickelten depressives Verhalten und eine Einschränkung der Riechleistung im Vergleich zu den Kontrolltieren. Mit einer speziellen MRT Technik konnte die Aktivität einzelner Hirnareale in vivo beurteilt werden. Vor allem in Bulbus und Tractus olfactorius, in Amygdala und olfaktorisch relevanten Hirnarealen wurde im MRT eine erniedrigte Aktivität nachgewiesen. Möglicherweise verursachen die anti-ribosomal-P-AK einen Zellschaden der zur Ödembildung führt und die Funktion der betroffenen Hirnareale stark einschränkt. Nach Gabe von Antidepressiva konnte sowohl die Stimmung als auch das Riechvermögen der Mäuse gebessert werden (Shoenfeld, 2007; Kivity et al., 2010; Katzav et al., 2014). Die Versuche zeigten einmal mehr den Zusammenhang zwischen dem olfaktorischen, dem immunologischen und dem neuronalen System auf.

## 7 Zusammenfassung

Die postvirale Riechstörung ist die dritthäufigste Ursache für einen Verlust der olfaktorischen Sensibilität. Die Erkrankung kann diagnostiziert werden, wenn sie in direktem zeitlichen Zusammenhang mit einem viralen Infekt der oberen Atemwege auftritt. Bisher ist nicht eindeutig geklärt, warum es bei manchen Patienten nach der Infektion zu einem Riechverlust kommt und bei anderen nicht. Im Rahmen dieser Studie sollte das immunologische Geschehen von Patienten mit spezifischen Riechstörungen mithilfe von antinukleären Antikörpern und Autoantikörpern abgebildet werden.

Ziel der Studie war es zu untersuchen, ob bei Patienten mit postinfektiösem Riechverlust Hinweise auf ein autoimmunes Geschehen in Form von Autoantikörpern gefunden werden können. Des Weiteren wurde geprüft, inwieweit sich ihr Autoantikörperprofil von dem anderer Patienten mit Riechverlust unterscheidet. Dazu wurden 108 Patienten HNO-ärztlich untersucht und je eine Serumprobe analysiert. In der indirekten Immunfluoreszenz wurden die Proben mittels Hep-2-Zellen und transfizierten Human-Embryo-Kidney-Zellen auf Autoantikörper hin untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit postviralem Riechverlust signifikant häufiger antinukleäre Antikörper aufwiesen als Probanden der Kontrollgruppe mit Riechstörungen anderer Genese. Vor allem Frauen mittleren Alters waren signifikant häufig von postviraler Riechstörung betroffen und zeigten, verglichen mit männlichen Patienten, signifikant mehr antinukleäre Antikörper im Serum. Mit zunehmendem Patientenalter konnten mehr Spuren abgelaufener Infektionen und mehr antinukleäre Antikörper und Autoantikörper im Serum gefunden werden. Tatsächlich fanden sich nur schwache Konzentrationen von ANAs und Autoantikörpern bei den aktuell 108 untersuchten Patienten. Keiner von ihnen wies Titer in klinisch relevanter Höhe auf. Vielmehr handelte es sich hier um Beobachtungen, die auf eine große Vielfalt an unterschiedlichen Autoantikörpern schließen lassen. Sie zirkulieren im Körper ohne Schaden anzurichten oder eine Erkrankung hervorzurufen.

Es wird Gegenstand weiterer Forschung sein herauszufinden,

- welche Aufgaben Autoantikörper in ihrer enormen Vielfalt möglicherweise im Organismus haben?
- ob sie in ihrer Anzahl konstant bleiben, sich vermehren oder mit der Zeit auch wieder verschwinden können?
- ob sie Prädiktoren für Krankheiten darstellen oder Erkrankungen verursachen können und wenn ja, unter welchen Umständen?

In dieser Arbeit ist deutlich geworden, dass das olfaktorische System eng mit dem Immunsystem verbunden ist. Eine Störung in einem der Systeme hat auch Einfluss auf das jeweils andere. Speziell für die postvirale Riechstörung konnte gezeigt werden, dass immunologische Mechanismen an ihrer Entstehung beteiligt sind, wenn das Geschehen insgesamt auch multifaktoriell bedingt ist.

## 8 Summary

Dysosmia upon a viral infection displays one of the three most common olfactory disorders treated in an Ear-Nose-Throat (ENT) clinic. However, until now it remains unexplored how and to which extent a pre-activated immune response can drive the development of a postinfectious olfactory malfunction. Following this question, aim of this study was to investigate the immunological profile of patients diagnosed with postinfectious olfactory dysfunction.

To explore the potential differences in the antibody profile of patients with postinfectious olfactory loss in comparison to patients with olfactory loss of other reason serum samples of both groups were investigated. Special focus was thereby on the prevalence of autoantibodies, especially antinuclear antibodies. Therefore the expression pattern of various autoantibodies in serum samples of 108 patients was analysed by indirect immunofluorescence in Hep-2 and transfected Human-Embryo-Kidney cells using the BIOCHIP-Mosaic-kit (Euroimmun AG). All patients received a detailed doctor's consultation in the ENT clinic prior.

Our data showed that in comparison of both groups, patients with postinfectious olfactory loss, especially middle aged women, sustained significantly more antinuclear antibodies. Thereby none of the patients showed titres of clinical relevance. Our analysis displayed a wide range of antinuclear antibodies and autoantibodies in minimal titres; however their character and function under different circumstances remain to date unclear. In the future, antinuclear antibodies might serve as predictor for the susceptibility for subsequent olfactory diseases; nevertheless its clinical use requires further investigations. Taken together, our results underline the strong interplay between the immune and the olfactory system. Imbalance in one of the systems may lead to malfunction in the other one, resembling the potential cause of cross-diseases like e.g. postinfectious olfactory dysfunction.

---

## 9 Anhang

### 9.1 Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikörper (-molekül)
alpha	Angabe der Wahrscheinlichkeit im Chi-Quadrat-Test nach Pearson
ANA	antinukleäre Antikörper
bzw.	beziehungsweise
ca.	zirka, ungefähr
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
df	Anzahl der Freiheitsgrade im Chi-Quadrat-Test nach Pearson
HEK-Zellen	Human-Embryonic-Kidney-Zellen, menschliche embryonale Nierenzellen
Hep-2-Zellen	humane Epitheliomzellen Typ 2 des Larynxkarzinoms
HLA-Merkmal	humanes Leukozytenantigen-System; Gene, die für Immunmoleküle kodieren
IFT	Immunfluoreszenztechnik
IL- ...	Interleukin ... , proinflammatorische oder immunsuppressive Signalmoleküle
MS	Multiple Sklerose; neurodegenerative Erkrankung

---

OE-MSCs	olfaktorische ekto-mesenchymale Stammzellen
PASI-Score	Psoriasis Area and Severity Index; Maß für den Schweregrad der Erkrankung
PEA	Phenylethylalkohol; Duftstoff „Rose“
SDI	Kurzform für die Ergebnisse des Sniffin´ Sticks Test: Schwellentest – Diskriminierung – Identifikation
SLE	systemischer Lupus erythematosus; autoimmune Erkrankung
TGF- $\beta$	Transforming growth factor; immunsuppressives Signalmolekül
Th1/ Th17	T-Helferzellen mit vorwiegend entzündungsfördernder Wirkung
T-reg	regulatorische T-Zellen mit immunmodulatorischer Wirkung
u.a.m.	und andere mehr
ZNS	zentrales Nervensystem

---

## 9.2 Literaturverzeichnis

Abbas AK. 1989b. Antigen presentation by B lymphocytes: mechanisms and functional significance. *Semin Immunol* 1:5–12.

Abbas AK, Burstein HJ, Bogen SA. 1993b. Determinants of helper T cell-dependent antibody production. *Semin Immunol* 5:441–447.

Aydın E, Tekeli H, Karabacak E, Altunay İK, Aydın Ç, Çerman AA, Altundağ A, Salihoğlu M, Çayönü M. 2016. Olfactory functions in patients with psoriasis vulgaris: correlations with the severity of the disease. *Arch Dermatol Res* 308:409–414.

Benkler M, Agmon-Levin N, Shoenfeld Y. 2009. Parkinson's disease, autoimmunity, and olfaction. *Int. J Neurosci*, 119:12, 2133-2143, DOI: 10.3109/00207450903178786

Bitter T, Siegert F, Gudziol H, Burmeister HP, Mentzel H-J, Hummel T, Gaser C, Guntinas-Lichius O. 2011. Gray matter alterations in parosmia. *Neuroscience* 177:177–182.

Brämerson A, Johansson L, Ek L, Nordin S, Bende M. 2004. Prevalence of olfactory dysfunction: the skövde population-based study. *Laryngoscope*.

Christmann DDM. 2017. Onko Internetportal [aktualisiert am: 16.12.2014 , Aufruf am: 04.04.2017] URL: <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/bewusst-leben/rauchen-zahlen-und-fakten.html>

Croy I, Yarina S, Hummel T. 2013. Research Letter Enhanced parosmia and phantosmia in patients with severe depression. *Psychol Med* 43:2460–2464.

Damm M, Pikart LK, Reimann H, Burkert S, Göktas Ö, Haxel B, Frey S, Charalampakis I, Beule A, Renner B, Hummel T, Hüttenbrink K-B. 2014. Olfactory training is helpful in postinfectious olfactory loss: a randomized, controlled, multicenter study. *The Laryngoscope* 124:826–831.

Damm M, Temmel A, Welge-Lüssen A, Eckel HE, Kreft M-P, Klussmann JP, Gudziol H, Hüttenbrink K-B, Hummel T. 2004. Riechstörungen. *HNO* 52:112–120.

Delank K-W, Fechner G. 1996. Zur Pathophysiologie der posttraumatischen Riechstörung\*. *Laryngo-Rhino-Otol* 75:154–159.

Deretzi G, Kountouras J, A. Polyzos S, Zavos C, Giartza-Taxidou E, Gavalas E, Tsiptsios I. 2011. Gastrointestinal Immune System and Brain Dialogue Implicated in Neuroinflammatory and Neurodegenerative Diseases. *Curr Mol Med* 11:696–707.

Deutsche Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie e.V. Bonn 2016. AWMF Leitlinie "Riech- und Schmeckstörungen" [Aktualisiert am: 31.10.2016, Aufruf

---

am: 10.04.2017] URL: <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/017-050.html>

Dreyer WJ, Bennett JC. 1965. The molecular basis of antibody formation: a paradox. *Proc Natl Acad Sci U S A* 54:864–869.

Effertz T. 2016. Kosten des Rauchens in Deutschland. *Public Health Forum* 24:80–83.

Filippi C, Herrath M von. 2005. How viral infections affect the autoimmune process leading to type 1 diabetes. *Cell Immunol* 233:125–132.

Förster G, Damm M, Gudziol H, Hummel T, Hüttenbrink K-B, Just T, Muttray A, Seeber H, Temmel A, Welge-Lüssen A. 2004b. Riechstörungen: Epidemiologie, pathophysiologische Klassifikation, Diagnose und Therapie. *HNO* 52:.

Frasnelli J, Landis BN, Heilmann S, Hauswald B, Hüttenbrink KB, Lacroix JS, Leopold DA, Hummel T. 2004. Clinical presentation of qualitative olfactory dysfunction. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol Head Neck* 261:411–415.

Gressner AM, Arndt T. 2013. *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. Springer Verlag Berlin Heidelberg. S. 1451

Gundín S, Irure-Ventura J, Asensio E, Ramos D, Mahler M, Martínez-Taboada V, López-Hoyos M. 2016. Measurement of anti-DFS70 antibodies in patients with ANA-associated autoimmune rheumatic diseases suspicion is cost-effective. *Auto-Immun Highlights* 7:10.

Halama N, Zoernig I, Jäger D. 2008. Immuntherapie von Tumoren – Moderne immunologische Strategien in der Onkologie. *DMW - Dtsch Med Wochenschr* 133:2105–2108.

Heinzer H, Huland E, Huland H. 2002. Regionale Immuntherapie beim metastasierten Nierenzellkarzinom. *Urol* 41:239–248.

Hummel T, Nordin S. 2004. Olfactory disorders and their consequences for quality of life. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 116–121.

Hummel T, Rissom K, Reden J, Hähner A, Weidenbecher M, Hüttenbrink K-B. 2009a. Effects of olfactory training in patients with olfactory loss. *The Laryngoscope* 119:496–499.

Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G. 1997. “Sniffin” Sticks’: Olfactory Performance Assessed by the Combined Testing of Odor Identification, Odor Discrimination and Olfactory Threshold. *Chem Senses* 22:39–52.

Hummel T, Welge-Lüssen A, Czesnik Deditors. 2009b. Riech- und Schmeckstörungen: Physiologie, Pathophysiologie und therapeutische Ansätze; 14 Tabellen. Stuttgart: Thieme. S. 162

Jafek BW, Murrow B, Michaels R, Restrepo D, Linschoten M. 2002b. Biopsies of human olfactory epithelium. *Chem Senses* 27:623–628.

- 
- Kapadia M, Stanojcic M, Earls AM, Pulapaka S, Lee J, Sakic B. 2012b. Altered olfactory function in the MRL model of CNS lupus. *Behav Brain Res* 234:303–311.
- Katzav A, Ben-Ziv T, Blank M, Pick CG, Shoenfeld Y, Chapman J. 2014. Antibody-specific behavioral effects: Intracerebroventricular injection of antiphospholipid antibodies induces hyperactive behavior while anti-ribosomal-P antibodies induces depression and smell deficits in mice. *J Neuroimmunol* 272:10–15.
- Khezri S, Javan M, Goudarzvand M, Semnianian S, Baharvand H. 2013. Dibutylryl Cyclic AMP Inhibits the Progression of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and Potentiates Recruitment of Endogenous Neural Stem Cells. *J Mol Neurosci* 51:298–306.
- Kivity S, Tsarfaty G, Agmon-Levin N, Blank M, Manor D, Konen E, Chapman J, Reichlin M, Wasson C, Shoenfeld Y, Kushnir T. 2010. Abnormal olfactory function demonstrated by manganese-enhanced MRI in mice with experimental neuropsychiatric lupus. *Ann N Y Acad Sci* 1193:70–77.
- Kleine-Trebbe J, Bufe A, Ebner C, Eigenmann P. 2009. Die spezifische Immuntherapie (Hyposensibilisierung) bei IgE-vermittelten allergischen Erkrankungen, Leitlinie
- Kobal G, Klimek L, Wolfensberger M, Gudziol H, Temmel A, Owen CM, Seeber H, Pauli E, Hummel T. 2000. 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 Off J Eur Fed Oto-Rhino-Laryngol Soc EUFOS Affil Ger Soc Oto-Rhino-Laryngol - Head Neck Surg* 257:205–211.
- Köhler GJF, Milstein C. 1975. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256:495–497.
- Konstantinidis I, Haehner A, Frasnelli J, Reden J, Quante G, Damm M, Hummel T. 2006b. Post-infectious olfactory dysfunction exhibits a seasonal pattern. *Rhinology* 44:135–139.
- Kromer J, Hummel T, Pietrowski D, Giani AS, Sauter J, Ehninger G, Schmidt AH, Croy I. 2016. Influence of HLA on human partnership and sexual satisfaction. *Sci Rep* 6:.
- Landis BN, Giger R, Ricchetti A, Leuchter I, Hugentobler M, Hummel T, Lacroix J-S. 2003. Retronasal olfactory function in nasal polyposis - Landis - 2003 - *The Laryngoscope* - Wiley Online Library. *The Laryngoscope* 1993–1997.
- Leon-Sarmiento FE, Bayona EA, Bayona-Prieto J, Osman A, Doty RL. 2012. Profound Olfactory Dysfunction in Myasthenia Gravis. *PLoS ONE* 7:.
- Leopold DA, Loehrl TA, Schwob JE. 2002. Long-term Follow-up of Surgically Treated Phantosmia. *Arch Otolaryngol Neck Surg* 128:642–647.
- Lucas AH. 2003b. Immunoglobulin Gene Construction: Human. In: John Wiley & Sons, Ltd, editor. *eLS*, Chichester: John Wiley & Sons, Ltd,. [aktualisiert am: 28.05.2003, Aufruf:
-

---

04.05.2017] URL: <http://doi.wiley.com/10.1038/npg.els.0001172>

Macfarlane A. 1975. Olfaction in the development of social preferences in the human neonate. *Ciba Found Symp* 103–117.

Mallon EB, Brockmann A, Schmid-Hempel P. 2003b. Immune response inhibits associative learning in insects. *Proc Biol Sci* 270:2471–2473.

Manoussakis MN, Tzioufas AG, Silis MP, Pange PJ, Goudevenos J, Moutsopoulos HM. 1987. High prevalence of anti-cardiolipin and other autoantibodies in a healthy elderly population. *Clin Exp Immunol* 69:557.

Mariz HA, Sato EI, Barbosa SH, Rodrigues SH, Dellavance A, Andrade LEC. 2010. Pattern on the antinuclear antibody–HEp-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody–positive healthy individuals and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheumatol* 63:191–200.

Meric A, Dogan R, Veyseller B, Su O, Ozucer B, Tugrul S, Ozturan O. 2014. Evaluation of olfaction in patients with pemphigus vulgaris. *Am J Rhinol Allergy* 28:.

Moscavitch S-D, Szyper-Kravitz M, Shoenfeld Y. 2009b. Autoimmune pathology accounts for common manifestations in a wide range of neuro-psychiatric disorders: the olfactory and immune system interrelationship. *Clin Immunol Orlando Fla* 130:235–243.

Murphy KM, Travers P, Walport M. 2009. *Janeway Immunologie*. Springer Verlag Berlin Heidelberg. S. 1093

Negoias S, Hummel T, Symmank A, Schellong J, Joraschky P, Croy I. 2016. Olfactory bulb volume predicts therapeutic outcome in major depression disorder. *Brain Imaging Behav* 10:367–372.

Ortega-Hernandez O-D, Kivity S, Shoenfeld Y. 2009b. Olfaction, psychiatric disorders and autoimmunity: is there a common genetic association? *Autoimmunity* 42:80–88.

Perricone C, Shoenfeld N, Agmon-Levin N, Carolis C de, Perricone R, Shoenfeld Y. 2013. Smell and autoimmunity: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol* 45:87–96.

Pisetsky DS, Jelinek DF, McAnally LM, Reich CF, Lipsky PE. 1990. In vitro autoantibody production by normal adult and cord blood B cells. *J Clin Invest* 85:899.

Rattazzi L, Cariboni A, Poojara R, Shoenfeld Y, D'Acquisto F. 2015. Impaired sense of smell and altered olfactory system in RAG-1<sup>-/-</sup> immunodeficient mice. *Front Neurosci* 9:.

Reden J, Mueller A, Mueller C, Konstantinidis I, Frasnelli J, Landis BN, Hummel T. 2006. Recovery of Olfactory Function Following Closed Head Injury or Infections of the Upper Respiratory Tract. *Arch Otolaryngol Neck Surg* 132:265–269.

Reinboth C. 2007. Weblog der Statistikberatung Reinboth [aktualisiert am: 01.09.2007 Aufruf am: 03.01.2017] URL: <http://statistikberatung.blogspot.de/2007/09/im-gesprch-mit-einem->

---

kollegen-kam.html

Rowe P, Heinisch C. 2012. Statistik für Mediziner und Pharmazeuten. Weinheim: EBL-Schweitzer. S. 307

Rui K, Zhang Z, Tian J, Lin X, Wang X, Ma J, Tang X, Xu H, Lu L, Wang S. 2016. Olfactory ecto-mesenchymal stem cells possess immunoregulatory function and suppress autoimmune arthritis. *Cell Mol Immunol* 13:401–408.

Schäfer T, Bauer C, Beyer K, Bufe A, Friedrichs F. 2014. S3-Leitlinie Allergieprävention, Leitlinie [aktualisiert am: 31.07.2014, Aufruf am: 20.04.2017] URL: <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/061-016.html>

Schneider H, Malek A, Sager R. 1997. Transfer von Immunglobulinen durch die menschliche Plazenta. 37–39.

Seiden A, Duncan H. 2001. The diagnosis of a conductive olfactory loss. *Laryngoscope* 9–14.

Seubert J, Laukka EJ, Rizzuto D, Hummel T, Fratiglioni L, Bäckman L, Larsson M. 2017. Prevalence and Correlates of Olfactory Dysfunction in Old Age: A Population-Based Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*.

Shoenfeld N, Agmon-Levin N, Flitman-Katzevman I, Paran D, Katz B-SP, Kivity S, Langevitz P, Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y. 2009. The sense of smell in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Amp Rheumatol* 60:1484–1487.

Shoenfeld Y. 2007. To smell autoimmunity: Anti-P-ribosomal autoantibodies, depression, and the olfactory system. *J Autoimmun* 28:165–169.

Stenner M, Vent J, Hüttenbrink K-B, Hummel T, Damm M. 2008. Topical Therapy in Anosmia: Relevance of Steroid-Responsiveness. *The Laryngoscope* 118:1681–1686.

Stöcker PD med. W, Schlumberger DW, Aleksandrowicz S, Blankenburg A. 2016. Such- und Differenzierungstests für Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA) [aktualisiert am:17.06.2016, Aufruf am: 25.03.2017] URL: <https://www.euroimmun.de/produkte/indikationen/autoantikrper-diagnostik/rheumatologie/kollagenosen/aak-gegen-zellkerne-ana.html>

Strous RD, Shoenfeld Y. 2006b. To smell the immune system: olfaction, autoimmunity and brain involvement. *Autoimmun Rev* 6:54–60.

Stuck BA, Bachert C, Federspil P, Hörmann K, Hosemann W. 2017. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie Rhinosinusitis [aktualisiert am: 07.04.2017 Aufruf am: 20.04.2017 ] URL: <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/017-049.html>

Stuck BA, Blum A, Hagner AE, Hummel T, Klimek L, Hörmann K. 2003. Mometasone furoate nasal spray improves olfactory performance in seasonal allergic rhinitis. *Allergy - Eur J*

---

Allergy Clin Immunol 1195.

Sugiura M, Aiba T, Mori J, Nakai Y. 1998. An epidemiological study of postviral olfactory disorder. *Acta Otolaryngol Suppl*. PMID: 9879419

Teubner A, Tillmann HL, Schuppan D, Gericke G, Manns MP, Stölzel U. 2002. Prävalenz von zirkulierenden Autoantikörpern bei gesunden Individuen. *Med Klin* 97:645–649.

Tian J, Rui K, Tang X, Wang W, Ma J, Tian X, Wang Y, Xu H, Lu L, Wang S. 2016. IL-17 down-regulates the immunosuppressive capacity of olfactory ecto-mesenchymal stem cells in murine collagen-induced arthritis. *Oncotarget* 7:42953.

Ungeheuer E, Heinrich D, Opferkuch W. 1985. Immunglobulin M - physiologische Mechanismen und Wirkungsweise. Bakterien, Endotoxin, Sepsis - Immunglobulin M, Springer Verlag, S. 54–59

Vangone A, Abdel-Azeim S, Caputo I, Sblattero D, Niro RD, Cavallo L, Oliva R. 2014. Structural Basis for the Recognition in an Idiotype-Anti-Idiotype Antibody Complex Related to Celiac Disease. *PLoS ONE* 9:.

Vennemann MM, Hummel T, Berger K. 2008. The association between smoking and smell and taste impairment in the general population. *J Neurol* 255:1121–1126.

Watts RA, Isenberg DA. 1990. Autoantibodies and antibacterial antibodies: from both sides now. *Ann Rheum Dis* 49:961.

Wiliem A, Hobson P, Minchin RF, Lovell BC. 2015. A bag of cells approach for antinuclear antibodies HEp-2 image classification. *Cytometry A* 87:549–557.

Winternitz J, Abbate JL, Huchard E, Havlíček J, Garamszegi LZ. 2017. Patterns of MHC-dependent mate selection in humans and nonhuman primates: a meta-analysis. *Mol Ecol* 26:668–688.

Yousem DM, Geckle RJ, Bilker W, McKeown DA, Doty RL. 1996. MR evaluation of patients with congenital hyposmia or anosmia. *Am J Roentgenol* 439–443.

---

### 9.3 Abbildungsverzeichnis

Alle Abbildungen sind eigens für diese Dissertationsschrift erstellt worden mithilfe von Microsoft Excel 2010, Microsoft Word 2010, Microsoft Paint 6.1 und Inkscape 0.92.1.

**Abbildung 1:** Die Abbildung zeigt die Häufigkeiten, mit der Riechstörungen unterschiedlicher Genese im deutschsprachigen Raum auftreten. 72 % der Erkrankungen sind sinunasaler, 28 % nicht-sinunasaler Genese. 12

**Abbildung 2:** Die Abbildung zeigt ein vereinfachtes Schema eines Antikörpermoleküls. Es besteht aus zwei schweren Ketten (lange Schenkel) und zwei leichten Ketten (kurze Schenkel), die dünnen Verbindungslinien deuten Disulfidbrücken an. Die konstante Region ist schwarz dargestellt, die variable Region in grau. 24

**Abbildung 3:** Die Abbildung zeigt ein Protokoll des Schwellentests. In der linken Spalte sind die Zahlen von 1 (höchste Konzentration an PEA) bis 16 (niedrigste Konzentration an PEA) aufgetragen. Die Pfeile in der obersten Zeile geben die Richtung an, ob die Konzentration gesteigert (▲) oder verringert (▼) wird. Die roten Markierungen stellen diejenigen Wendepunkte dar, die in die Auswertung eingehen, aus deren Durchschnittswert wird das Ergebnis ermittelt. Der Proband aus diesem fiktiven Beispiel erzielt einen Wert von 6,5 Punkten. 34

**Abbildung 4:** Dargestellt sind die unterschiedlichen Ursachen der Riechstörungen beider Patientengruppen. Gruppe 1 mit Patienten postviraler Riechstörung umfasst 52 Patienten. Die 56 Patienten der Gruppe 2 zeigen unterschiedliche Ursachen für ihre Riechstörung, darunter sinusal, posttraumatisch und idiopathisch. 41

**Abbildung 5:** Im Boxplot sind die Ergebnisse für den SDI-Test insgesamt sowie für die Teilwerte von Schwellentest, Diskriminierung und Identifikation dargestellt; jeweils im Vergleich für die Patientengruppen 1 und 2. Die Boxen geben das erste Quartil (25 %), den Median und das dritte Quartil (75 %) der Verteilungen an. Die Whisker zeigen die Extreme der Verteilung nach oben und nach unten. 43

## 9.4 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Hier dargestellt sind die Ein- und Ausschlusskriterien laut Studienprotokoll.	31
<b>Tabelle 2:</b> Dargestellt ist die Einteilung der SDI-Werte für Normosmie, Hyposmie und Anosmie in Abhängigkeit vom Patientenalter.	35
<b>Tabelle 3:</b> Die Tabelle führt alle bei Patienten im Rahmen der Studie gefundenen Autoantikörper auf. Abzulesen sind die Häufigkeiten der positiven Befunde in beiden Patientengruppen. Der Befund + zeigt einen Titer von 1:100 an, bei ++ liegt der Titer bei 1:320.	46