Morphometrische Analysen cerebraler Strukturen bei Menschen mit Limbischer Enzephalitis im klinischen Kontext

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Antonia Louise Harms

aus Hamburg

2024

Angefertigt mit der Genehmigung

der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

- 1. Gutachter: PD Dr. med. Theodor Rüber
- 2. Gutachter: Prof. Dr. Benjamin Odermatt

Tag der Mündlichen Prüfung: 23.09.2024

Aus der Klinik und Poliklinik für Epileptologie Direktor: Prof. Dr. med. Rainer Surges, MHBA

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	4
1.	Deutsche Zusammenfassung	5
1.1	Einleitung	5
1.2	Material und Methoden	8
1.3	Ergebnisse	13
1.4	Diskussion	19
1.5	Zusammenfassung	23
1.6	Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung	24
2.	Veröffentlichung	29
	Abstract	29
	Introduction	30
	Materials and Methods	30
	Results	34
	Discussion	35
	References	41
	Online Supplement eTable 1	42
	Online Supplement eTable 2	44
3.	Danksagung	46

Abkürzungsverzeichnis

AIC	Akaike-Information-Criterion						
CASPR2	Contactin-assoziiertes Protein 2						
CASPR2-LE	Limbische Enzephalitis mit nachgewiesenen CASPR2- Antikörpern						
EEG	Elektroenzephalografie						
FDG-PET	Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography						
FDR	False Discovery Rate						
GAD	Glutamat-Decarboxylase 65						
GAD-LE	Limbische Enzephalitis mit nachgewiesenen GAD-Antikörpern						
HEK293-Zellen	Human Embryonic Kidney 293 Zellen						
IIFT	Indirekter Immunfluoreszenztest						
LE	Limbische Enzephalitis						
LGI1	Leucine-Rich Glioma-Inactivated 1						
LGI1-LE	Limbische Enzephalitis mit nachgewiesenen LGI1-Antikörpern						
LLR	Likelihood-Ratio-Tests						
MRT	Magnetresonanztomografie						
NMDAR	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor						
NMDAR-LE	Limbische Enzephalitis mit nachgewiesenen NMDAR- Antikörpern						
VGKC	Volted-gated Potassium Channels						

1. Deutsche Zusammenfassung

1.1 Einleitung

Autoimmunenzephalitiden sind eine heterogene Gruppe von Erkrankungen, bei denen Menschen Antikörper gegen Antigene verschiedener neuronaler Strukturen im zentralen Nervensystem entwickeln (Dalmau und Graus, 2018; Graus et al., 2016). Eine Form der antikörpervermittelten Enzephalitis ist die limbische Enzephalitis (LE) (Tüzün und Dalmau, 2007). Dieses klinische Syndrom zeigt sich durch subakutes Auftreten von Störungen des episodischen Gedächtnisses, epileptischen Anfällen temporaler Semiologie und allgemeinen Affektstörungen (Bien, 2022; Bien und Elger, 2007; Graus et al., 2016). Für die Diagnosestellung werden zusätzlich das Vorliegen bilateraler Veränderungen im Temporallappen in der Magnetresonanztomografie (MRT) sowie der Nachweis einer Liquorpleozytose oder den Temporallappen einbeziehende Auffälligkeiten in der Elektroenzephalografie (EEG) herangezogen. Der Nachweis von spezifischen Antikörpern ist für die Diagnosestellung zwar nicht obligat, sichert diese aber insbesondere bei fehlender Liquorpleozytose, MRT- oder EEG-Veränderungen (Bien, 2022; Graus et al., 2016).

Neben onkoneuralen konnten zahlreiche nicht-tumorassozierte Antikörper im Zusammenhang mit LE identifiziert werden (Dubey et al., 2018; Graus et al., 2021). In dieser Arbeit geht es um letztere, hierbei insbesondere um die häufig mit LE assoziierten Antikörper gegen die Glutamat-Decarboxylase 65 (GAD), das Protein Leucine-Rich Glioma-Inactivated 1 (LGI1), das Contactin-assoziierte Protein 2 (CASPR2) und den N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor (NMDAR). Die Proteine LGI1 und CASPR2 sind Bestandteile spannungsabhängiger Kaliumkanäle (Volted-gated Potassium Channels, VGKC) (Binks et al., 2018) und wurden in früheren Studien zusammengefasst (Bien und Elger, 2007; Ernst et al., 2019; Malter et al., 2014).

Das Ansprechen auf Therapie, der Verlauf sowie die Prognose der Erkrankung variieren je nach zugrundeliegendem Antikörper (Binks et al., 2018; Irani et al., 2013; Malter et al., 2010). So wird beispielsweise bei LE im Zusammenhang mit LGI1-Antikörpern ein eher monophasischer Krankheitsverlauf und gutes Ansprechen auf Therapie mit Immunsuppressiva beschrieben (Andrade et al., 2011; Barajas et al., 2010; Irani et al.,

2013; Irani und Vincent, 2011; Quek, 2012; Vincent et al., 2004). Bei LE mit GAD-Antikörpern hingegen zeigt die Immuntherapie eine weniger erfolgreiche Wirkung (Malter et al., 2010). Die klinische Relevanz einer Differenzierung der serologischen Gruppen liegt also auf der Hand.

Aktuell ist es Gegenstand der Forschung, diese Differenzierung auch in der Bildgebung nachvollziehen zu können in der Hoffnung, zusätzliche Biomarker für die Erstdiagnose und Verlaufsbeobachtung bei LE zu finden und weitere Erkenntnisse über die Pathophysiologie des Syndroms zu erlangen (Bauer et al., 2020b, 2020a; Baumgartner et al., 2013; Ernst et al., 2019; Fredriksen et al., 2018; Harms et al., 2022; Heine et al., 2015; Navarro et al., 2016; Urbach et al., 2015; Wagner et al., 2015a, 2016).

So konnten beispielsweise Baumgartner et al. (2013) einen Hypermetabolismus in der Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography (FDG-PET) im Temporallappen bei Menschen mit Antikörpern gegen intrazelluläre Antigene, unter anderem gegen GAD, finden, während dies bei Menschen mit Antikörpern gegen Oberflächenantigene, unter anderem gegen NMDAR, nicht der Fall war. Wagner et al. (2015) und Ernst et al. (2019) konnten mithilfe volumetrischer Bildgebungsanalysen Unterschiede zwischen den Serogruppen im Volumen der Amygdala und hippocampaler Subfelder aufdecken.

Heine et al. (2015) fanden spezifische Formveränderungen des Hippocampus bei Menschen mit LGI1-LE. Wir konnten ebenfalls eine veränderte Form-Asymmetrie des Hippocampus bei Menschen mit LGI1-LE zeigen, was sich bei anderen Serogruppen nicht nachweisen ließ (Harms et al., 2022).

Es gibt Studien zu LE, die eine gewisse Dynamik der Erkrankung zeigen. So teilten Wagner et al. (2015) MRT-Aufnahmen von Menschen mit LE einem akuten und einem chronischen Stadium zu. Das akute Stadium umfasste zwei Jahre nach Auftreten erster Symptome, das chronische Stadium wurde als der Zeitraum danach definiert. Hieraus resultierte, dass bei Menschen mit Antikörpern gegen VGKC die Amygdala zu Beginn der Krankheit anschwillt und im Verlaufe der Zeit wieder an Volumen zu verlieren scheint. Diese Erkenntnis konnte durch Ernst et al. (2019) bekräftigt werden. Bezüglich der Dynamik des Hippocampusvolumens wurde in mehreren Arbeiten eine Atrophie oder

Sklerose im Voranschreiten der Erkrankung beschrieben (Bien, 2022; Finke et al., 2016; Heine et al., 2015; Malter et al., 2014).

Das Syndrom LE scheint allerdings cerebrale Veränderungen über den Temporallappen hinaus zu verursachen. So konnten Navarro et al. (2016) einen Hypermetabolismus des motorischen Kortex in der FDG-PET bei Menschen mit LGI1-Antikörpern nachweisen. Darüber hinaus berichteten Wagner et al. (2016) über weitreichende Änderungen der weißen Substanz in der Diffusions-Tensor-Bildgebung bei Menschen mit GAD-Antikörpern. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam Bauer et al. (2020b) mittels Fixel-basierter Analyse. Ferner beschreiben Bauer et al. (2020a) bei Menschen mit GAD-Antikörpern eine weitreichendere Reduktion der globalen Effizienz des cerebralen Netzwerkes bei Menschen mit GAD-Antikörpern als bei Menschen mit LGI1- oder CASPR2-Antikörpern.

Ein einschränkender Aspekt vieler der oben genannten Studien ist, dass es sich um querschnittliche Untersuchungen oder, wenn longitudinal, um Messungen zu sehr variablen Zeitpunkten während des Krankheitsverlaufs handelt (Ernst et al., 2019; Frisch et al., 2013; Malter et al., 2016; Wagner et al., 2015a, 2016). Es fehlt also eine den Krankheitsverlauf in den verschiedenen Stadien darstellende Übersicht, um die Dynamik der Erkrankung noch besser verstehen zu können. Mit der vorliegenden Arbeit soll diese Lücke geschlossen werden, unter der Anwendung von linearen gemischten Modellen, welche sich bereits bei der Modellierung voranschreitender neurodegenerativer Prozesse bei Epilepsie als erkenntnisbringend erwiesen haben (Bernhardt et al., 2009; Galovic et al., 2019). Lineare gemischte Modelle finden Anwendung in der Analyse von mehreren Messungen über die Zeit pro Individuum einer Studienkohorte, wobei hervorzuheben ist, dass die Anzahl der Messzeitpunkte und der Abstand zwischen zwei Messungen variabel sein können. Die Methode eignet sich also unter anderem besonders gut für die Analyse retrospektiver Daten mit dem Ziel, möglichst alle erhobenen Datenpunkte in ein Regressionsmodell einfließen lassen zu können und folglich eine größere Aussagekraft der Ergebnisse zu erlangen.

Fragestellung

Dieser Arbeit liegt ein großer retrospektiver Datensatz zugrunde, bestehend aus zahlreichen MRT-Bildern und klinischen Informationen von Menschen mit LE, anhand dessen folgende Fragen beantwortet werden sollen:

1a. Kann die in der Literatur bereits beschriebene initiale Entzündung und anschließende mesiotemporale Sklerose bei Menschen mit LE an dem vorliegenden Datensatz reproduziert und somit bestätigt werden?

1b. Wenn ja, unterscheiden sich die Verläufe je nach zugrundeliegendem Antikörper bzw. je nach Krankheitslast?

2a. Gibt es einen Unterschied zwischen krankheitsspezifischer neokortikaler Degeneration und normaler Alterung bei Menschen mit LE?

2b. Wenn ja, unterscheiden sich diese Atrophiemuster je nach zugrundeliegendem Antikörper bzw. je nach Krankheitslast?

1.2 Material und Methoden

Es wurden klinische Daten und MRT-Bilder von Menschen mit LE erhoben, die zwischen 2005 und 2019 in der Klinik und Poliklinik für Epileptologie des Universitätsklinikums Bonn behandelt wurden, volljährig waren und die diagnostischen Kriterien nach Graus (Graus et al., 2016) erfüllten. Menschen mit LE und paraneoplastischen Antikörpern oder ohne Antikörpernachweis wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Klinische Informationen wie Art der immunmodulatorischen Behandlung und die Anzahl der anfallssupprimierenden Medikamente wurden den Arztbriefen entnommen. Die kognitive Leistungsfähigkeit von Menschen mit LE wurde aus der Datenbank der Klinischen Neuropsychologie der Epileptologie Bonn ausgelesen.

Insgesamt wurden 257 MRT-Bilder mit zugehörigen klinischen Daten von 59 Menschen mit LE analysiert. Hiervon konnten bei 30 Menschen Antikörper gegen GAD (22 weiblich, mittleres Alter 29,9 Jahre, insgesamt 129 MRT-Bilder), bei 15 Menschen Antikörper gegen

LGI1 (6 weiblich, mittleres Alter 63,4 Jahre, insgesamt 55 MRT-Bilder), bei 9 Menschen Antikörper gegen CASPR2 (eine weiblich, mittleres Alter 57,3 Jahre, insgesamt 37 MRT-Bilder) und bei fünf Menschen Antikörper gegen NMDAR (alle weiblich, mittleres Alter 34,8 Jahre, insgesamt 30 MRT-Bilder) nachgewiesen werden.

Da in einigen Studien pathologische Änderungen bei LE insbesondere in der primär betroffenen Hemisphäre identifiziert werden konnten (Bauer et al., 2020a; Ernst et al., 2019), erfolgte in dieser Arbeit eine Einteilung nach Betroffenheit. Es wurde eine Hemisphäre als "betroffen" definiert, wenn die dokumentierten interiktalen EEGs auf eine Lateralisierung in diese Hemisphäre hinwiesen. Da es weiterhin Gegenstand der Debatte um LE ist, ob das Syndrom uni- oder bilateral ist, nicht zu jedem Scan-Zeitpunkt ein EEG vorlag und nicht bei allen Menschen in unserer Studienkohorte eine klare Lateralisierung festgestellt werden konnte, wurde die andere Seite nicht als unbetroffen betitelt, sondern als "kontralateral" definiert.

Als Kontrollkohorte wurden MRT-Aufnahmen von 41 gesunden Proband*innen aus der Datenbank des Life & Brain Centers genutzt (22 weiblich, mittleres Alter 37,7 Jahre, insgesamt 128 MRT-Bilder). Einschlusskriterien waren Volljährigkeit und die Existenz von mindestens zwei unterschiedlichen Scan-Zeitpunkten pro Proband*in (Median der Zeitpunkte = 3, Maximum = 8).

Testungen von Liquor und Serum auf Antikörper wurden im Institut für Neuropathologie am Universitätsklinikum Bonn durchgeführt. Vor 2014 wurde die Testung auf GAD-Antikörper mittels anti-125 I-GAD Radio-Immunoprezipitationstest durchgeführt (normale Werte ≤1 U/mL; Weatherall Institute, Oxford, UK, oder Euroimmun, Lübeck, Germany). Antikörper gegen LGI1 und CASPR2 wurden unter Verwendung von in Formalin fixierten Human Embryonic Kidney 293 Zellen (HEK293-Zellen) mit Expression von LGI1 und CASPR2 auf der Zelloberfläche mittels indirekter Immunfluoreszenz nachgewiesen. Antiköpertestung nach 2014 wurde mit semiquantitativen Immunoblots (EUROLINE PNS 12; Euroimmun, DL 1111–1601-7 G) durchgeführt, welche mit rekombinanten Antigenen oder Antigenfragmenten beschichtet waren (Verdünnung Serum 1:100, Liquor 1:1). Es wurden außerdem weiterhin HEK293-Zellen mit Expression von Antigenen auf der Zelloberfläche verwendet. Hiermit konnte auf Antikörper gegen NMDAR, CASPR, LGI1, GABAB, AMPAR und GAD getestet werden (Indirekter Immunfluoreszenztest, IIFT: Autoimmune-Encephalitis-Mosaik1, Euroimmun, FA 1120–1005-1; GAD65-IIFT, Euroimmun, FA 1022–1005-50, Verdünnung Serum 1:10, Liquor: 1:1).

Leistung im Verbalgedächtnis von Menschen mit LE wurde mittels des Verbalen Lernund Merkfähigkeitstest (Helmstaedter et al., 2001) und im Figuralgedächtnis mittels des Diagnosticum fuer Cerebralschaedigung (Helmstaedter et al., 1991) erhoben. Die Testresultate wurden standardisiert und alterskorrigiert anhand einer Kontrollgruppe von 488 gesunden Menschen angegeben. Testungen des Verbalgedächtnisses waren für 227 Zeitpunkte verfügbar. Für das Figuralgedächtnis gab es Testungen bei 223 Zeitpunkten. Eine Person wurde in der jeweiligen Gedächtnisleistung als "beeinträchtigt" kategorisiert, wenn sie bei mindestens der Hälfte aller Messungen zwei Standardabweichungen schlechter als das Vergleichskollektiv der gesunden Menschen im zugehörigen Test abgeschnitten hatte.

Von den in der Studie untersuchten Personen lagen T1-gewichtete strukturelle MRT-Bilder vor, welche alle an der Universitätsklinik Bonn am 3-Tesla-Scanner des Life & Brain Centers aufgenommen wurden (Magnetom Trio; Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland). Vor 2014 waren die Messparameter: Voxelgröße = $1 \times 1 \times 1$ mm³, Repetitionszeit = 1.570 ms, Echozeit = 3,42 ms, Anregungswinkel = 15°, Matrix = 256 × 256 Pixel. Aufgrund eines Scanner-Updates Anfang 2014 veränderten sich die mm³. Parameter danach leicht: Voxelgröße = 0,8 × 0.8 × 0,8 Repetitionszeit = 1.660 ms, Echozeit = 2,54 ms, Anregungswinkel = 9°, Matrix = 320 × 320 Pixel. Die Messungen erfolgten vor dem Update mittels 8-Kanal-Kopfspule, danach mittels 32-Kanal-Kopfspule.

Für die volumetrische Segmentierung subkortikaler Strukturen und die Rekonstruktion der Oberfläche der weißen und grauen Substanz wurde die Software *FreeSurfer*, Version 6.0 (Reuter et al., 2012), genutzt. Es wurde das im Softwarepaket enthaltenen Schema für Längsschnittverarbeitung (Reuter und Fischl, 2011) angewendet, da hierbei pro Person mit Messungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten ein Template erstellt wird. Dies erhöht die Genauigkeit der automatischen Oberflächenrekonstruktion und volumetrischen Segmentierung im Vergleich zum herkömmlichen Schema.

Alle Registrierungen, Segmentierungen und Oberflächenrekonstruktionen wurden einer visuellen Qualitätskontrolle unterzogen.

Alle Volumina wurden im Verhältnis zum Gesamtgehirnvolumen betrachtet. Es wurden die Strukturen zum einen der "betroffenen" und zum anderen der "kontralateralen" Hemisphäre mit den gesunden Kontrollen verglichen. Hierfür wurden die rechten und linken Volumina von Amygdala bzw. Hippocampus der gesunden Kontrollen zusammengefasst, um so die Vergleichsgruppe zu vergrößern. Für die Berücksichtigung der Rechts-Links-Asymmetrie von cerebralen Strukturen (Kong et al., 2020) wurde ein Faktor ermittelt, um wie viel bei gesunden Menschen die rechte Seite von der linken im Volumen abweicht. Dieser Faktor wurde dann auf die Volumina aller linken Strukturen angewandt.

Die Verarbeitungsschritte sind in Abbildung 1 dargestellt.

Die Dicke des Kortex wurde als Abstand zwischen der Oberfläche der weißen Substanz und der Oberfläche der grauen Substanz berechnet. Es wurde eine automatische Parzellierung des Kortex in 68 neuroanatomische Regionen vorgenommen (Fischl, 2004), unter Verwendung des Desikan-Killiany-Atlasses (Desikan et al., 2006). Bei dieser Analyse wurde der Kortex in nativer Links/Rechts-Einteilung betrachtet und nicht nach betroffen/kontralateral reorientiert.

Zur statistischen Auswertung der Daten wurden die Python-Module *statsmodels* (Seabold und Perktold, 2010) Version 0.13.0 und *scikit-post-hocs* (Terpilowski, 2019) Version 0.6.4 genutzt.

Für die Untersuchung des Volumens von Amygdala und Hippocampus und der Dicke des Kortex bei dem Vergleich von Menschen mit LE und gesunden Menschen im Verlauf der Zeit, wurde ein lineares gemischtes Modell verwendet.

Im Modell für die Volumenvergleiche wurden als feste Effekte das Geschlecht, die MRT-Sequenz (vor oder nach 2014), das Alter der Studienteilnehmenden zum Zeitpunkt Null, die Zeit seit dem Zeitpunkt Null, ein kategorialer Gruppenterm und, um Unterschiede in den longitudinalen Volumenänderungen zwischen den Gruppen zu untersuchen und ein Interaktionsterm der Gruppe mit der Zeit seit Zeitpunkt Null einbezogen. Zeitpunkt Null



Abb. 1: Analyse des Volumens subkortikaler Strukturen und der kortikalen Dicke

(A) Nach der Segmentierung von T1-gewichteten Bildern wurden gesunde Amygdalaund Hippocampusvolumina auf Links/Rechts-Asymmetrie untersucht. Anschließend wurde ein Links/Rechts-Asymmetrie-Faktor der gesunden Strukturen auf alle linken Amygdala- und Hippocampusvolumina angewendet. Die Volumina der linken und rechten Amygdala und des Hippocampus von Personen mit Antikörpern wurden nach EEG-Lateralisierung in betroffene und kontralaterale Strukturen unterteilt und mit den entsprechenden zusammengefassten subkortikalen Strukturen gesunder Kontrollen verglichen. (B) Die kortikale Dicke wurde als kleinster Abstand zwischen der Grenze der grauen zur weißen Substanz und der Hirnoberfläche berechnet. Die Parzellierung des Kortex erfolgte anhand des Desikan-Killiany-Atlasses und resultierte in 68 anatomischen Regionen für beide Hemisphären. Die kortikale Dicke von Menschen mit Antikörpern wurde für jede Region mit der kortikalen Dicke gesunder Kontrollen verglichen.

Modifiziert nach Harms et al., 2023; siehe Seite 32.

wurde für Menschen mit Antikörpern als Zeitpunkt des Krankheitsbeginns und für gesunde Menschen als der Zeitpunkt der ersten MRT-Aufnahme definiert. Es wurden drei Modelle für die Volumenvergleiche analysiert: Erstens ein Modell mit einer Gruppeneinteilung der Studienteilnehmer nach zugrundeliegendem Antikörper (GAD, LGI1, CASPR2, NMDAR und gesund), zweitens mit der Einteilung nach Verbalgedächtnisleistung (beeinträchtigt, unbeeinträchtigt, gesund) und drittens nach Figuralgedächtnisleistung (beeinträchtigt, unbeeinträchtigt, gesund).

Für die Analyse der kortikalen Dicke wurden für jede der 68 anatomischen Regionen gemischte Modelle mit denselben festen Effekten wie bei der Volumenanalyse berechnet. Es wurde allerdings das Gesamthirnvolumen ohne Ventrikel als zusätzlicher fester Effekt in das Modell mit aufgenommen. Aufgrund der großen Anzahl der berechneten Modelle wurde mit der Benjamini-Hochberg-Methode für multiple Vergleiche (Benjamini und Hochberg, 1995) und einer False Discovery Rate (FDR) = 0,05 korrigiert.

Die Signifikanz der einzelnen Effekte wurde mittels zweiseitigen t-Tests überprüft. In der gesamten Studie wurden p-Werte < 0,05 als signifikant erachtet.

Eine detaillierte Beschreibung der Statistik ist im Abschnitt *Statistical Analysis* in der Originalpublikation zu finden.

Alle Untersuchungen wurden auf Grundlage der revidierten Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes (1983), eines vorliegenden Ethikvotums der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Bonn (Ethikvotum Nr. 136/19) und den geltenden gesetzlichen Bestimmungen durchgeführt.

1.3 Ergebnisse

In der vorliegenden Studienkohorte waren Menschen mit LGI1- bzw. CASPR2-Antikörpern (63.4 ± 14.1 Jahre bzw. 57.3 ± 14.8 Jahre) im Mittel älter als Menschen mit GAD- bzw. NMDAR-Antikörpern (28.9 ± 11.4 Jahre bzw. 34.8 ± 19.9 Jahre).

36% der Menschen mit LE waren in mehr als der Hälfte der betrachteten Messungen im Verbalgedächtnis beeinträchtigt; 47% im Figuralgedächtnis.

Alle Personen mit Antikörpern erhielten mindestens eine Kortisonstoßtherapie. Intravenöse Immunglobuline oder Plasmapherese wurden bei 13 Personen mit GAD-LE (43 %), 7 mit LGI1-LE (46 %), 3 mit CASPR2-LE (33 %) und 3 mit NMDAR-LE (60 %) eingesetzt. Orale Immunsuppressiva wurden von 11 Personen mit GAD-LE (37 %), 4 mit LGI1-LE (27 %), 2 mit CASPR2-LE (22 %) und 1 mit NMDAR-LE (20 %) eingenommen. Die Signifikanz aller berechneten Modelle wurde mittels Likelihood-Ratio-Tests (LLR) bestätigt, wobei das Akaike-Information-Criterion (AIC) als Schätzer für Informationsverlust herangezogen wurde. Details sind dem Abschnitt *Results* der Orginalpublikation zu entnehmen.

Hinsichtlich des Amygdalavolumens konnte eine beidseitige signifikante Vergrößerung bei Krankheitsbeginn in allen Antikörpergruppen festgestellt werden (alle p < 0,048). Davon ausgenommen war lediglich die kontralaterale Amygdala in der NMDAR-Gruppe. Im Vergleich zu den gesunden Kontrollen konnte eine signifikant stärkere Volumenabnahme bei der CASPR2-Gruppe (betroffen, p < 0,001), der LGI1-Gruppe (betroffen und kontralateral, p < 0,001) und der NMDAR-Gruppe (betroffen und kontralateral, p < 0,007) beobachtet werden.

Das Hippocampusvolumen bei Krankheitsbeginn war nur bei der CASPR2-Gruppe (betroffen, p = 0,003) und GAD-Gruppe (betroffen, p = 0,014) signifikant größer als bei den Kontrollen. Hinsichtlich der Hippocampi konnte eine signifikant stärkere Volumenabnahme im Vergleich zu den Kontrollen in der betroffenen und der kontralateralen Hemisphäre aller Antikörper-Gruppen (alle p < 0,017) beobachtet werden, ausgenommen der kontralateralen Seite bei der GAD-Gruppe. Eine Übersicht der Verläufe aufgeteilt nach Serogruppen ist in Abbildung 2 zu finden.

In den beiden Modellen mit Einteilung der Studienteilnehmenden nach Gedächtnisleistung wurde eine beidseits signifikante Amygdalavergrößerung zu Krankheitsbeginn bei Menschen mit LE gefunden (p < 0,007). In Hinblick auf den Hippocampus konnte eine Vergrößerung jeweils nur auf der betroffenen Seite gezeigt werden (p < 0,021), die kontralaterale unterschied sich nicht signifikant von gesunden Menschen, ungeachtet der Gedächtnisleistung.

Bei Menschen mit LE und mit beeinträchtigtem Verbal- oder Figuralgedächtnis konnte eine beidseitige signifikante Volumenabnahme sowohl für die Amygdala als auch für den Hippocampus beschrieben werden (p < 0,002). Für Menschen mit LE, aber nichtbeeinträchtigtem Verbalgedächtnis wurde eine signifikante Volumenabnahme lediglich beim betroffenen und kontralateralen Hippocampus (beide p < 0,001) und der kontralateralen Amygdala (p = 0,012) gefunden. Darüber hinaus zeigte sich eine signifikante Volumenabnahme im Vergleich zu Kontrollen bei Menschen mit LE, aber unbeeinträchtigtem Figuralgedächtnis nur beim betroffenen Hippocampus (p = 0,002) und bei der betroffenen Amygdala (p = 0,032). Eine Übersicht der Verläufe, aufgeteilt nach Gedächtnisleistung, ist in Abbildung 3 zu finden.

Bei Menschen mit GAD-LE unterschied sich die kortikale Atrophie nach FDR-Korrektur in keiner kortikalen Region von gesunden Kontrollen. Bei Menschen mit LGI1-LE konnte eine signifikant erhöhte Atrophie im rechten entorhinalen Kortex im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen beobachtet werden. Bei Menschen mit NMDAR-LE war nur eine verringerte Atrophierate im rechten kaudalen anterioren cingulären Kortex zu finden. Bei Menschen mit CASPR2-LE zeigten sich im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen signifikant verringerte Atrophieraten im rechten kaudalen und rostralen anterioren cingulären Kortex und eine signifikant erhöhte Atrophie für zahlreiche kortikale Regionen. Abbildung 4 enthält eine grafische Darstellung der Regressionsergebnisse. Eine vollständige Liste aller Regressionsergebnisse ist in der eTable 1 im Online-Supplement der Originalpublikation zusammengefasst.

Die Gruppe der Personen mit Antikörpern und beeinträchtigter verbaler Gedächtnisleistung wies in mehreren kortikalen Regionen eine stärkere Atrophie auf als gesunde Kontrollen. Die Atrophie war im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen im Cingulum vermindert (siehe eTable 2 im Online-Supplement der vorderen Originalpublikation). Bei Personen mit LE und ungestörtem verbalen Gedächtnis gab es keine Regionen mit signifikant unterschiedlicher Atrophie im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen. Bei Personen mit LE und eingeschränkter figuraler Gedächtnisleistung war die Verringerung der kortikalen Dicke im rechten kaudalen anterioren cingulären Kortex signifikant geringer als bei gesunden Kontrollpersonen. Die nicht beeinträchtigte Gruppe zeigte eine signifikant stärkere Atrophie als gesunde Kontrollpersonen im rechten und linken entorhinalen Kortex und im rechten Temporalpol. In Abbildung 4 ist eine Visualisierung der Regressionsergebnisse zu finden. Eine vollständige Liste aller Regressionsergebnisse ist in der eTable 2 im Online-Supplement der Originalpublikation aufgeführt.



Abb. 2: Zeitliche Entwicklung der Volumina von Amygdala und Hippocampus, Einteilung nach Antikörpern

Die Ordinatenabschnitte der Geraden stellen das geschätzte Volumen zum Zeitpunkt Null (definiert als Krankheitsbeginn der Personen mit Antikörpern/erster Scan der gesunden Kontrollen) dar und die Steigungen zeigen die geschätzte Volumenänderung im Laufe der Zeit. Die Volumina wurden im Verhältnis zum Gesamthirnvolumen ohne Ventrikel angegeben. Die Volumina der/des linken rechten und Amygdala/Hippocampus von Personen mit Antikörpern wurden in betroffene und kontralaterale Strukturen unterteilt und mit den entsprechenden zusammengefassten subkortikalen Strukturen gesunder Kontrollen verglichen (fette graue Linie). Links sind die geschätzten Volumina der Gruppen im Verhältnis zu den geschätzten Volumina der zusammengefassten Strukturen gesunder Kontrollen zum Zeitpunkt Null abgebildet; rechts 120 Monate nach Zeitpunkt Null (nach 10 Jahren). CASPR2 = Contactin-Associated Protein-Like 2; GAD = Glutamat-Decarboxylase 65; LGI1 = Leucine-Rich Glioma-Inactivated 1; NMDAR = N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor.

Modifiziert nach Harms et al., 2023; siehe Seite 33.



Hippocampus



Abb. 3: Zeitliche Entwicklung der Volumina von Amygdala und Hippocampus, Einteilung nach Gedächtnisleistung

Die Volumina wurden im Verhältnis zum Gesamthirnvolumen ohne Ventrikel angegeben. Die Volumina der/des linken und rechten Amygdala/Hippocampus von Personen mit Antikörpern wurden in betroffene und kontralaterale Strukturen unterteilt und mit den entsprechenden zusammengefassten subkortikalen Strukturen gesunder Kontrollen verglichen (fette graue Linie). Auf der linken Seite sind die geschätzten Volumina im Verhältnis zum geschätzten Volumen der entsprechenden Struktur der zusammengefassten gesunden Kontrollen zum Zeitpunkt Null (definiert als Krankheitsbeginn bei Personen mit Antikörpern/erster Scan der gesunden Kontrollen) dargestellt; auf der rechten Seite 120 Monate nach Zeitpunkt Null (nach 10 Jahren).

Modifiziert nach Harms et al., 2023; siehe Seite 36.



Abb. 4: Zeitliche Entwicklung der kortikalen Dicke

Die Abbildungen zeigen die Unterschiede der zeitlichen Entwicklung der kortikalen Dicke zwischen Menschen mit Antikörpern und gesunden Kontrollen. Es sind die Regionen mit einem Pfeil gekennzeichnet, in denen die kortikale Atrophierate bei Menschen mit Antikörpern im Vergleich zu gesunden Kontrollen signifikant (p < 0,05) erhöht ist. Personen mit Antikörpern wurden nach Serologie (A), verbaler Gedächtnisleistung (B) und figuraler Gedächtnisleistung (C) kategorisiert und mit gesunden Kontrollen verglichen. Rot: geringere kortikale Atrophierate bei Personen mit Antikörpern im Vergleich zu gesunden Kontrollen; blau: höhere kortikale Atrophierate bei Personen mit Antikörpern im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen. CASPR2 = Contactin-Associated Protein-Like 2; GAD = Glutamat-Decarboxylase 65; LGI1 = Leucine-Rich Glioma-Inactivated 1; NMDAR = N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor.

Modifiziert nach Harms et al., 2023; siehe Seite 37.

1.4 Diskussion

Der Altersunterschied bei Krankheitsbeginn zwischen vergleichsweise jüngeren Menschen mit GAD-LE und NMDAR-LE im Gegensatz zu eher älteren Menschen mit LGI1-LE und CASPR2-LE deckt sich mit Ergebnissen früherer Studien (Bien et al., 2007; Dalmau und Graus, 2018; Graus et al., 2016; Malter et al., 2010).

Eine Therapie mit oralen Immunsuppressiva, Plasmapherese oder intravenösen Immunglobulinen wurde in allen Antikörpergruppen ungefähr gleich häufig angewandt. Außerdem erhielten alle Personen mit Antikörpern unserer Studienkohorte mindestens eine Kortisonstoßtherapie. Das Fehlen deutlicher Unterschiede bei der Therapie von LE zwischen den Serogruppen lässt sich durch ein im Laufe der Jahre entwickeltes Therapieschema erklären, das auf die meisten Fälle unserer Kohorte angewendet wurde. An der Klinik und Poliklinik für Epileptologie des Universitätsklinikums Bonn wurde die Behandlung bei Erstdiagnose LE in der Regel zunächst mit einer Kortisonstoßtherapie begonnen. Bei fehlender Besserung kamen im Verlauf orale Immunsuppressiva, Plasmapherese oder intravenöse Immunglobuline zum Einsatz. Zusätzlich erhielten alle Menschen mit LE eine anfallssupprimierende Medikation. Dieses Schema lehnt sich an die etablierte Therapie der NMDAR-Enzephalitis an (Dalmau et al., 2011; Heine et al., 2023) und wird in dieser Form auch vom Enzephalitis-Netzwerk GENERATE beschrieben (www.generate-net.de). Eine S2k-Leitlinie hierzu, angemeldet von der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, soll voraussichtlich am 30.04.2024 fertiggestellt werden.

In den gemischten Modellen konnte ein initiales Anschwellen der Amygdala über alle Serogruppen hinweg beobachtet werden, wie bereits in vorausgegangenen Studien beschrieben (Ernst et al., 2019; Wagner et al., 2016, 2015b). Die im Vergleich zu gesunden Kontrollen vergrößerte Amygdala bei Menschen mit LE zu Krankheitsbeginn kann als Neuroinflammation interpretiert werden – Volumenvergrößerung der Amygdala als Korrelat einer Entzündung wurde bereits in früheren Studien gefunden (Malter et al., 2016). Ein weiterer Hinweis für diese Schlussfolgerung ist, dass bei den Menschen mit Beeinträchtigung im Verbal- oder Figuralgedächtnis, also klinisch stärker Betroffenen, die initiale Schwellung stärker ausfällt als bei klinisch weniger auffälligen Menschen mit Antikörpern. Es ist also anzunehmen, dass die Fulminanz der Entzündung das klinische Bild beeinflusst. Eine Reduktion des initialen Volumens wurde bei allen Serogruppen außer der GAD-Gruppe gefunden. Ein möglicher Grund hierfür könnte sein, dass Menschen mit GAD-LE eine länger anhaltende Entzündung haben, was somit den bekanntlich schlechteren klinischen Verlauf dieser Gruppe erklären könnte (Malter et al., 2010). Für diese Schlussfolgerung sollte allerdings der Aspekt berücksichtigt werden, dass Menschen der untersuchten Studienkohorte mit GAD-Antikörpern sehr variable Verläufe zeigen und die fehlende Sichtbarkeit einer Volumenreduktion auf Gruppenebene statistische Gründe haben könnte.

Übereinstimmend mit existierenden Studien (Bien, 2022; Finke et al., 2016; Heine et al., 2015; Malter et al., 2014) konnte hinsichtlich des Hippocampus eine Atrophie mit Voranschreiten der Erkrankung bei allen Menschen mit LE unabhängig vom zugrundeliegenden Antikörper festgestellt werden. Bei Menschen mit stärker beeinträchtigtem Gedächtnis wurde außerdem eine höhere Atrophierate gefunden. Finke et al. (2017) beschrieben, dass die mit LGI1-Enzephalitis assoziierten kognitiven Defizite aus der strukturellen Schädigung des Hippocampus resultierten. Interpretiert man die gefundene Atrophie also als strukturelle Schädigung, kann das Ergebnis von 2017 bestätigt werden. Zusätzlich wird in der Studie von 2017 gezeigt, dass das Ausmaß der strukturellen Schädigung mit der Schwere der kognitiven Beeinträchtigung einhergeht. Ob es sich bei der hier gefundenen Atrophie allerdings tatsächlich um strukturelle Hippocampusschäden handelt, müsste in einer histopathologischen Untersuchung festgestellt werden.

Insbesondere bei Menschen mit CASPR2-Antiköpern wurden zahlreiche Kortexareale mit erhöhter Atrophie im Vergleich zu normaler Alterung bei gesunden Kontrollpersonen gefunden, unter anderem im motorischen Kortex und den damit verbundenen kortikalen Bereichen. Bei der LGI1-Gruppe überstieg die Atrophie normales Altern lediglich im entorhinalen Kortex, der in örtlicher Nähe zum vermuteten Entzündungsgeschehen des mesialen Temporallappens liegt. Bei Menschen mit GAD-Antikörpern überstieg in keinem Areal neokortikale Degeneration normale Alterung. Dieses Ergebnis war überraschend, da man bei der klinisch stärker betroffenen (Wagner et al., 2016) und schlechter zu therapierenden (Malter et al., 2010) Gruppe der Menschen mit GAD-LE erwartet hätte, dass besonders hier die kortikale Neurodegeneration schwer ausfällt. Das Ergebnis kann aber hinsichtlich zweier Aspekte erklärt werden: Zum einen können die sehr heterogenen Krankheitsverläufe der Menschen mit GAD-Antikörpern in der untersuchten Studienkohorte statistische Schlussfolgerungen auf Gruppenebene erschweren. Zum anderen ist kortikale Degeneration ein natürliches Korrelat des Alters (Salat, 2004), weshalb womöglich bei der eher jungen Gruppe der Menschen mit GAD-LE unserer Kohorte keine Atrophie nachgewiesen werden konnte, bei den vergleichsweise älteren Menschen mit LGI1- oder CASPR2-Antikörpern hingegen schon. Ein weiterer Verzerrungseffekt der Ergebnisse ist das durchschnittliche Alter der gesunden Kontrollen, die im Mittel jünger als die untersuchten Menschen mit LGI1- und CASPR2-Antikörpern zum Zeitpunkt Null waren.

Studie Die Ergebnisse der wiesen auf einen Zusammenhang zwischen Neurodegeneration mit der verbalen Gedächtnisleistung hin. Menschen mit LE-Antikörpern, die in der verbalen Gedächtnisleistung beeinträchtigt waren, wiesen eine höhere Atrophierate der grauen Substanz über den gesamten Kortex verteilt auf als gesunde Kontrollpersonen, während sich bei denjenigen, die in Bezug auf das verbale Gedächtnis weniger beeinträchtigt waren, keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen zeigten. Die Einschränkung des Verbalgedächtnisses ist ein häufiges kognitives Defizit bei LE und als solches ein recht gut etablierter Indikator für die Krankheitslast. In dieser Hinsicht stützen unsere Daten die Vermutung, dass nicht nur strukturelle Schädigungen von Amygdala und Hippocampus, sondern darüber hinaus die Beteiligung neokortikaler Areale die Schwere der Erkrankung bestimmen (Bauer et al., 2020a; Heine et al., 2018; Loane et al., 2019). Dies ist ein weiterer Hinweis dafür, dass LE nicht als lediglich fokales Syndrom des Temporallappens, sondern eher als Netzwerkstörung des gesamten Gehirns betrachtet werden sollte.

Die hier beschriebene Studie ist ein weiteres Beispiel für die vielen Erkenntnisse, die durch MRT-Bildgebung hinsichtlich Erkrankungen des Gehirns gewonnen werden können. Sie basiert auf den vielen im Laufe der Jahre entstandenen Studien über LE, greift deren Ergebnisse auf und kann sie in Teilen bestätigen. Durch eine Kombination aus der außerordentlich großen Datenmenge von insgesamt 257 MRT-Bildern von Menschen mit LE und dem longitudinalen Analyseansatz konnten erstmals die kortikale Dicke und subkortikale Volumetrie bei Menschen mit LE in Zusammenhang mit sowohl

21

zugrundeliegenden Antikörpern als auch der Klinik kontinuierlich beschrieben werden. Die ausgewählten Bildgebungsmethoden waren hierbei klar interpretierbar und bereits seit einiger Zeit etabliert. Kortikale Dicke und Volumetrie werden seit Jahren als Analysetools genutzt und können wohl zu den Standards des sogenannten Postprocessing gezählt werden. Nichtsdestotrotz sollen aber zukünftig komplexere und feinere Methoden nicht vernachlässigt werden. Erst die Gesamtheit der bereits bestehenden Studien, welche teilweise weitaus abstraktere Methoden anwandten (Ernst et al., 2019; Harms et al., 2022; Heine et al., 2020), hat zu den Hypothesen der hier vorliegenden Studie geführt. Ein weiterer Punkt unterstreicht die Relevanz weiterer Abstraktionsgrade im Postprocessing: In den letzten Jahren hat die künstliche Intelligenz immer mehr an Bedeutung gewonnen. Bei Ernst et al. (2019) ermöglichte eine die einfache Volumetrie verfeinernde Postprocessing-Methode, die hippocampale Subfeldanalyse, erstmalig eine computerisierte Klassifikation zwischen verschiedenen Serogruppen der LE. Wir konnten zudem in einer früheren Studie unserer Gruppe zeigen, dass das differenzialgeometrische Oberflächenanalysetool BrainPrint (Reuter et al., 2006) einen Classifier verbessert, welcher an LE erkrankte Menschen von Gesunden anhand von geometrischen Informationen über mesiotemporale Strukturen einteilt (Harms et al., 2022). Es liegt also auf der Hand, dass abstraktere Methoden weiterhin bei der Erforschung von LE Anwendung finden sollen, um auf diese Weise Diagnose, Therapie und hoffentlich Prognose des Syndroms zukünftig mittels künstlicher Intelligenz verbessern zu können.

Eine Limitation der hier thematisierten Studie ist, dass lineare gemischte Modelle keine zirkadianen oder nicht-linearen Zusammenhänge aufdecken können. Als Lösungsansatz für dieses Problem wurden in der Originalpublikation Einzelverläufe der Menschen mit LE im Online-Supplement mitveröffentlicht; damit ist es beim Lesen der Originalpublikation möglich, sich einen unverzerrten Eindruck von den Einzelverläufen zu verschaffen.

Weiterhin ist die Studie dadurch limitiert, dass alle Personen mit LE eine Therapie an der Klinik und Poliklinik für Epileptologie des Universitätsklinikums Bonn erhielten. Das dort etablierte Schema entspricht der bisher erarbeiteten Erstlinientherapie bei LE (Heine et al., 2023), es ist aber anzumerken, dass sich dieses erst über die Jahre entwickelt hat und Kohorten anderer Kliniken oder zu anderen Zeitpunkten sicherlich Unterschiede in der Therapie aufweisen.

Schließlich limitiert auch das retrospektive Studiendesign die Aussagekraft der Studie, denn in der analysierten Kohorte wurden eher Menschen mit längeren und komplexeren Krankheitsverläufen abgebildet. Vollständig genesene Studienteilnehmende kommen weniger zu Nachuntersuchungen und scheiden dementsprechend früher aus Studien aus. Umgekehrt stellen sich Menschen mit LE und weniger offensichtlichen Symptomen bei Krankheitsbeginn erst nach einer gewissen Verzögerung in einem spezialisierten Zentrum vor und werden somit erst zu einem späteren Zeitpunkt in Studien eingeschlossen.

1.5 Zusammenfassung

Im Kontext der LE-Forschung greift die besprochene Studie bestehende Ergebnisse auf, kann diese in Teilen bestätigen und liefert neue Erkenntnisse durch den longitudinalen Analyseansatz und auf Grundlage einer außerordentlich großen Datenmenge. Bezüglich der mesiotemporalen Volumetrie kann der bereits in früheren Studien gefundene initiale Anstieg des Volumens reproduziert werden. In dieser Arbeit erstmals beschrieben ist der volumetrische Verlauf über die Zeit: erst Anstieg, dann Rückgang und schließlich Verlust des Volumens im Vergleich zum Krankheitsbeginn. Zusammengenommen mit allen Ergebnissen ist durch diesen Volumenverlauf also anzunehmen, dass bei LE auf ödematöse Schwellung durch Neuroinflammation in späteren Krankheitsstadien eine Remission und schließlich Atrophie folgt. Die analysierten Daten führen weiterhin zu der Vermutung, dass nicht nur strukturelle Schädigungen von Amygdala und Hippocampus, sondern darüber hinaus die Beteiligung neokortikaler Areale die Schwere der Erkrankung bestimmt.

1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung

Andrade DM, Tai P, Dalmau J, Wennberg R. Tonic seizures: A diagnostic clue of anti-LGI1 encephalitis? Neurology 2011; 76: 1355–1357

Barajas RF, Eric Collins D, Cha S, Geschwind MD. Adult-onset drug-refractory seizure disorder associated with anti-voltage-gated potassium-channel antibody. Epilepsia 2010; 51: 473–477

Bauer T, David B, Ernst L, Becker AJ, Witt J-A, Helmstaedter C, et al. Structural network topology in limbic encephalitis is associated with amygdala enlargement, memory performance and serostatus. Epilepsia 2020a; 61: e140–e145

Bauer T, Ernst L, David B, Becker AJ, Wagner J, Witt J-A, et al. Fixel-based analysis links white matter characteristics, serostatus and clinical features in limbic encephalitis. NeuroImage Clin 2020b; 27: 102289

Baumgartner A, Rauer S, Mader I, Meyer PT. Cerebral FDG-PET and MRI findings in autoimmune limbic encephalitis: correlation with autoantibody types. J Neurol 2013; 260: 2744–2753

Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. J R Stat Soc Ser B Methodol 1995; 57: 289–300

Bernhardt BC, Worsley KJ, Kim H, Evans AC, Bernasconi A, Bernasconi N. Longitudinal and cross-sectional analysis of atrophy in pharmacoresistant temporal lobe epilepsy. Neurology 2009; 72: 1747–1754

Bien CG. Limbic encephalitis. Handb. Clin. Neurol., vol. 187, Elsevier, 2022, 467-487

Bien CG, Elger CE. Limbic encephalitis: a cause of temporal lobe epilepsy with onset in adult life. Epilepsy Behav EB 2007; 10: 529–538

Bien CG, Urbach H, Schramm J, Soeder BM, Becker AJ, Voltz R, et al. Limbic encephalitis as a precipitating event in adult-onset temporal lobe epilepsy. Neurology 2007; 69: 1236–1244

Binks SNM, Klein CJ, Waters P, Pittock SJ, Irani SR. LGI1, CASPR2 and related

antibodies: a molecular evolution of the phenotypes. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2018; 89: 526–534

Dalmau J, Graus F. Antibody-Mediated Encephalitis. N Engl J Med 2018; 378(9):840-851

Dalmau J, Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R. Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis. Lancet Neurol 2011; 10: 63–74

Desikan RS, Ségonne F, Fischl B, Quinn BT, Dickerson BC, Blacker D, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. NeuroImage 2006; 31: 968–980

Dubey D, Pittock SJ, Kelly CR, McKeon A, Lopez-Chiriboga AS, Lennon VA, et al. Autoimmune encephalitis epidemiology and a comparison to infectious encephalitis. Ann Neurol 2018; 83: 166–177

Ernst L, David B, Gaubatz J, Domínguez-Narciso I, Lüchters G, Becker AJ, et al. Volumetry of Mesiotemporal Structures Reflects Serostatus in Patients with Limbic Encephalitis. AJNR Am J Neuroradiol 2019; 40: 2081–2089

Finke C, Kopp UA, Pajkert A, Behrens JR, Leypoldt F, Wuerfel JT, et al. Structural Hippocampal Damage Following Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor Encephalitis. Biol Psychiatry 2016; 79: 727–734

Fischl B. Automatically Parcellating the Human Cerebral Cortex. Cereb Cortex 2004; 14: 11–22

Fredriksen JR, Carr CM, Koeller KK, Verdoorn JT, Gadoth A, Pittock SJ, et al. MRI findings in glutamic acid decarboxylase associated autoimmune epilepsy. Neuroradiology 2018; 60: 239–245

Frisch C, Malter MP, Elger CE, Helmstaedter C. Neuropsychological course of voltagegated potassium channel and glutamic acid decarboxylase antibody related limbic encephalitis. Eur J Neurol 2013; 20: 1297–1304

Galovic M, van Dooren VQH, Postma TS, Vos SB, Caciagli L, Borzì G, et al. Progressive

Cortical Thinning in Patients with Focal Epilepsy. JAMA Neurol 2019; 76: 1230

Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Cellucci T, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. Lancet Neurol 2016; 15: 391–404

Graus F, Vogrig A, Muñiz-Castrillo S, Antoine J-CG, Desestret V, Dubey D, et al. Updated Diagnostic Criteria for Paraneoplastic Neurologic Syndromes. Neurol - Neuroimmunol Neuroinflammation 2021; 8: e1014

Harms A, Bauer T, Fischbach L, David B, Ernst L, Witt J-A, et al. Shape description and volumetry of hippocampus and amygdala in temporal lobe epilepsy – A beneficial combination with a clinical perspective. Epilepsy Behav 2022; 128: 108560

Harms A, Bauer T, Witt J-A, Baumgartner T, Von Wrede R, Racz A, et al. Mesiotemporal Volumetry, Cortical Thickness, and Neuropsychological Deficits in the Long-term Course of Limbic Encephalitis. Neurology Neuroimmunology Neuroinflammation 2023; 10: e200125

Heine J, Duchow A, Rust R, Paul F, Prüß H, Finke C. Autoimmunenzephalitis – ein Update. Nervenarzt 2023; 94: 525–537

Heine J, Prüss H, Bartsch T, Ploner CJ, Paul F, Finke C. Imaging of autoimmune encephalitis – Relevance for clinical practice and hippocampal function. Neuroscience 2015; 309: 68–83

Heine J, Prüss H, Kopp UA, Wegner F, Then Bergh F, Münte T, et al. Beyond the limbic system: disruption and functional compensation of large-scale brain networks in patients with anti-LGI1 encephalitis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2018; 89: 1191–1199

Heine J, Prüß H, Scheel M, Brandt AU, Gold SM, Bartsch T, et al. Transdiagnostic hippocampal damage patterns in neuroimmunological disorders. NeuroImage Clin 2020; 28: 102515

Helmstaedter C, Lendt M, Lux S. VLMT Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest. 1. Auflage. Beltz Test GmbH, Göttingen, 2001

Helmstaedter C, Pohl C, Hufnagel A, Elger CE. Visual Learning Deficits in Nonresected

Patients with Right Temporal Lobe Epilepsy. Cortex 1991; 27: 547–555

Irani SR, Stagg CJ, Schott JM, Rosenthal CR, Schneider SA, Pettingill P, et al. Faciobrachial dystonic seizures: the influence of immunotherapy on seizure control and prevention of cognitive impairment in a broadening phenotype. Brain 2013; 136: 3151–3162

Irani SR, Vincent A. Autoimmune encephalitis -- new awareness, challenging questions. Discov Med 2011; 11: 449–458.

Kong X-Z, Postema MC, Guadalupe T, Kovel C de, Boedhoe PSW, Hoogman M, et al. Mapping brain asymmetry in health and disease through the ENIGMA consortium. Hum Brain Mapp 2020; 43(1):167-181

Loane C, Argyropoulos GPD, Roca-Fernández A, Lage C, Sheerin F, Ahmed S, et al. Hippocampal network abnormalities explain amnesia after VGKCC-Ab related autoimmune limbic encephalitis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2019; 90: 965–974

Malter MP, Frisch C, Schoene-Bake JC, Helmstaedter C, Wandinger KP, Stoecker W, et al. Outcome of limbic encephalitis with VGKC-complex antibodies: relation to antigenic specificity. J Neurol 2014; 261: 1695–1705

Malter MP, Helmstaedter C, Urbach H, Vincent A, Bien CG. Antibodies to glutamic acid decarboxylase define a form of limbic encephalitis. Ann Neurol 2010; 67: 470–478

Malter MP, Widman G, Galldiks N, Stoecker W, Helmstaedter C, Elger CE, et al. Suspected new-onset autoimmune temporal lobe epilepsy with amygdala enlargement. Epilepsia 2016; 57: 1485–1494

Navarro V, Kas A, Apartis E, Chami L, Rogemond V, Levy P, et al. Motor cortex and hippocampus are the two main cortical targets in LGI1-antibody encephalitis. Brain 2016; 139: 1079–1093

Quek AML. Autoimmune Epilepsy: Clinical Characteristics and Response to Immunotherapy. Arch Neurol 2012; 69: 582

Reuter M, Fischl B. Avoiding asymmetry-induced bias in longitudinal image processing.

NeuroImage 2011; 57: 19-21

Reuter M, Schmansky NJ, Rosas HD, Fischl B. Within-subject template estimation for unbiased longitudinal image analysis. NeuroImage 2012; 61: 1402–1418

Reuter M, Wolter F-E, Peinecke N. Laplace–Beltrami spectra as 'Shape-DNA' of surfaces and solids. Comput-Aided Des 2006; 38: 342–366

Salat DH. Thinning of the Cerebral Cortex in Aging. Cereb Cortex 2004; 14: 721–730

Seabold S, Perktold J. Statsmodels: Econometric and Statistical Modeling with Python, Austin, Texas: 2010, 92–96

Terpilowski M. scikit-posthocs: Pairwise multiple comparison tests in Python. J Open Source Softw 2019; 4: 1169

Tüzün E, Dalmau J. Limbic Encephalitis and Variants: Classification, Diagnosis and Treatment. The Neurologist 2007; 13: 261–271

Urbach H, Rauer S, Mader I, Paus S, Wagner J, Malter MP, et al. Supratentorial white matter blurring associated with voltage-gated potassium channel-complex limbic encephalitis. Neuroradiology 2015; 57: 1203–1209

Vincent A, Buckley C, Schott JM, Baker I, Dewar B, Detert N, et al. Potassium channel antibody-associated encephalopathy: a potentially immunotherapy-responsive form of limbic encephalitis. Brain 2004; 127: 701–712

Wagner J, Schoene-Bake J-C, Witt J-A, Helmstaedter C, Malter MP, Stoecker W, et al. Distinct white matter integrity in glutamic acid decarboxylase and voltage-gated potassium channel-complex antibody-associated limbic encephalitis. Epilepsia 2016; 57: 475–483

Wagner J, Weber B, Elger CE. Early and chronic gray matter volume changes in limbic encephalitis revealed by voxel-based morphometry. Epilepsia 2015a; 56: 754–761

Wagner J, Witt J-A, Helmstaedter C, Malter MP, Weber B, Elger CE. Automated volumetry of the mesiotemporal structures in antibody-associated limbic encephalitis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2015b; 86: 735–742

2. Veröffentlichung

RESEARCH ARTICLE OPEN ACCESS

Mesiotemporal Volumetry, Cortical Thickness, and Neuropsychological Deficits in the Long-term Course of Limbic Encephalitis

29

Antonia Harms, BSc,* Tobias Bauer, MD, BSc,* Juri-Alexander Witt, PhD, Tobias Baumgartner, MD, Randi von Wrede, MD, Attila Racz, MD, Leon Ernst, MD, Albert J. Becker, MD, PhD, Christoph Helmstaedter, PhD, Rainer Surges, MD, PhD, MHBA, and Theodor Rüber, MD

Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm 2023;10:e200125. doi:10.1212/NXI.0000000000200125

Abstract

Background and Objectives

Limbic encephalitis (LE) is an autoimmune disease often associated with temporal lobe epilepsy and subacute memory deficits. It is categorized into serologic subgroups, which differ in clinical progress, therapy response, and prognosis. Using longitudinal MRI analysis, we hypothesized that mesiotemporal and cortical atrophy rates would reveal serotype-specific patterns and reflect disease severity.

Methods

In this longitudinal case-control study, all individuals with antibody-positive (glutamic acid decarboxylase 65 [GAD], leucine-rich glioma-inactivated protein 1 [LGI1], contactin-associated protein 2 [CASPR2], and N-methyl-D-aspartate receptor [NMDAR]) nonparaneoplastic LE according to Graus' diagnostic criteria treated between 2005 and 2019 at the University Hospital Bonn were enrolled. A longitudinal healthy cohort was included as the control group. Subcortical segmentation and cortical reconstruction of T1-weighted MRI were performed using the longitudinal framework in FreeSurfer. We applied linear mixed models to examine mesiotemporal volumes and cortical thickness longitudinally.

Results

Two hundred fifty-seven MRI scans from 59 individuals with LE (34 female, age at disease onset [mean \pm SD] 42.5 \pm 20.4 years; GAD: n = 30, 135 scans; LGI1: n = 15, 55 scans; CASPR2: n = 9, 37 scans; and NMDAR: n = 5, 30 scans) were included. The healthy control group consisted of 128 scans from 41 individuals (22 female, age at first scan [mean \pm SD] 37.7 \pm 14.6 years). The amygdalar volume at disease onset was significantly higher in individuals with LE ($p \le 0.048$ for all antibody subgroups) compared with that in healthy controls and decreased over time in all antibody subgroups, except in the GAD subgroup. We observed a significantly higher hippocampal atrophy rate in all antibody subgroups. Cortical atrophy rates exceeded normal aging in individuals with impaired verbal memory, while those who were not impaired did not differ significantly from healthy controls.

Discussion

Our data depict higher mesiotemporal volumes in the early disease stage, most likely due to edematous swelling, followed by volume regression and atrophy/hippocampal sclerosis in the late disease stage. Our study reveals a continuous and pathophysiologically meaningful trajectory of mesiotemporal volumetry across all serogroups and provides evidence that LE should be considered a network disorder in which extratemporal involvement is an important determinant of disease severity.

Copyright © 2023 The Author(s). Published by Wolters Kluwer Health, Inc. on behalf of the American Academy of Neurology.

Correspondence Dr. Rüber theodor.rueber@ukbonn.de

^{*}These authors contributed equally to this work as first authors.

From the Department of Epileptology (A.H., T. Bauer, J.-A.W., T. Baumgartner, R.v.W., A.R., L.E., C.H., R.S., T.R.), and Department of Neuropathology (A.J.B.), Section for Translational Epilepsy Research, University Hospital Bonn, Germany.

Go to Neurology.org/NN for full disclosures. Funding information is provided at the end of the article.

The Article Processing Charge was funded by the authors.

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

Glossary

AIC = Akaike information criterion; AMPAR = α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor; CASPR2 = contactin-associated protein-like 2; FDR = false discovery rate; GABAB = gamma-aminobutyric acid B; GAD = glutamic acid decarboxylase 65; HEK293 = Human Embryonic Kidney 293; LE = limbic encephalitis; LGI1 = leucine-rich glioma-inactivated 1; LLR = likelihood ratio; NMDAR = N-methyl-D-aspartate receptor.

Limbic encephalitis (LE) is a form of autoimmune encephalitis defined by subacute onset of typical symptoms such as seizures, memory impairment, or psychiatric abnormalities, combined with bilateral MRI abnormalities in the mesial temporal lobes, pleocytosis in the cerebrospinal fluid, and epileptiform EEG activity involving the temporal lobes. $^{1.5}$ Although the diagnosis of LE can be made without the presence of specific antibodies, the detection of antibodies is required when not all diagnostic criteria are met, for instance, when MRI abnormalities are not found bilaterally in the medial temporal lobe. Most common antibodies associated with nonparaneoplastic LE target against glutamic acid decarboxylase 65 (GAD), leucine-rich gliomainactivated 1 (LGI1), and contactin-associated protein-like 2 (CASPR2).⁶ While antibodies against N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) are commonly associated with autoimmune encephalitis involving the entire brain, in rare cases, antibodies against NMDAR can be found in cases with predominant involvement of the limbic system that fulfill diagnostic criteria for typical LE.^{1,3,7,8} In addition to clinical evaluation, cerebrospinal fluid analysis, and EEG, MRI is not only an integral part of the diagnostic criteria but increasingly plays an important role in the disease monitoring of LE.³ Especially, abnormalities in the mesial temporal lobe have been consistently reported in previous research, such as increased signal in T2-weighted fluidattenuated inversion recovery imaging³ or volumetric alterations of amygdala and hippocampus.9-11 Previous imaging studies in people with LE, however, are limited in 2 regards: first, in a number of studies, multiple data points per subject are usually sampled to discrete and often arbitrarily defined disease stages (e.g., early vs late or acute vs chronic),⁹⁻¹³ which is an oversimplified approach unable to capture the by nature continuous dynamics of individual disease trajectories. Second, while the term limbic encephalitis suggests a pathology limited to limbic brain structures,¹⁴ disrupted white matter integrity,^{12,15} network topology,^{14,16,17} and altered gray matter metabolism^{18,19} make it seem likely that neocortical gray matter is involved during disease progression.

To overcome these issues and to allow a meaningful longitudinal view on both subcortical and neocortical gray matter, we included all available MRI data from people with antibodies treated at our department together with a longitudinal healthy control group and analyzed the resulting dataset by means of linear mixed-effects models. This type of model allows to include a different number of data points per subject. It has proven to be useful in imaging studies on neurodegenerative diseases^{20,21} and in the modeling of progressive neurodegenerative processes in epilepsy.^{22,23} However, despite the compelling advantages of linear mixed-effects models, individual outliers and possible

circadian or nonlinear courses are still being overseen on a group level, yet may contribute to a deeper understanding of disease trajectories in LE. For this reason, we arranged all raw data that were included in our statistical analyses in easily readable charts and presented them in this study as a complement to the results of the linear mixed-effects models (Figure 5, eAppendix 1, links. lww.com/NXI/A862).

We hypothesized that linear mixed-effects models would establish sero-specific continuous relations between mesiotemporal inflammation (e.g., amygdalar swelling) usually seen at earlier disease stages and mesiotemporal sclerosis in later stages, differentiate between disease-specific neocortical degeneration and normal aging, and link atrophy patterns to disease severity.

Methods

Study Group

Clinical and MRI data from people with LE who were treated at the Department of Epileptology at the University Hospital in Bonn between 2005 and 2019 and met the diagnostic criteria by Graus et al.3 including serologically proven antibodies were retrospectively ascertained. We aimed to conduct our analyses with a study cohort as homogeneous as possible. For this reason, individuals with paraneoplastic and individuals with antibodynegative LE were excluded. Disease onset was defined as the first occurrence of LE-related symptoms. Clinical information to each scan time point consisting of the patient's neuropsychological performance, type of immunomodulatory treatment, and number of antiseizure medication were retrieved from the hospital records. We defined one predominantly affected hemisphere according to a 2-step classification based on the interictal EEG and mesiotemporal volumetry, as performed earlier.^{9,15} Because it is subject to an ongoing debate whether LE is a unihemispheric process,^{9,10,15} we referred to the opposite hemisphere as contralateral hemisphere. As a control group, we selected 41 individuals with no history of psychiatric or neurologic disorders with more than 1 MRI scan available. A maximum of 8 MRI scans were included per control (median = 3). Table 1 lists an overview over the study group. All participants had to be older than 18 years at MRI examination.

Standard Protocol Approvals, Registrations, and Patient Consents

Written informed consent was obtained from all participants in the study. The study was approved by the internal review board of the University Hospital Bonn (ethics vote no. 136/19).

Table 1 Subje	able 1 Subjects Overview								
Group	n	Tps	Female, %	Age at baseline in years; mean (±SD)	Right side affected, %	Verbal memory impaired, %	Figural memory impaired, %		
All people with antibodies	59	257	34 (55.7)	42.5 (±20.4)	13 (21.3)	21 (36)	28 (47)		

7 (23)

4 (27)

0 (0)

2 (40)

30 135

15 55

9 37

5

41

30

128

GAD

LGI1

CASPR2

NMDAR

Healthy controls

Abbreviations: CASPR2 = contactin-associated protein-like 2; GAD = glutamic acid decarboxylase 65; LG11 = leucine-rich glioma-inactivated 1; NMDAR =
<i>N</i> -methyl-D-aspartate-receptor; tps = time points.
Verbal or figural memory was categorized as "impaired," the individual memory performance was in at least half of all available time points 2 SDs below the
mean of the normative sample.

Serologic Analysis

Antibody screening was performed at the Department of Neuropathology at the University Hospital in Bonn, as outlined in detail earlier.²⁴ Before 2014, the detection of GAD antibodies in serum was performed by using an anti125 I-GAD radioimmunoprecipitation assay (normal values $\leq 1 \text{ U/mL}$; Weatherall Institute, Oxford, UK, or Euroimmun, Lübeck, Germany). Antibodies against LGI1 and CASPR2 were examined by indirect immunofluorescence using formalin-fixed Human Embryonic Kidney 293 (HEK293) cells containing membrane-bound LGI1 or CASPR2 (normal values <1: 10; all tests performed by Euroimmun). After 2014, screening for onconeuronal antibodies was performed using semiquantitative immunoblots (EURO-LINE PNS 12: Euroimmun, DL 1111-1601-7 G) coated with recombinant antigen or antigen fragments (dilution: serum 1: 100, cerebrospinal fluid: 1:1). Moreover, immunocytochemistry was performed using HEK293 cells with expression of antigens on the cell surface (IIFT: Autoimmune-Encephalitis-Mosaik1. Euroimmun, FA 1120-1005-1; GAD65-IIFT, Euroimmun, FA 1022-1005-50) for NMDAR, CASPR, LGI1, GABAB, AMPAR, and GAD65 antibodies (dilution: serum 1:10, cerebrospinal fluid: 1:1). 9,10,15,16 Thirty people were identified with GAD-LE (30/30 $\,$ > 1,000 U/mL, 19/30 > 2,000 U/mL, 5/30 > 10,000 U/mL), 15 with LGI1-LE, 9 with CASPR2-LE, and 5 with NMDAR-LE.

22 (73.3)

6 (33.3)

1 (11.1)

5 (100)

22 (53.7)

28.9 (±11.4)

63.4 (±14.1)

57.3 (±14.8)

34.8 (±19.9)

37.7 (±14.6)

Neuropsychological Testing

Psychometric testing was available for 227 time points for verbal memory performance and 223 time points for figural memory. Verbal memory performance was assessed by the verbal learning and memory test.²⁵ Abilities in figural learning were tested by the revised Diagnosticum fuer Cerebralschaedigung.²⁶ Memory parameters were standardized according to a conormalization sample of 488 healthy volunteers (mean = 100, SD = 10), applying a correction for age.^{15,16} A person was categorized as impaired if the individual memory performance was in at least half of all available time points 2 SDs below the mean of the normative sample.

Image Acquisition

9 (30)

4 (27)

6 (67)

2 (40)

All participants underwent T1-weighted structural imaging at the University Hospital in Bonn using a 3T MRI scanner at the Life & Brain Center (Magnetom Trio; Siemens Healthineers, Erlangen, Germany). Due to a scanner hardware update in 2014, images acquired after this update were acquired with slightly adjusted sequences parameters. Before the update: voxel size = 1 $\times 1 \times 1$ mm³, repetition time = 1,570 ms, echo time = 3.42 ms, flip angle = 15° , matrix = 256×256 pixel. After the update: voxel size = $0.8 \times 0.8 \times 0.8$ mm³, repetition time = 1,660 ms, echo time = 2.54 ms, flip angle = 9°, matrix = 320×320 pixel.

12 (40)

8 (53)

4 (44)

4 (80)

Disease duration at first MRI in years;

mean (±SD)

1.18 (±1.9)

2.5 (±2.3)

0.4 (±0.3)

1.9 (±1.5)

3.1 (±3.3)

Image Preprocessing and Segmentation

Cortical reconstruction and volumetric segmentation of T1 structural images were performed using the longitudinal framework in FreeSurfer (version 6.0).²⁷ It creates a robust, within-subject template for each subject and therefore increases the accuracy of the automatic surface reconstruction and segmentation of brain MRI of multiple time points compared with the conventional processing stream. $^{\rm 28}$ The surface reconstruction results were visually checked for accuracy. In case of segmentation defects, errors were corrected by manually adding control points and erasing voxels of nongray or nonwhite matter on the within-subject template and subsequently rerunning parts of the FreeSurfer pipeline followed by a final visual recheck of the results.

Volumetric Analysis of Amygdala and Hippocampus

Volumes of amygdala and hippocampus were specified in relation to the total brain volume without ventricles. To avoid bias due to their natural left/right volumetric asymmetry,²⁹ we calculated a left/right correction factor based on volumetric measurements within the healthy controls for amygdala and hippocampus, respectively, and applied it to volumes of structures in the left hemisphere of all participants. Finally, we pooled left and right structures of healthy controls, which





(A) After segmentation of T1 structural images, healthy amygdalar and hippocampal volumes were examined for left/right asymmetry. Subsequently, a left/right asymmetry factor of the healthy structures was applied to all left amygdalar and hippocampal volumes. Left and right amygdalar and hippocampal volumes of people with antibodies were reordered into affected and contralateral, according to a published^{9,15} 2-step classification scheme and compared with the corresponding pooled subcortical structures of healthy controls. (B) Cortical thickness was computed as the minimum distance between the gray/white matter boundary and the pial surface. Parcellation of the cortical surface was conducted using the Desikan-Killiany cortical atlas,³¹ resulting in 68 anatomical regions across both hemispheres. Cortical thickness of people with antibodies was compared regionwise with cortical thickness of healthy controls.

resulted in 3 categories for all amygdalar and hippocampal volumes: *affected, contralateral,* and *healthy controls* (Figure 1).

Cortical Thickness Analysis

Thickness of cortical gray matter was computed as the minimum distance between the gray/white matter boundary and the pial surface.³⁰ Cortical surface parcellation into standard gyral-based neuroanatomical regions was automatically conducted as previously described,³¹ using the Desikan-Killiany cortical atlas.³² For further analysis, we calculated the average cortical thickness of each of the resulting 68 anatomical regions across both hemispheres (Figure 1). In cortical analyses, we used the native left/right orientation due to natural asymmetry of the human cortex regarding both morphometric measures and functional specialization.

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed with the freely available *Python* modules *statsmodels*³³ (version 0.13.0) and *scikit-post-hocs*³⁴ (version 0.6.4).

We chose a linear mixed-effects model for longitudinal $data^{21,35,36}$ to compare subcortical volumes and cortical

thickness over time between people with LE and healthy controls. For amygdala and hippocampus, we defined our model as

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 A_i + \beta_2 X_{ij} + \beta_3 G_i + \beta_4 G_i X_{ij} + b_i, \qquad (1)$$

where Y_{ij} is amygdalar or hippocampal volume of individual i at scan time point j, β_0 , $-\beta_4$ are fixed-effects regression coefficients, and b is a random-effects regression coefficient. The random effects enable modeling of individual-specific intercepts.³⁶ We defined A_i as the age at baseline of participant *i*, which we consider the age at disease onset for people with antibodies or age at first scan for healthy controls. X_{ii} denotes the time since baseline of participant *i* at scan time point *j*. We denoted G_i as the categorial group affiliation of individual i and included an interaction term of group affiliation G_i with time since baseline X_{ii} to investigate differences in longitudinal volume changes between groups. We applied 2 paradigms to assign individuals to groups: First, we performed the analysis with participants categorized by the underlying antibody, resulting in 5 groups: GAD, LGI1, CASPR2, NMDAR, and healthy controls. Second, we classified people with antibodies



Figure 2 Amygdalar and Hippocampal Volumes Longitudinally Categorized by Antibodies

Intercepts of straight lines represent the estimated volume at baseline (β_{3}), and slopes show the estimated volume change over time (β_{4}). Volumes were specified in relation to the total brain volume without ventricles. Left and right amygdalar/hippocampal volumes of people with antibodies were reordered into affected and contralateral, according to a 2-step classification scheme as performed earlier and compared with the corresponding pooled subcortical structures of healthy controls (bold gray line). On the left, group estimated volumes are displayed as percentage in relation to the estimated volume of people with antibodies/first scan of healthy controls); on the right, 120 months after baseline (after 10 years). CASPR2 = contactin-associated protein-like 2; GAD = glutamic acid decarboxylase 65; LGI1 = leucine-rich glioma-inactivated 1; NMDAR = *N*-methyl-o-aspartate receptor.

by verbal and by figural memory performance, each resulting in 3 groups: impaired, unimpaired, and healthy controls.

used a similar model as described earlier (equation 1), with the thickness T_{ij} at a certain cortical region of participant *i* at scan time point *j* as

To analyze cortical thickness changes over time in people with antibodies when compared with those in healthy controls, we

 $T_{ij} = \beta_0 + \beta_1 A_i + \beta_3 X_{ij} + \beta_4 G_i + \beta_5 G_i X_{ij} + b_i.$ (2)

Neurology.org/NN

Neurology: Neuroimmunology & Neuroinflammation | Volume 10, Number 4 | July 2023 5

Table 2	Mixed-Effects Linear Regression Results of
	Amygdalar and Hippocampal Volumes for
	Serological Subgroups and Subgroups of
	Impaired and Unimpaired Memory

				(a) Amygdala		(d)	Hippocampus		
Volume at baseline (intercept)	e			Se β ₃	× 10 ³		S P	ier 3 ×	ogroups 10 ³		
Healthy controls				1.	388 (0.000)		3	8.5	75 (0.000)		
CASPR2 _{aff} – controls				0.	284 (0.000)		C).4	09 (0.003)		
CASPR2 _{contra} – control	s			0.	286 (0.000)		C).2	56 (0.060)		
GAD _{aff} – controls				0.	173 (0.000)		C).2	05 (0.014)		
GAD _{contra} – controls				0.	130 (0.004)		C	0.0	76 (0.358)		
LGI1 _{aff} – controls				0.	193 (0.001)		C	0.0	33 (0.766)		
LGI1 _{contra} – controls				0.	142 (0.016)		C	0.0	80 (0.482)		
NMDAR _{aff} – controls				0.	191 (0.048)		C).2	46 (0.165)		
NMDAR _{contra} – control	s			0.	011 (0.905)		C	0.0	40 (0.820)		
Volume change over time (slope)				Se β ₄	× 10 ³				Serogroups $\beta_4 \times 10^3$		
Healthy controls				0.	000 (0.078)				0.000 (0.939)		
CASPR2 _{aff} – controls				-(0.003 (0.000)				-0.005 (0.000)		
CASPR2 _{contra} – control	s			-(0.001 (0.057)				-0.003 (0.002)		
GAD _{aff} – controls				0.	000 (0.848)				-0.002 (0.017)		
GAD _{contra} – controls				0.	000 (0.428)				-0.001 (0.244)		
LGI1 _{aff} – controls				-0.004 (0.000)					-0.007 (0.000)		
LGI1 _{contra} – controls				-0.003 (0.000)					-0.004 (0.001)		
NMDAR _{aff} – controls				-0.002 (0.001)					-0.004 (0.000)		
NMDAR _{contra} – control	s			-0.002 (0.007)				-0.004 (0.000)			
		(b) Amygda	ala		(c) Amygdala		(e) Hippocampus		(f) Hippocampus		
Volume at baseline (intercept)	e	Verbal memor $\beta_3 \times 10^3$	у		Figural memory $\beta_3 \times 10^3$		Verbal memory $\beta_3 \times 10^3$		Figural memory $\beta_3 \times 10^3$		
Healthy controls		1.404 (0	.000)		1.411 (0.000)		3.631 (0.000)		3.631 (0.000)		
imp _{aff} – controls		0.306 (0	.000)		0.265 (0.000)		0.256 (0.007)		0.230 (0.007)		
imp _{contra} – controls		0.186 (0	.000)		0.192 (0.000)		0.094 (0.326)		0.133 (0.122)		
unimp _{aff} – controls		0.151 (0	.000)		0.160 (0.000)		0.183 (0.016)		0.190 (0.021)		
unimp _{contra} – controls		0.136 (0	.000)		0.119 (0.007)		0.131 (0.088)		0.092 (0.300)		
Volume change over time (slope)	Verba memory $\beta_4 \times 10$	nl Dry 3	Fig m β ₄	gu en × :	ral nory 10 ³	ν n β.	erbal nemory ,×10 ³	F n β	igural nemory 4 × 10 ³		
Healthy controls	0.000	(0.079)	0.0	00	0 (0.084)	0	.000 (0.991)	0	.000 (0.997)		
imp _{aff} – controls	-0.003	3 (0.000)	-0	0.0	02 (0.000)	-	0.004 (0.000)	-	0.004 (0.000)		
imp _{contra} – controls	-0.00	(0.002)	-0	0.0	02 (0.000)	-	0.002 (0.001)	-	0.003 (0.000)		
unimp _{aff} – controls	-0.00	1 (0.074)	-0	0.0	01 (0.032)	-	0.003 (0.000)	-	0.002 (0.001)		
unimp _{contra} – controls	-0.00	(0.012)	-0	0.0	01 (0.230)	-	0.002 (0.000)	-	0.001 (0.286)		

Abbreviations: aff = affected hemisphere; CASPR2 = contactin-associated protein-like 2; contra = contralateral hemisphere; GAD = glutamic acid decarboxylase 65; imp = impaired in underlying psychometric feature; LE =

limbic encephalitis; LGI1 = leucine-rich glioma-inactivated 1; NMDAR = N-methyl-o-aspartate receptor; unimp = unimpaired in underlying psychometric feature.

Results of the 6 different mixed-effects models: amygdalar volume as the dependent variable and people with LE divided (a) by serologic subgroups, (b) verbal memory performance; and (c) figural memory performance; hippocampal volume as the dependent variable and people with LE divided (d) by serogroups, (e) verbal memory performance; and (f) figural memory performance; *P* values, rounded to 3 decimal points, are indicted in parentheses. *p* Values, rounded to 3 decimal points, are indicted in parentheses. *p* values smaller than 0.05 are printed in bold letters. β_3 indicates the estimated amygdala/hippocampus volume of participants at baseline. All β_3 of the different groups estimate the difference of volumes of people with LE at disease onset to volumes of healthy controls at baseline. β_4 shows the estimated effect of time since baseline to volume of amygdala/hippocampus. β_4 of the different groups was categorized as "impaired" if an individual scored in more than 50% of the measurements 2 SDs below the mean of a normative sample.

Again, we denote X_{ii} as time since baseline of participant *i* at time point j. Because we investigated a total of 68 anatomical regions per hemisphere, we applied the Benjamini-Hochberg procedure to control for the false discovery rate (FDR) of multiple comparisons with an FDR threshold of 0.05.^{33,37} In all regression models, we accounted for the 2 different MRI sequences by introducing the variable sequence and included sex as another fixed effect. In the model for thickness changes (equation 2), moreover, we added the total brain volume without ventricles as a fixed effect. We tested for significance of our models by comparing them with a null model containing only the random effects individual-specific intercepts. For this purpose, we applied likelihood ratio (LLR) tests and considered the Akaike information criterion (AIC) as an estimator for information loss. In this study, p values less than 0.05 were considered significant.

Data Availability

Data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author. Data are not publicly available because they contain information that could compromise the privacy of research participants.

Results

Clinical Group Characteristics

Two hundred fifty-seven MR images from 59 people with antibodies including follow-up MRI scans up to 10 years after disease onset (maximum number of MRI scans per participant = 13; median = 4) were included. An overview of the distribution of age, sex, and memory performance in the psychometric testing is summarized in Table 1. All people with antibodies received a pulse steroid therapy. Intravenous immunoglobulin or plasmapheresis was applied to 13 people with GAD-LE (43%), 7 with LGI-LE (46%), 3 with CASPR2-LE (33%), and 3 with NMDAR-LE (60%). Oral immunosuppressants were taken by 11 people with GAD-LE (37%), 4 with LGI-LE (27%), 2 with CASPR2-LE (22%), and 1 with NMDAR-LE (20%).

Volumetric Analysis of Amygdala and Hippocampus

Antibody-Specific Subgroups

AIC and an LLR test revealed significant superiority of our model estimating amygdalar (AIC_{full model} = -11,734.623, AIC difference to null model $[AIC_{null} - AIC_{full_model}] = 112.563,$ LLR = 152.563, p < 0.001) and hippocampal (AIC_{full model} = $-11,033.764, AIC_{null} - AIC_{full_model} = 167.437, LLR = 207.437,$ p < 0.001) volume changes against the null model (equation 1). The amygdalar volume at disease onset was significantly higher than in controls in the affected and contralateral hemisphere of all antibody subgroups (all p < 0.048), except for the contralateral side in NMDAR-LE. Over time, we observed a significantly stronger decrease relative to controls in the affected hemisphere in CASPR2-LE (p < 0.001) and both hemispheres in LGI1-LE (p < 0.001) and NMDAR-LE (p <0.007). The hippocampal volume at disease onset was significantly higher than in controls in the affected hemisphere only in CASPR2-LE (p = 0.003) and GAD-LE (p = 0.014). Regarding hippocampal atrophy, we observed a significantly stronger volume decrease relative to controls in the affected and contralateral hemisphere of all antibody subgroups (all p < 0.017), except for the contralateral side in GAD-LE. All results of the mixed-effects regression model are visualized in Figure 2. Regression coefficients of the estimated group intercept at baseline (β_3) and the estimated volume change over time (β_4) are listed in Table 2.

Subgroups of Impaired and Unimpaired Memory

AIC and the LLR test revealed significant superiority of the models estimating amygdalar (verbal memory: AIC_{full model} = -11,709.390, AIC_{null} - AIC_{full_model} = 87.329, LLR = $\overline{111.329}$, p < 0.001; figural memory: AIC_{full model} = -11,702.716, $AIC_{null} - AIC_{full_model} = 80.655, LLR = 104.655, p < 0.001)$ and hippocampal (verbal memory: $AIC_{full_model} = -11,006.293$, $AIC_{null} - AIC_{full_model} = 139.966$, LLR = 163.966, p < 0.001; figural memory: AIC_{full model} = -11017.933, AIC_{null} - $AIC_{full_model} = 151.606$, LLR = 175.606, p < 0.001) volume changes when tested against the null model, with people with LE categorized by verbal memory performance and by figural memory performance (equation 1). Regarding the atrophy over time, we observed a significant volume decrease of hippocampus and amygdala relative to controls in individuals both in the affected and contralateral hemispheres (all p < 0.002). In individuals with unimpaired verbal memory, we found a significant volume decrease relative to controls of the affected and contralateral hippocampus (both p < 0.001), and the contralateral amygdala (p = 0.012). In cases with unimpaired figural memory, we found only a significant volume decrease relative to controls of the affected hippocampus (p = 0.002) and amygdala (p = 0.032). Results of the memory performance categorization are visualized in Figure 3. Regression coefficients (\$\beta_3\$: intercept estimated volume at baseline; β_4 : slope – estimated volume change over time) are listed in Table 2.

Cortical Thickness Analysis

Antibody-Specific Subgroups

All 68 mixed-effect regression models for all 68 cortical regions of interest (equation 2) were significantly superior to a null model containing only the individual-specific intercepts. In people with GAD-LE, cortical atrophy did not differ from healthy controls after FDR correction at any cortical region. In people with LGI1-LE, we observed a significantly increased atrophy in the right entorhinal cortex compared with that in healthy controls. In people with NMDAR-LE, we found only a diminished atrophy rate in the right caudal anterior cingulate cortex. In people with CASPR2-LE, we found significantly diminished atrophy rates compared with healthy controls in the right caudal and rostral anterior cingulate cortex and a significantly increased atrophy for numerous cortical regions. See Figure 4 for a graphical representation of the regression results. Interactive 3D visualizations of all cortical thickness results, allowing a better view on all cortical regions, can be found in the online supplementary material (eAppendix 2, links.lww.com/NXI/A863). A full list of all regression results is summarized in eTable 1 (links.lww.com/ NXI/A864) in the online supplement.

Subgroups of Impaired and Unimpaired Memory

The group of people with antibodies and impaired verbal memory performance showed multiple cortical regions with a faster atrophy than healthy controls. Atrophy was diminished compared with that in healthy controls at the anterior cingulum (eTable 2, links.lww. com/NXI/A865). People with antibodies and unimpaired verbal memory showed no regions with significantly different atrophy compared with healthy controls. People with antibodies and impaired figural memory performance had a significantly slower cortical thickness reduction than healthy controls in the right caudal anterior cingulate cortex. The unimpaired group showed a significantly stronger atrophy than healthy controls in the right and he online supplementary material for a visualization of the regression results (eAppendix 2, links.lww.com/NXI/A863). A full list of all regression results is listed in eTable 2.

Individual Disease Courses

A comprehensive graphical representation of each individual clinical disease trajectory of all people with antibodies can be found in the supplementary material (eAppendix 1, links.lww. com/NXI/A862). In these synoptic representations (see 2 representative examples in Figure 5), we have included verbal and figural memory performance, the number of antiseizure medication prescribed during scan, immunomodulatory therapy, and amygdalar and hippocampal volumes.

Discussion

Clinical Group Characteristics

In our study cohort, GAD-LE and NMDAR-LE were significantly younger than LGI1-LE and CASPR2-LE at disease onset, which corresponds to other cohorts reported in the literature.^{1,3,38,39}



Neurology: Neuroimmunology & Neuroinflammation | Volume 10, Number 4 | July 2023

8

Figure 3 Amygdalar and Hippocampal Volumes Longitudinally Categorized by Memory Performance



Figure 4 Cortical Thickness Development Over Time

Right and left hemisphere cortex overviews showing cortical thickness development differences between people with antibodies and healthy controls. Regions are marked with an arrow, where cortical atrophy rates of people with antibodies are significantly (p < 0.05) increased compared with healthy controls. People with antibodies were categorized by serology (A), verbal memory performance (B), and figural memory performance (C) and compared with healthy controls. Reliever cortical atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Relieve is the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with antibodies at the atrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with attrophy rate of people with antibodies when compared with healthy controls. Reliever is the atrophy rate of people with attrophy rate of people

Verbal or figural memory impairment could not be observed in 1 serogroup particularly but was generally found in all groups. This might be explained by the fact that people who recuperate also improve in memory performance and drop out of our retrospective cohort. Given that most of the cases with LE included in this study showed a left hemispheric



Figure 5 Examples of Individual Clinical Disease Trajectories

disease focus that is typically linked to verbal memory impairment,⁴⁰ it seems surprising that in our cohort, figural memory deficits are as frequent as verbal memory deficits. Nevertheless, this observation is concordant with previous studies showing that often both verbal and figural memory are compromised in LE, irrespective of the lateralization of the disease focus in MRI.^{13,17,41,42} This may be explained by more recent research suggesting that LE involves memory networks as a whole rather than single nodes of it.^{16,17,43}

Furthermore, all people with LE received at least once a pulse steroid therapy. Intravenous immunoglobulin therapy, plasmapheresis, and oral immunosuppressants were applied in all our groups equally. The lack of clear differences in therapy between serogroups can be explained by the fact that over the years a therapy scheme has been developed and applied in most cases of our cohort.

Mesiotemporal Volumetry Reflects Anticipated Course of LE: Inflammation, Remission, and Atrophy

Our findings on the group level reflect the notion that LE progresses in 3 stages: at first, an increased amygdalar volume at disease onset is consistently found across all serogroups and corresponds to results of previous cross-sectional studies in the acute stage. This is most likely due to neuroinflammation, which is known to present with hyperintense signal in T2-weighted MRI³ and volume increase.^{9,11} Second, a subsequent reduction of the amygdalar volume throughout disease progression was observed in LGI1-LE, CASPR2-LE, and NMDAR-LE and may be interpreted as the remission of neuroinflammation after immunotherapy. In GAD-LE, by contrast, the absence of volume reduction may be due to persisting inflammation, leading further to a poorer clinical prognosis and lower rates of recovery, as reported in the literature.³⁹ Third, we observed that the volume reduction fell

even further below the volume of healthy controls, possibly mirroring neuronal cell loss of the predamaged structure. Of note, we observed that more severe neuropsychological impairment was associated with greater swelling of the amygdala at disease onset and greater subsequent atrophy rates, underscoring the functional relevance of the imaging findings discussed earlier.

Furthermore, we observed decreasing hippocampal volume over time in all serogroups, most impressively in the LGI1 group. Indeed, hippocampal sclerosis is known to be a common long-term consequence of LE.^{38,44} Previous studies associated diminishing hippocampal volume with neuronal cell loss and impaired memory performance,⁴² which explains the coobservation of neuropsychological impairment and hippocampal atrophy over time.

Bilateral vs Unilateral Mesiotemporal Involvement

Whether LE is a bilateral disease or indeed has a unihemispheric focus is subject to an ongoing debate.^{9,10,15,16} In our data, the volume of the primarily affected amygdala, as determined by EEG focus, was higher than on the contralateral side, although increased amygdala volume at disease onset was found bilaterally in all serogroups. Moreover, increased hippocampal volume was found only in the primarily affected hemisphere of people with CASPR2-LE and GAD-LE, and atrophy rates of the hippocampus in the primarily affected hemisphere were greater than in the contralateral hemisphere in all serogroups. Overall, our results show bilateral involvement, but still support the hypothesis that the disease progression is more pronounced in 1 hemisphere, which in the case of LGI1-LE is supported by previous work.¹⁸

Neocortical Degeneration Varies Between Serogroups and Determines Disease Severity

There is growing evidence that cerebral inflammatory diseases, not least LE, should rather be considered as network disorders.^{14,16,17,43} Accordingly, we observed distinct gray matter atrophy of the neocortex in most LE subgroups. Neocortical involvement at disease onset is anecdotally described in the literature⁴⁵⁻⁴⁷; however, parietal neocortical involvement is documented in the radiologic reports in only 1 case with GAD-LE from our cohort. In all other cases, radiologic reports at disease onset only state mesiotemporal abnormalities.

In LGI1-LE, we observed increased cortical atrophy when compared with aging in healthy controls in the entorhinal cortex, which lies in anatomical proximity to the inflammatory focus located in hippocampus and amygdala. In CASPR2-LE, we found widespread higher atrophy rates compared with aging in healthy controls over the entire cortex, among others the motor cortex and its associated cortical areas.

In GAD-LE, we did not find any cortical area with increased atrophy when compared with aging in healthy controls. This was contrary to our expectations because people with GAD-LE often have a severe disease course with less respondence to immunotherapy, which should necessarily lead to cortical neurodegeneration.¹² We may, however, not see this effect due to the particularly individual and highly variable disease trajectories in this serogroup, which may hamper group-level statistical inference. Furthermore, cortical atrophy may be overseen in GAD-LE for developmental reasons because people with LGI1-LE and CASPR2-LE are on average older at disease onset than people with GAD-LE and are therefore by nature more susceptible to cortical degeneration. This result may be further biased by the fact that the healthy control cohort included in this study is on average younger at baseline than the LGI1-LE and CASPR2-LE subgroups.

Of interest, people with antibodies who are impaired in verbal memory performance present with a higher gray matter atrophy rate than healthy controls, distributed over the entire cortex, while those who are less affected regarding verbal memory do not show significant differences relative to healthy controls. Verbal memory performance is one of the most relevant cognitive deficits in LE and is as such a fairly well-established proxy of disease burden. In this regard, our data support the concept outlined in previous studies that it is not the structural damage to the hippocampus alone but rather the involvement of further anatomical structures beyond it that determines disease severity.^{14,16,17}

Sero-specific Patterns and Immunotherapy Response in Individual Clinical Disease Trajectories

By visualizing the individual volume development of amygdala and hippocampus of both hemispheres, we observed similar patterns within each serogroup. In LGI1-LE, we found either initially increased volumes, which then subside (e.g., participants 2, 31, and 43), or no substantial alteration in the volume of amygdala or hippocampus (e.g., participants 24 and 12) over time. In 4 of the 6 people with CASPR2-LE with more than 2 scan time points, we observed a rather monophasic decrease in the volume of all structures (participants 13, 18, 20, and 35) as seen in most people with LGI1-LE. People with GAD-LE, by contrast, present with a heterogeneous picture of volume changes of amygdala and hippocampus throughout disease progression. The most common pattern in this group, however, is the one in which the volume does not change much over time (e.g., participants 10, 14, 17, 19, and 44).

Regarding therapeutic interventions, previous studies have shown a favorable clinical response to immunotherapy, especially in LGI1-LE.⁴⁸⁻⁵⁰ This is supported by our data: mesiotemporal volumes in LGI-LE mostly decrease over time, and neuropsychological performance often recovers under therapy. We found the same response also in fewer people with different antibodies (GAD-LE: participants 22, 38, and 34; CASPR2-LE: participant 20).

Despite all the advantages of discrete statistical models, linear mixed-effects models still represent a linear approximation. As

a result, nonlinear or cyclical patterns are not uncovered on group level and can only be surmised from the raw data. Another limitation lies in the retrospective design of our study. The availability of follow-up may be biased in that people with antibodies are more likely to attend follow-up appointments if they continue to experience symptoms due to a more severe disease course, whereas fully recovered people with antibodies are more likely not to attend these appointments and therefore dropout of our cohort earlier. Conversely, people with LE and less obvious symptoms at disease onset may present to a specialized center such as our department only after a certain delay. Our longitudinal study design is also challenged by therapeutic interventions. These are mostly based on the individual disease courses and include both immunotherapeutic and antiseizure medication. Both may potentially interfere with the variables included in our analyses; however, from a statistical perspective, it remains practically impossible to control for this effect in the statistical analyses due to the high variability. Regarding the generalizability of our results, it should be noted that cases with paraneoplastic LE, antibody-negative LE, and LE associated with other less common antibodies such as GABAB or AMPAR were not included in our study. With its focus on LE, this study also ignores most individuals with NMDAR antibody encephalitis who do not fulfill diagnostic criteria for LE (whereas NMDAR antibodies are far more common among "nonlimbic" autoimmune encephalitis). Finally, it should be noted that all individuals with LE received therapy, and for this obvious reason, our data do not depict the natural course of LE.

Our retrospective study puts mesiotemporal volumetry and neocortical thickness of a rather large LE cohort into a meaningful longitudinal statistical model. Regarding mesiotemporal structures, our model reflects the common pathophysiologic course of LE across all observed serogroups: Volume increase, most likely due to edematous swelling in the early disease stage, is followed by a remission with volume normalization and finally atrophy in late disease stages. While seen in both hemispheres, this pattern is more pronounced in the primarily affected hemisphere pointing toward a lateralized pathology.

Neocortical atrophy shows serotype-dependent regional patterns. Furthermore, impaired verbal memory and thus more severe disease courses in people with antibodies could be linked to higher neocortical atrophy.

Taken together, our study reveals a common, continuous, and pathophysiologically meaningful pattern of mesiotemporal volumetry across all serogroups and provides further evidence that LE should be considered a network disorder in which extratemporal involvement is an important factor regarding disease severity.

Study Funding

A. Harms and T. Bauer received support from the BonnNI Promotionskolleg Neuroimmunology of the University of Bonn and the Else-Kröner-Fresenius Stiftung (grants 2020-S1-01, 2018-S2-01). T.B. received support from the BON-FOR research commission of the medical faculty of the University of Bonn (grant 2019-4-07). This work was supported by the Verein zur Förderung der Epilepsieforschung.

Disclosure

J.A. Witt reports personal fees from Eisai. These activities were not related to the content of this article. R. Surges has received fees as speaker or served on the advisory board of Angelini, Arvelle, Bial, Desitin, Eisai, Livanova, Janssen-Cilag GmbH, Novartis, Precisis GmbH, UCB Pharma, UnEEG, and Zogenix. These activities were not related to the content of this article. Go to Neurology.org/NN for full disclosures.

Publication History

Received by Neurology: Neuroimmunology & Neuroinflammation November 19, 2022. Accepted in final form March 30, 2023. Submitted and externally peer reviewed. The handling editor was Josep O. Dalmau, MD, PhD, FAAN.

Appendix Authors

Name	Location	Contribution
Antonia Harms, BSc	Department of Epileptology, University Hospital Bonn, Germany	Drafting/revision of the article for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data; study concept or design; and analysis or interpretation of data
Tobias Bauer, MD, BSc	Department of Epileptology, University Hospital Bonn, Germany	Drafting/revision of the article for content, including medical writing for content; major role in the acquisition of data; study concept or design; and analysis or interpretation of data
Juri-Alexander Witt, PhD	Department of Epileptology, University Hospital Bonn, Germany	Major role in the acquisition of data; analysis or interpretation of data
Tobias Baumgartner, MD	Department of Epileptology, University Hospital Bonn, Germany	Major role in the acquisition of data
Randi von Wrede, MD	Department of Epileptology, University Hospital Bonn, Germany	Major role in the acquisition of data
Attila Racz, MD	Department of Epileptology, University Hospital Bonn, Germany	Major role in the acquisition of data
Leon Ernst, MD	Department of Epileptology, University Hospital Bonn, Germany	Major role in the acquisition of data
Albert J. Becker, MD, PhD	Department of Neuropathology, Section for Translational Epilepsy Research University Hospital Bonn, Germany	Major role in the acquisition of data; additional contributions: revision of the article for content—revision of the article for content

2 Neurology: Neuroimmunology & Neuroinflammation | Volume 10, Number 4 | July 2023

Appendix (continued)							
Name	Location	Contribution					
Christoph Helmstaedter, PhD	Department of Epileptology, University Hospital Bonn, Germany	Major role in the acquisition of data					
Rainer Surges, MD, PhD, MHBA	Department of Epileptology, University Hospital Bonn, Germany	Study concept or design; additional contributions: revision of the article for content					
Theodor Rüber, MD	Department of Epileptology, University Hospital Bonn, Germany	Drafting/revision of the article for content, including medical writing for content; study concept or design					

References

- Dalmau J, Graus F. Antibody-mediated encephalitis. N Engl J Med. 2018;378(9): 840-851, doi:10.1056/NEIMra1708712
- 2. Bien CG. Limbic encephalitis. Handb Clin Neurol. 2022;187:467-487. doi:10.1016/ B978-0-12-823493-8.00024-9
- Graus F, Titulaer MJ, Balu R, et al. A clinical approach to diagnosis of a encephalitis. Lancet Neurol. 2016;15(4):391-404. doi:10.1016/S1474-4422(15)00401-9
- Linnoila J. Autoimmune encephalitis: new hammers in the toolbox. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2021;92(7):686. doi:10.1136/jnnp-2021-326096 5.
- Witt JA, Helmstaedter C. Neuropsychological evaluations in limbic encephalitis. *Brain Sci.* 2021;11(5):576. doi:10.3390/brainsci11050576 Dubey D, Pittock SJ, Kelly CR, et al. Autoimmune encephalitis epidemiology and a 6.
- comparison to infectious encephalitis. Ann Neurol. 2018;83(1):166-177. doi:10.1002/ ana.25131
- 7. Graus F, Dalmau J, editors. In: Autoimmune Encephalitis and Related Disorders of the Nervous System. Cambridge University Press; 2022:1-106. Abboud H, Probasco JC, Irani S, et al. Autoimmune encephalitis: proposed best
- 8. practice recommendations for diagnosis and acute management. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2021;92(7):757-768. doi:10.1136/jnnp-2020-325300 Ernst L, David B, Gaubatz J, et al. Volumetry of mesiotemporal structures reflects
- 9. serostatus in patients with limbic encephalitis. Am J Neuroradiol. 2019;40(12): 2081-2089. doi:10.3174/ajnr.A6289
- 10. Wagner J, Weber B, Elger CE. Early and chronic gray matter volume changes in limbic ncephalitis revealed by voxel-based morphometry. Epilepsia. 2015;56(5):754-761. doi:10.1111/epi.12968
- Malter MP, Widman G, Galldiks N, et al. Suspected new-onset autoimmune temporal lobe epilepsy with amygdala enlargement. *Epilepsia*. 2016;57(9):1485-1494. doi: 11. 10.1111/epi.13471
- 12 Schoene-Bake JC, Witt JA, et al. Distinct white matter integrity in glutamic acid decarboxylase and voltage-gated potassium channel-complex antibody-associated
- limbic encephalitis. *Epilepsia*. 2016;57(3):475-483. doi:10.1111/epi.13297 Frisch C, Malter MP, Elger CE, Helmstaedter C. Neuropsychological course of 13 voltage-gated potassium channel and glutamic acid decarboxylase antibody related limbic encephalitis. Eur J Neurol. 2013;20(9):1297-1304. doi:10.1111/enc.12186 Heine J, Prüss H, Kopp UA, et al. Beyond the limbic system: disruption and functional
- 14. compensation of large-scale brain networks in patients with anti-LGII encephalitis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2018;89(11):1191-1199. doi:10.1136/jnnp-2017-317780
- 15. Bauer T, Ernst L, David B, et al. Fixel-based analysis links white matter characteristics serostatus and clinical features in limbic encephalitis. *NeuroImage Clin.* 2020;27: 102289. doi:10.1016/j.nicl.2020.102289
- Bauer T, David B, Ernst L, et al. Structural network topology in limbic encephalitis is associated with amygdala enlargement, memory performance and serostatus. *Epi-lepsia*. 2020;61(10):e140-e145. doi:10.1111/epi.16691 16.
- Loane C, Argyropoulos GPD, Roca-Fernández A, et al. Hippocampal network abnor-malities explain amnesia after VGKCC-Ab related autoimmune limbic encephalitis. 17.
- J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2019;90(9):965-974. doi:10.1136/jnnp-2018-320168 Navarro V, Kas A, Apartis E, et al. Motor cortex and hippocampus 18 cortical targets in LGI1-antibody encephalitis. Brain. 2016;139(4):1079-1093. doi: 10.1093/brain/aww012
- Huang G, Xin M, Hao Y, Bai S, Liu J, Zhang C. Cerebral metabolic network in patients 19 with anti-N-Methyl-D-aspartate receptor encephalitis on 18F-FDG PET imaging. Front Neurosci. 2022;16:885425. doi:10.3389/fnins.2022.885425 Thompson WK, Hallmayer J, O'Hara R, the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initia-
- 2.0. two. Design considerations for characterizing psychiatric trajectories across the lifespan: application to effects of APOE-E4 on cerebral cortical thickness in Alzheimer's disease.
- appriation to Curro of ICO-FORM Control Currow Control and Active and Active and Active Am J Psychiatry. 2011;16(89):894-903. doi:10.1176/appriajp.2011.10111690
 Bernal-Rusiel JL, Greve DN, Reuter M, Fischl B, Sabuncu MR. Statistical analysis of longitudinal neuroimage data with Linear Mixed Effects models. *NeuroImage*. 2013; 66:249-260. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.10.065 21.

- 22. Bernhardt BC, Worslev KJ, Kim H, Evans AC, Bernasconi A, Bernasconi N, Longitudinal and cross-sectional analysis of atrophy in pharmacoresistant temporal lobe Neurology. 2009;72(20):1747-1754. doi:10.1212/01.wnl.0000345969.57574.f5 epilepsy.
- Galovic M, van Dooren VQH, Postma TS, et al. Progressive cortical thinning in patients with focal epilepsy. JAMA Neurol. 2019;76(10):1230. doi:10.1001/jamaneurol.2019.1708 23 24. Kuehn JC, Meschede C, Helmstaedter C, et al. Adult-onset temporal lobe epilepsy
- suspicious for autoimmune pathogenesis: autoantibody prevalence and clinical cor-relates. *PLoS One*. 2020;15:e0241289. doi:10.1371/journal.pone.0241289 25.
- Helmstaedter C, Lendt M, Lux S. VLMT Verbaler Lern- Und Merkfähigkeitstest. 1. Auflage. Beltz Test GmbH; 2001. Helmstaedter C, Pohl C, Hufnagel A, Elger CE. Visual learning deficits in nonresected 26.
- Traints with right temporal lobe epilepsy. Cortex. 1991;27(4):547-555. doi:10.1016/ S0010-9452(13)80004-4
- Reuter M, Schmansky NJ, Rosas HD, Fischl B. Within-subject template estimation for unbiased longitudinal image analysis. *NeuroImage*. 2012;61(4):1402-1418. doi: 27. 28
- 10.1016/j.neuroimage.2012.02.084 Reuter M, Fischl B. Avoiding asymmetry-induced bias in longitudinal image pro-cessing. *NeuroImage*. 2011;57(1):19-21. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.02.076
- Kong XZ, Postema MC, Guadalupe T, et al. Mapping brain asymmetry in health and disease through the ENIGMA consortium. *Hum Brain Mapp*. 2020;43(1):167-181. 29. doi:10.1002/hbm.25033
- Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from 30 magnetic resonance images. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97(20):11050-11055. doi: 10.1073/pnas.200033797
- Fisch B. Automatically parcellating the human cerebral cortex. Cereb Cortex. 2004; 14(1):11-22. doi:10.1093/cercor/bbg087 31.
- Desikan RS, Ségonne F, Fischl B, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neu-*32. roImage. 2006;31(3):968-980. doi:10.1016/j.neuroimage.2006.01.021
- Seabold S, Perktold J. Statsmodels: Econometric and Statistical Modeling with Python. 2010:92-96. doi:10.25080/Majora-92bf1922-011 33. 34.
- Terpilowski M. scikit-posthocs: pairwise multiple comparison tests in Python. J Open Source Softw. 2019;4(36):1169. doi:10.21105/joss.01169 35. Verbeke G, Molenberghs G. Linear Mixed Models For Longitudinal Data; Springer, 2000. doi:10.1007/978-1-4419-0300-6
- Wachinger C, Salat DH, Weiner M, Reuter M, Alzheimer's Disease Neuroimaging 36. Initiative. Whole-brain analysis reveals increased neuroanatomical asymmetrie dementia for hippocampus and amygdala. Brain. 2016;139(12):3253-3266. doi:
- 10.1093/brain/aww243 Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and pow-erful approach to multiple testing. J R Stat Soc Ser B. 1995;57(1):289-300. doi: 37.
- 10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x Bien CG, Urbach H, Schramm J, et al. Limbic encephalitis as adult-onset temporal lobe epilepsy. Neurology. 2007;69(12):1236-1244. doi:10.1212/
- 01.wnl.0000276946.08412.ef Malter MP, Helmstaedter C, Urbach H, Vincent A, Bien CG. Antibodies to glutan 39. acid decarboxylase define a form of limbic encephalitis. Ann Neurol. 2010;67(4):
- 470-478. doi:10.1002/ana.21917 Helmstaedter C, Grunwald T, Lehnertz K, Gleißner U, Elger CE. Differential in-40. volvement of left temporolateral and temporomesial structures in verbal declarative learning and memory: evidence from temporal lobe epilepsy. Brain Cogn. 1997;35(1): 110-131. doi:10.1006/brcg.1997.0930
- Hansen N, Widman G, Witt JA, et al. Seizure control and cognitive improvement via immunotherapy in late onset epilepsy patients with paraneoplastic versus GAD65 autoantibody-associated limbic encephalitis. Epilepsy Behav. 2016;65:18-24. doi: 10.1016/j.yebeh.2016.10.016
- Finke C, Prüss H, Heine J, et al. Evaluation of cognitive deficits and structural hip-42. pocampal damage in encephalitis with leucine-rich, glioma-inactivated 1 antibodi JAMA Neurol. 2017;74(1):50. doi:10.1001/jamaneurol.2016.4226
- Argyropoulos GP, Loane C, Roca-Fernandez A, et al. Network-wide abnormalities 43. memory variability in hippocampal amnesia. eLife. 2019;8:e46156. doi: expl 10.7554/eLife.46156
- 44. Kotsenas AL, Watson RE, Pittock SJ, et al. MRI findings in autoimmune volta potassium channel complex encephalitis with seizures: one potential etiology for mesial temporal sclerosis, Am I Neuroradiol, 2014;35(1):84-89. doi:10.3174/ainr.A3633
- bit K, Fuji K, Kobayashi H, Senda M, Kitazawa K, Honda A. Anterior cingulate cortex involvement in non-paraneoplastic limbic encephalitis. *Brain Dev.* 2019;41(8): 735-739. doi:10.1016/i.braindey.2019.04.006
- Bose G, Zwicker JC, Sitwell LD, Osman N, Fantaneanu TA. Anti-LGI1 limbic en-46. cephalitis presenting as an expanding insular lesion. *Can J Neurol Sci.* 2019;46(6): 770-772. doi:10.1017/cjn.2019.247
- Papiri G, Puca E, Marcucci M, Paci C, Cagnetti C. A case of anti-leucine-rich glioma-47. inactivated protein 1 (Anti-LGI1) encephalitis with an unusual frontomesial motor cortex T2 MRI hyperintensity. *Cureus*. 2022;14(10):e30480. doi:10.7759/cureus.30480
- 48. Toledano M, Britton JW, McKeon A, et al. Utility of an immunotherapy trial in evaluating patients with presumed autoimmune epilepsy. Neurology. 2014;82(18): 1578-1586. doi:10.1212/WNL.000000000000383
- Shin YW, Lee ST, Shin JW, et al. VGKC-complex/LGI1-antibody encephalitis: clinical manifestations and response to immunotherapy. J Neuroimmunol. 2013; 265(1-2):75-81. doi:10.1016/j.jneuroim.2013.10.005 49.
- Irani SR, Stagg CJ, Schott JM, et al. Faciobrachial dystonic seizures: the influence of immunotherapy on seizure control and prevention of cognitive impairment in a 50. broadening phenotype. Brain. 2013;136(10):3151-3162. doi:10.1093/brain/awt212

41

eTable 1: Regression results of cortical thickness of healthy controls and people with limbic encephalitis over time The results show the effect of time on cortical thickness of healthy controls (age-related

The results show the effect of time on cortical thickness of healthy controls (age-related atrophy). The effect of time on cortical thickness in mm of all people with limbic encephalitis (LE) is estimated by β_4 , indicating the deviation of people with LE from healthy controls.

LEFT hemisphere

Regions from Desikan- Killiany cortical atlas	healthy controls	healthy controls p-value	GAD (β4)	GAD p- value	(B4)	LGII p- value	CASPR2 (β4)	CASPR2 pvalue	NMDAR (B4)	NMDAR pvalue
bankssts	-0.0008	0.007	0.0001	> 0.05	0.0013	> 0.05	-0.0010	> 0.05	-0.001	> 0.05
caudalanteriorcingulate	-0.0003	> 0.05	-0.0003	> 0.05	0.0000	> 0.05	-0.0004	> 0.05	-0.001	> 0.05
caudalmiddlefrontal	-0.0006	> 0.05	-0.0005	> 0.05	0.0006	> 0.05	-0.0019	0.004	-0.001	> 0.05
cuneus	-0.0004	> 0.05	-0.0003	> 0.05	0.0011	> 0.05	-0.0001	> 0.05	0.000	> 0.05
entorhinal	0.0003	> 0.05	0.0003	> 0.05	-0.0029	> 0.05	-0.0059	0.000	-0.002	> 0.05
fusiform	-0.0002	> 0.05	-0.0002	> 0.05	0.0006	> 0.05	-0.0015	0.000	-0.001	> 0.05
inferiorparietal	-0.0005	0.030	-0.0003	> 0.05	0.0011	> 0.05	-0.0006	> 0.05	-0.001	> 0.05
inferiortemporal	-0.0003	> 0.05	0.0000	> 0.05	0.0010	> 0.05	-0.0005	> 0.05	0.000	> 0.05
isthmuscingulate	-0.0004	> 0.05	-0.0001	> 0.05	0.0008	> 0.05	-0.0007	> 0.05	0.000	> 0.05
lateraloccipital	-0.0003	> 0.05	-0.0001	> 0.05	0.0008	> 0.05	-0.0015	0.002	-0.001	> 0.05
lateralorbitofrontal	-0.0004	0.045	0.0003	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.0003	> 0.05	0.000	> 0.05
lingual	-0.0001	> 0.05	0.0002	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.0015	0.000	0.000	> 0.05
medialorbitofrontal	0.0000	> 0.05	-0.0002	> 0.05	-0.0005	> 0.05	-0.0004	> 0.05	-0.001	> 0.05
middletemporal	-0.0007	0.002	-0.0001	> 0.05	0.0009	> 0.05	-0.0004	> 0.05	-0.001	> 0.05
parahippocampal	-0.0001	> 0.05	0.0001	> 0.05	-0.0006	> 0.05	-0.0015	0.005	-0.001	> 0.05
paracentral	-0.0007	0.025	0.0000	> 0.05	0.0006	> 0.05	-0.0018	0.004	0.000	> 0.05
parsopercularis	-0.0005	0.034	-0.0001	> 0.05	0.0007	> 0.05	-0.0011	0.026	0.000	> 0.05
parsorbitalis	-0.0004	> 0.05	0.0000	> 0.05	0.0005	> 0.05	-0.0004	> 0.05	0.000	> 0.05
parstriangularis	-0.0006	0.034	-0.0006	> 0.05	0.0001	> 0.05	-0.0011	0.043	-0.001	> 0.05
pericalcarine	-0.0005	> 0.05	0.0006	> 0.05	0.0001	> 0.05	-0.0015	0.010	0.000	> 0.05
postcentral	-0.0004	> 0.05	-0.0003	> 0.05	0.0006	> 0.05	-0.0007	> 0.05	0.000	> 0.05
posteriorcingulate	-0.0004	> 0.05	-0.0001	> 0.05	0.0013	> 0.05	0.0005	> 0.05	0.000	> 0.05
precentral	-0.0007	0.045	-0.0002	> 0.05	-0.0003	> 0.05	-0.0030	0.000	-0.002	> 0.05
precuneus	-0.0004	> 0.05	-0.0003	> 0.05	0.0008	> 0.05	-0.0005	> 0.05	0.000	> 0.05
rostralanteriorcingulate	-0.0003	> 0.05	-0.0003	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.0007	> 0.05	-0.001	> 0.05
rostralmiddlefrontal	-0.0002	> 0.05	-0.0002	> 0.05	0.0003	> 0.05	-0.0024	0.000	-0.001	> 0.05
superiorfrontal	-0.0004	> 0.05	-0.0002	> 0.05	0.0001	> 0.05	-0.0011	0.027	0.000	> 0.05
superiorparietal	-0.0005	0.045	-0.0003	> 0.05	0.0010	> 0.05	-0.0006	> 0.05	0.000	> 0.05
superiortemporal	-0.0006	0.019	-0.0002	> 0.05	-0.0003	> 0.05	-0.0018	0.000	-0.001	> 0.05
supramarginal	-0.0008	0.002	0.0001	> 0.05	0.0011	> 0.05	-0.0006	> 0.05	0.000	> 0.05
frontalpole	-0.0002	> 0.05	-0.0003	> 0.05	0.0004	> 0.05	-0.005 I	0.000	0.001	> 0.05
temporalpole	-0.0006	> 0.05	-0.0005	> 0.05	-0.0007	> 0.05	-0.0046	0.000	-0.001	> 0.05
transversetemporal	-0.0010	0.024	0.0000	> 0.05	-0.0010	> 0.05	-0.0003	> 0.05	0.001	> 0.05
insula	-0.0002	> 0.05	-0.0003	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.001	> 0.05

RIGHT hemisphere

	healthy controls	healthy controls p-value	GAD (β4)	GAD p- value	LGII (84)	LGII p- value	CASPR2 (β4)	CASPR2 pvalue	NMDAR (β4)	NMDAR pvalue
bankssts	-0.0008	0.002	0.0002	> 0.05	0.0006	> 0.05	-0.0010	0.038	0.000	> 0.05
caudalanteriorcingulate	-0.0003	> 0.05	-0.0005	> 0.05	0.0012	> 0.05	0.0023	0.001	0.004	0.000
caudalmiddlefrontal	-0.0006	> 0.05	-0.0001	> 0.05	0.0005	> 0.05	-0.0011	> 0.05	-0.001	> 0.05
cuneus	-0.0002	> 0.05	-0.0005	> 0.05	0.0009	> 0.05	-0.0012	0.014	-0.001	> 0.05
entorhinal	0.0002	> 0.05	-0.0002	> 0.05	-0.0041	0.001	-0.0038	0.000	-0.002	> 0.05
fusiform	-0.0002	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.0002	> 0.05	-0.0015	0.001	-0.001	> 0.05
inferiorparietal	-0.0005	> 0.05	-0.0003	> 0.05	0.0008	> 0.05	-0.0012	0.034	-0.001	> 0.05
inferiortemporal	-0.0003	> 0.05	0.0000	> 0.05	0.0004	> 0.05	0.0000	> 0.05	0.000	> 0.05
isthmuscingulate	-0.0004	> 0.05	-0.0006	> 0.05	0.0005	> 0.05	0.0004	> 0.05	0.000	> 0.05
lateraloccipital	-0.0003	> 0.05	-0.0004	> 0.05	0.0010	> 0.05	-0.0019	0.000	0.000	> 0.05
lateralorbitofrontal	-0.0002	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.0010	> 0.05	0.000	> 0.05
lingual	-0.0001	> 0.05	-0.0005	> 0.05	-0.0002	> 0.05	-0.0016	0.001	0.000	> 0.05
medialorbitofrontal	-0.0001	> 0.05	0.0002	> 0.05	0.0005	> 0.05	-0.0002	> 0.05	-0.001	> 0.05
middletemporal	-0.0005	0.024	0.0000	> 0.05	0.0002	> 0.05	-0.0009	> 0.05	-0.001	> 0.05
parahippocampal	0.0000	> 0.05	0.0004	> 0.05	-0.0011	> 0.05	-0.0019	0.000	0.000	> 0.05
paracentral	-0.0004	> 0.05	-0.0007	> 0.05	0.0007	> 0.05	-0.0018	0.003	0.000	> 0.05
parsopercularis	-0.0005	0.045	-0.0004	> 0.05	0.0001	> 0.05	-0.0008	> 0.05	-0.001	> 0.05
parsorbitalis	-0.0003	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.0011	> 0.05	-0.0010	> 0.05	0.000	> 0.05
parstriangularis	-0.0006	0.014	-0.0005	> 0.05	0.0000	> 0.05	-0.0008	> 0.05	-0.001	> 0.05
pericalcarine	-0.0002	> 0.05	-0.0002	> 0.05	-0.0007	> 0.05	-0.0019	0.001	0.000	> 0.05
postcentral	-0.0005	> 0.05	-0.0001	> 0.05	0.0005	> 0.05	-0.0007	> 0.05	0.000	> 0.05
posteriorcingulate	-0.0003	> 0.05	-0.0003	> 0.05	0.0012	> 0.05	0.0003	> 0.05	0.000	> 0.05
precentral	-0.0007	> 0.05	0.0000	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.0030	0.000	-0.001	> 0.05
precuneus	-0.0004	> 0.05	-0.0001	> 0.05	0.0009	> 0.05	-0.0012	0.004	0.000	> 0.05
rostralanteriorcingulate	-0.0005	> 0.05	0.0004	> 0.05	0.0008	> 0.05	0.0018	0.003	0.000	> 0.05
rostralmiddlefrontal	-0.0003	> 0.05	-0.0004	> 0.05	0.0000	> 0.05	-0.0014	0.005	-0.001	> 0.05
superiorfrontal	-0.0004	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.0004	> 0.05	-0.0015	0.002	-0.001	> 0.05
superiorparietal	-0.0006	0.045	-0.0003	> 0.05	0.0014	> 0.05	-0.0011	0.048	0.001	> 0.05
superiortemporal	-0.0007	0.012	0.0000	> 0.05	0.0000	> 0.05	-0.0017	0.001	-0.001	> 0.05
supramarginal	-0.0008	0.002	0.0000	> 0.05	0.0004	> 0.05	-0.0015	0.005	0.000	> 0.05
frontalpole	0.0000	> 0.05	-0.0006	> 0.05	0.0009	> 0.05	-0.0038	0.000	-0.001	> 0.05
temporalpole	-0.0007	> 0.05	-0.0002	> 0.05	-0.0017	> 0.05	-0.0044	0.000	0.000	> 0.05
transversetemporal	-0.0010	0.045	0.0000	> 0.05	0.0000	> 0.05	-0.0018	> 0.05	-0.001	> 0.05
insula	-0.0003	> 0.05	-0.0005	> 0.05	-0.0001	> 0.05	-0.0010	> 0.05	-0.002	> 0.05

eTable 2: Regression results of cortical thickness of healthy controls and people with limbic encephalitis and impaired and unimpaired memory over time

Results show the effect of time on cortical thickness of healthy controls (age-related atrophy). The effect of time on cortical thickness in mm of all people with limbic encephalitis (LE) is estimated by β_4 , indicating the deviation of people with LE from controls.

Regions from Desikan- Killiany cortical atlas	healthy controls	healthy controls p-value	impaired (β4)	impaired p- value	unimpaired (β4)	unimpaired p-value
bankssts	-0.0007	0.017	-0.0003	> 0.05	-0.0001	> 0.05
caudalanteriorcingulate	-0.0003	> 0.05	-0.0002	> 0.05	-0.0006	> 0.05
caudalmiddlefrontal	-0.0005	> 0.05	-0.0012	0.040	-0.0004	> 0.05
cuneus	-0.0004	> 0.05	0.0004	> 0.05	-0.0002	> 0.05
entorhinal	0.0004	> 0.05	-0.0037	0.000	-0.0002	> 0.05
fusiform	-0.0002	> 0.05	-0.0007	> 0.05	-0.0002	> 0.05
inferiorparietal	-0.0005	> 0.05	-0.0004	> 0.05	-0.0001	> 0.05
inferiortemporal	-0.0002	> 0.05	0.0000	> 0.05	0.0002	> 0.05
isthmuscingulate	-0.0004	> 0.05	-0.0002	> 0.05	0.0001	> 0.05
lateraloccipital	-0.0003	> 0.05	-0.0008	> 0.05	-0.0001	> 0.05
lateralorbitofrontal	-0.0004	> 0.05	-0.0001	> 0.05	0.0004	> 0.05
lingual	-0.0001	> 0.05	-0.0007	> 0.05	0.0000	> 0.05
medialorbitofrontal	0.0000	> 0.05	-0.0006	> 0.05	-0.0001	> 0.05
middletemporal	-0.0007	0.006	0.0000	> 0.05	-0.0001	> 0.05
parahippocampal	0.0000	> 0.05	-0.0013	0.006	0.0002	> 0.05
paracentral	-0.0006	> 0.05	-0.0012	0.028	0.0004	> 0.05
parsopercularis	-0.0005	> 0.05	-0.0002	> 0.05	-0.0001	> 0.05
parsorbitalis	-0.0003	> 0.05	-0.0001	> 0.05	0.0002	> 0.05
parstriangularis	-0.0006	> 0.05	-0.0002	> 0.05	-0.0008	> 0.05
pericalcarine	-0.0005	> 0.05	-0.0004	> 0.05	0.0001	> 0.05
postcentral	-0.0004	> 0.05	0.0000	> 0.05	-0.0002	> 0.05
posteriorcingulate	-0.0004	> 0.05	0.0005	> 0.05	0.0002	> 0.05
precentral	-0.0007	> 0.05	-0.0020	0.004	-0.0002	> 0.05
precuneus	-0.0004	> 0.05	-0.0004	> 0.05	0.0001	> 0.05
rostralanteriorcingulate	-0.0003	> 0.05	-0.0004	> 0.05	-0.0005	> 0.05
rostralmiddlefrontal	-0.0001	> 0.05	-0.0011	0.007	-0.0004	> 0.05
superiorfrontal	-0.0004	> 0.05	-0.0008	> 0.05	0.0001	> 0.05
superiorparietal	-0.0005	> 0.05	-0.0005	> 0.05	0.0000	> 0.05
superiortemporal	-0.0005	0.037	-0.0009	0.026	-0.0004	> 0.05
supramarginal	-0.0007	0.006	-0.0001	> 0.05	0.0002	> 0.05
frontalpole	-0.0001	> 0.05	-0.0030	0.001	0.0007	> 0.05
temporalpole	-0.0005	> 0.05	-0.0022	0.007	-0.0009	> 0.05
transversetemporal	-0.0010	0.027	-0.0002	> 0.05	0.0001	> 0.05
insula	-0.0002	> 0.05	0.0005	> 0.05	-0.0009	> 0.05

LEFT hemisphere - Verbal memory

	RIGHT	hemisphere	- Verba	l memory
--	-------	------------	---------	----------

Regions from Desikan- Killiany cortical atlas	healthy controls	healthy controls p-value	impaired (β4)	impaired p- value	unimpaired (β4)	unimpaired p-value
bankssts	-0.0008	0.006	-0.0002	> 0.05	0.0002	> 0.05
caudalanteriorcingulate	-0.0003	> 0.05	0.0016	0.018	0.0009	> 0.05
caudalmiddlefrontal	-0.0006	> 0.05	-0.0008	> 0.05	0.0000	> 0.05
cuneus	-0.0001	> 0.05	-0.0006	> 0.05	-0.0004	> 0.05
entorhinal	0.0002	> 0.05	-0.0028	0.000	-0.0011	> 0.05
fusiform	-0.0002	> 0.05	-0.0011	0.007	-0.0002	> 0.05
inferiorparietal	-0.0005	> 0.05	-0.0008	> 0.05	0.0000	> 0.05
inferiortemporal	-0.0003	> 0.05	0.0002	> 0.05	-0.0002	> 0.05
isthmuscingulate	-0.0004	> 0.05	0.0000	> 0.05	-0.0003	> 0.05
lateraloccipital	-0.0002	> 0.05	-0.0008	> 0.05	-0.0002	> 0.05
lateralorbitofrontal	-0.0002	> 0.05	-0.0002	> 0.05	-0.0002	> 0.05
lingual	-0.0001	> 0.05	-0.0010	0.009	-0.0003	> 0.05
medialorbitofrontal	-0.0001	> 0.05	0.0002	> 0.05	-0.0002	> 0.05
middletemporal	-0.0005	0.037	-0.0006	> 0.05	-0.0001	> 0.05
parahippocampal	0.0000	> 0.05	-0.0009	0.042	0.0001	> 0.05
paracentral	-0.0003	> 0.05	-0.0011	0.033	-0.0001	> 0.05
parsopercularis	-0.0005	> 0.05	-0.0004	> 0.05	-0.0006	> 0.05
parsorbitalis	-0.0003	> 0.05	-0.0009	> 0.05	0.0000	> 0.05
parstriangularis	-0.0006	0.021	-0.0003	> 0.05	-0.0006	> 0.05
pericalcarine	-0.0002	> 0.05	-0.0011	0.028	-0.0002	> 0.05
postcentral	-0.0005	> 0.05	-0.0003	> 0.05	0.0000	> 0.05
posteriorcingulate	-0.0003	> 0.05	0.0003	> 0.05	0.0001	> 0.05
precentral	-0.0006	> 0.05	-0.0019	0.007	0.0000	> 0.05
precuneus	-0.0003	> 0.05	-0.0005	> 0.05	0.0002	> 0.05
rostralanteriorcingulate	-0.0005	> 0.05	0.0015	0.004	0.0000	> 0.05
rostralmiddlefrontal	-0.0003	> 0.05	-0.0008	> 0.05	-0.0004	> 0.05
superiorfrontal	-0.0004	> 0.05	-0.0012	0.004	0.0000	> 0.05
superiorparietal	-0.0005	> 0.05	-0.0006	> 0.05	0.0003	> 0.05
superiortemporal	-0.0006	0.024	-0.0008	> 0.05	-0.0003	> 0.05
supramarginal	-0.0008	0.006	-0.0008	> 0.05	0.0002	> 0.05
frontalpole	0.0000	> 0.05	-0.0016	> 0.05	-0.0006	> 0.05
temporalpole	-0.0006	> 0.05	-0.0013	> 0.05	-0.0013	> 0.05
transversetemporal	-0.0010	> 0.05	-0.0014	> 0.05	0.0001	> 0.05
insula	-0.0003	> 0.05	-0.0003	> 0.05	-0.0010	> 0.05

3. Danksagung

Zunächst bedanke ich mich bei Prof. Dr. Rainer Surges für die Möglichkeit diese Arbeit in enger Anbindung an die Klinik und Poliklinik für Epileptologie erstellt haben zu können.

Ich danke meinen Doktorvater Herrn Priv.-Doz. Dr. Theodor Rüber für die Ermöglichung meines Promotionsvorhabens durch die inhaltliche Betreuung, die Organisation, die Unterstützung auch über die Promotion hinaus und die Aufnahme in seine wunderbare Arbeitsgruppe.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Tobias Bauer für die außerordentliche Betreuung, die vielen Ideen, die Diskussionen über Inhalte, Methoden und Ergebnisse, die Korrektur der zahlreichen Texte, die Erreichbarkeit zu jeder Zeit und die freundschaftliche Zusammenarbeit. Ich werde die vergangenen Jahre in guter Erinnerung behalten.

Für inhaltliche Unterstützung und mentorielle Begleitung meiner wissenschaftlichen Arbeit danke ich Prof. Dr. Albert Becker, Prof. Dr. Christoph Helmstaedter, Dr. Juri-Alexander Witt und Kersten Diers.

Von Herzen danke ich meinen Freund*innen und Kolleg*innen aus der Arbeitsgruppe für translationale Neurobildgebung Felix Bitzer, Dr. Bastian David, Dr. Leon Ernst, Laura Fischbach, Johannes Reiter, Dr. Martin Schidlowski, Matthias Schmitz, Freya Schulte und Lennart Walger für den regen Austausch und die schöne Zeit des Neben- und Miteinanderarbeitens.

Mein Dank gilt ebenfalls dem Bonner Promotionskolleg "BonnNi" der Else-Kröner-Fresenius-Stiftung für die finanzielle und ideelle Förderung.

Selbstverständlich möchte ich allen Freund*innen danken, die ich während meines Studiums in Bonn kennen gelernt und liebgewonnen habe.

Mein größter Dank gilt meiner Familie; meinen Eltern für ihre liebevolle Motivation, ihre Unterstützung, ihren steten Rückhalt und die bedingungslose Förderung meines beruflichen Werdegangs, sowie meiner Schwester für die Fähigkeit sich immer in meine Situation versetzen zu können und mir mit präzisen Einschätzungen, konstruktiver Kritik und liebevollem Verständnis beizustehen. Ich bin dankbar, sie immer an meiner Seite zu wissen.