

Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und
Gastroenterologische Onkologie
Städtisches Klinikum München - Bogenhausen
Akademisches Lehrkrankenhaus der Technischen Universität München
(Chefarzt: apl. Prof. Dr. W. Schepp)

**Olfaktorische Funktion bei Patienten mit Leberzirrhose und
hepatischer Enzephalopathie**

Eine prospektive klinisch experimentelle Studie

Anna Theresa Schmidt

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades
eines Doktors der Medizin genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. J. Schlegel

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. F. Gundling
 2. apl. Prof. Dr. B. Haslinger
-

Die Dissertation wurde am 20.03.2018 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 09.10.2018 angenommen.

INHALTSVERZEICHNIS

1	Abkürzungsverzeichnis	04
2	Einleitung.....	05
2.1	Definition der hepatischen Enzephalopathie.....	05
2.2	Pathophysiologie der hepatischen Enzephalopathie	05
2.3	Klinische Diagnostik zur Diagnosesicherung einer hepatischen Enzephalopathie.....	06
2.3.1	Allgemeine Diagnostik einer hepatischen Enzephalopathie.....	06
2.3.2	Besonderheit bei der Diagnostik einer minimalen hepatischen Enzephalopathie.....	06
2.4	Bisher vorliegende Studien zur Riechfunktion und Lebererkrankungen	07
3	Ziele	10
4	Patienten und Methoden	11
4.1	Patienten und Kontrollgruppe.....	11
4.1.1	Patienten.....	11
4.1.2	Kontrollgruppe.....	11
4.2	Methoden	13
4.2.1	Beurteilung des Schweregrads der Lebererkrankung mithilfe der Child-Pugh-Kriterien	13
4.2.2	Stadieneinteilung der hepatischen Enzephalopathie mithilfe der West-Haven-Kriterien (WHC).....	15
4.2.3	Stadieneinteilung der hepatischen Enzephalopathie mithilfe der kritischen Flimmerfrequenz (CFF).....	17
4.2.4	Testung der Riechfunktion mithilfe des Sniffin' Sticks Testsystems	20
4.2.5	Diagnostik von Komplikationen der Leberzirrhose mit Referenzverfahren.....	22
5	Datenanalyse und Statistik.....	23

6	Ergebnisse.....	24
6.1	Zusammenhang zwischen Riechfunktion und Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie	24
6.1.1	Einschätzung der hepatischen Enzephalopathie mithilfe der kritischen Flimmerfrequenz.....	24
6.1.2	Einschätzung der hepatischen Enzephalopathie mithilfe der West-Haven-Kriterien.....	25
6.1.3	Vergleich zwischen kritischer Flimmerfrequenz und West-Haven-Kriterien ...	26
6.2	Zusammenhang zwischen Riechfunktion und Plasma-Ammoniakspiegel	32
6.3	Zusammenhang zwischen Riechfunktion und Schweregrad der Lebererkrankung gemessen mit der Child-Pugh-Klassifikation	32
6.4	Zusammenhang zwischen Riechfunktion und Aszites.....	35
6.5	Zusammenhang zwischen Riechfunktion und portalem Hypertonus	35
7	Diskussion	39
7.1	Zusammenfassung der Hauptergebnisse.....	39
7.2	Zusammenfassung und Kritik bisher vorliegender Studien zur Riechfunktion bei hepatischer Enzephalopathie.....	39
7.3	Diskussion der Ergebnisse und Ausblick.....	42
8	Zusammenfassung.....	45
9	Tabellenverzeichnis	47
10	Abbildungsverzeichnis.....	48
11	Literaturverzeichnis.....	49
12	Danksagung	53

1 Abkürzungsverzeichnis

CFF	Critical flicker fusion frequency; kritische Flimmerfrequenz
CP-Score	Child-Pugh-Score; Child-Pugh-Kriterien
ISHEN	International Society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism
HE	Hepatische Enzephalopathie
PH	Portaler Hypertonus
PHES	psychometrischer hepatischer Enzephalopathie Score
SDI	Summe der Punktzahlen des Riechtests (S=Schwelle, D=Diskrimination, I= Identifikation)
WHC	West-Haven-Criteria; West-Haven-Kriterien

2 Einleitung

2.1 Definition der hepatischen Enzephalopathie

Die hepatische Enzephalopathie ist ein neuropsychiatrisches und potenziell reversibles Krankheitsbild wechselnder Schwere, welches im Sinne einer sekundären metabolischen Funktionsstörung des zentralen Nervensystems als Folge chronischer oder akuter Lebererkrankungen auftritt und zur Beeinträchtigung von Leistungsfähigkeit und Lebensqualität der Betroffenen führt. (Atluri et al. 2011)

2.2 Pathophysiologie der hepatischen Enzephalopathie

Die Pathogenese der hepatischen Enzephalopathie ist multifaktoriell und noch nicht vollständig geklärt. Es handelt sich um eine metabolisch induzierte primäre Störung der Gliazellfunktion, die nachfolgend neuronale Funktionen beeinträchtigt. Eine zentrale Rolle spielen ein erhöhter Ammoniakspiegel und Effekte weiterer neurotoxischer Substanzen wie beispielsweise Mangan und Tyramin. (Faraj et al. 1981) Diese akkumulieren aufgrund der verminderten Leberfunktion und veränderter zellulärer Transportmechanismen und führen im zentralen Nervensystem zu einer Astrozytenschwellung. Pathomorphologisch kommt es zu einer so genannten Alzheimer-Typ II-Degeneration der Astrozyten. (Butterworth et al. 1996)

Als weitere pathophysiologische Mechanismen werden eine verminderte Nervenleitung durch zirkulierende Aminosäuren, vermehrte Expression von Benzodiazepin- und GABA-Rezeptoren diskutiert, die zu Veränderungen von Neurotransmittern führen und das Gleichgewicht von exzitatorischen und inhibitorischen Mechanismen stören. Diese Hypothesen schließen einander nicht aus, sondern es ist wahrscheinlich, dass mehrere parallel ablaufende Pathomechanismen zur Symptomatik einer hepatischen Enzephalopathie führen. (Zucco et al. 2006)

2.3 Klinische Diagnostik zur Diagnosesicherung einer hepatischen Enzephalopathie

2.3.1 Allgemeine Diagnostik einer hepatischen Enzephalopathie

Aufgrund der Vielschichtigkeit des Krankheitsbildes stellt die Diagnosestellung im Alltag eine große Herausforderung dar. Diese erfolgt in erster Linie klinisch und variiert daher im Schweregrad aufgrund der subjektiven Einschätzung jedes einzelnen Untersuchers. Als Goldstandard haben sich die West-Haven-Kriterien (siehe Tabelle 3) etabliert, an Hand derer das Syndrom semiquantitativ in vier Stadien eingeteilt werden kann. Ergänzend wird eine umfassende neurologische und neuropsychiatrische Untersuchung mit Konzentration auf Bewusstsein, Orientierung, Denkleistung, Sensibilität und Motorik durchgeführt. Desweiteren werden Verhaltensauffälligkeiten, Störungen der Affektivität und des Biorhythmus evaluiert. Erschwert wird die Diagnosestellung häufig dadurch, dass die betroffenen Patientengruppen neurologische Auffälligkeiten durch Medikamenteneinnahme, Alkohol- und Drogenmissbrauch, Hyponatriämie oder psychiatrische Erkrankungen aufzeigen können. Erst nach nach differentialdiagnostischem Ausschluss anderer neurologischer Erkrankungen durch Labordiagnostik und radiologische Bildgebung kann mit Kenntnis der Patientengeschichte die Diagnose einer hepatischen Enzephalopathie als Ausschlussdiagnose gestellt werden. (Vilstrup et al. 2014, Ferenci et al. 1998)

2.3.2 Besonderheit bei der Diagnostik einer minimalen hepatischen Enzephalopathie

Während Patienten mit einer hepatischen Enzephalopathie im fortgeschrittenen Stadium bei oben genannter neurologischer Untersuchung auffällig werden, stellt die Diagnose einer niedriggradigen bzw. minimalen, subklinischen oder latenten hepatischen

Enzephalopathie eine besondere Herausforderung dar. Sie ist definiert als hepatische Enzephalopathie ohne offensichtliche neurologische Ausfallserscheinungen und kann demnach bei der neurologischen Untersuchung nicht erfasst werden. (Ferenci et al. 1998) Als Standard zur Diagnostik wird der PHES-Score empfohlen (PHES= psychometrischer hepatischer Enzephalopathie Score). Dessen Testbatterie beinhaltet fünf psychometrische Papier- und Bleistifttests, mit denen sowohl Geschwindigkeit und Präzision von feinmotorischen Bewegungsabläufen als auch die visuellräumliche Orientierung und die Konzentrationsfähigkeit unter zeitlichen Stressbedingungen quantifiziert werden können. (Zucco et al. 2006) Die ISHEN (International Society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism) empfiehlt mindestens zwei dieser Tests durchzuführen und durch eine neuropsychologische Untersuchung, wie beispielsweise durch ein EEG oder P300 evozierte Potentiale zu ergänzen. Aus der benötigten Zeit und Fehleranzahl wird eine Punktzahl errechnet und so eine minimale hepatische Enzephalopathie diagnostiziert. (Vilstrup et al. 2014)

2.4 Bisher vorliegende Studien zur Riechfunktion und Lebererkrankungen

Bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen können häufig Riechdefizite festgestellt werden. Im Folgenden soll ein Überblick über bisherige Studien gegeben werden, die diesen Zusammenhang untersuchten.

Bloomfeld et al. konnten 1999 bei einer kleinen Patientengruppe Zirrhosekranker eine Verbesserung der Chemosensorik nach orthotoper Lebertransplantation feststellen, indem sie vor und nach der Transplantation die Wahrnehmungsschwelle für Dufterkennung und Dufterinnerung bestimmten. (Bloomfeld et al. 1999)

Da Patienten mit Leberzirrhose oft einen Mangel an Proteinen, Kalorien und Mikronährstoffen durch einen fortschreitenden Verlust an Fett und Muskelmasse aufzeigen,

könnte Mangelernährung zur Riechverschlechterung im Endstadium von Lebererkrankungen beitragen. (Gundling et al. 2009)

Garret-Laster et al. untersuchten Geschmack und Riechvermögen in Abhängigkeit von der Vitamin A Zufuhr bei Patienten mit äthyltoxischer Zirrhose. Hierbei zeigten erkrankte Personen eine signifikant höhere Erkennungsschwelle für unterschiedliche Testsubstanzen als eine gesunde Kontrollgruppe. Als Ursache hierfür können teilweise ein Mangel an Vitaminen und Spurenelementen angenommen werden, da sich die Erkennungsschwellen für bitteren und salzigen Geschmack nach Vitamin A Gabe signifikant verbesserten. (Garret-Laster et al. 1984)

In einer Studie von Madden et al. schnitten Patienten mit Leberzirrhose bei einem Geschmackstest deutlich schlechter ab als eine gesunde Kontrollgruppe und sie zeigten eine erhöhte Wahrnehmungsschwelle, Geschmacksstoffe richtig zu erkennen und sich an Geschmacksstoffe zu erinnern. Weiterhin konnten Madden et al. einen Zusammenhang zwischen einer Verschlechterung des Geschmackssinns und Hypomagnesiämie herstellen. Da nahezu bei jedem Leberzirrhosekranken eine Mangelernährung aufgrund von Proteinverlust durch Parazentese und langer Proteinrestriktion vorliegt, sollte eine suffiziente enterale Ernährung gewährleistet werden, sobald Patienten von einer schlechteren Geruchswahrnehmung berichten. (Madden et al. 1997)

Burch et al. testeten die gustatorische und olfaktorische Funktion bei Patienten mit Leberzirrhose, indem sie verschiedene Konzentrationen von Saccharose und Natriumchlorid verwendeten. Patienten mit Zirrhose zeigten hier Defizite auf im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe. Ein Zusammenhang zwischen einem Mangel an Spurenelementen bzw. Mikronährstoffen und Verschlechterung der Wahrnehmung der Testsubstanzen konnte nicht gefunden werden. (Burch et al. 1978)

Temmel et al. zeigten 2005, dass Leberzirrhosekranke Defizite bei Dufterkennung aufzeigen, jedoch nicht bei der Geruchswahrnehmungsschwelle oder Duftunterscheidung. (Temmel et al. 2005)

Zucco et al. führten 2006 eine Studie mit Patienten mit minimaler hepatischer Enzephalopathie durch, bei der sowohl Dufterkennung und Duftidentifikation Abnormalitäten aufzeigten. (Zucco et. al 2006)

3 Ziele

Bisher hat sich keine Studie mit olfaktorischen Defiziten bei unterschiedlichen Schweregraden der hepatischen Enzephalopathie beschäftigt. Vor diesem Hintergrund planen wir in der Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Gastroenterologische Onkologie im Städtischen Klinikum München Bogenhausen eine Pilotstudie, die diesen Zusammenhang untersuchen sollte.

Folgende Fragen sollten geklärt werden:

- Besteht ein Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und dem Schweregrad einer hepatischen Enzephalopathie?
- Besteht ein Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und dem Schweregrad der Leberzirrhose?
- Besteht ein Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und der Ätiologie der Leberzirrhose?
- Besteht ein Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und den Komplikationen der Leberzirrhose, wie z.B. Aszites oder portalem Hypertonus?

4 Patienten und Methoden

4.1 Patienten und Kontrollgruppe

4.1.1 Patienten

Insgesamt konnten 54 Patienten mit Leberzirrhose (33 Männer und 21 Frauen) mit einem mittleren Alter (Streubreite) von 60,8 (33-80) Jahren in die Auswertung einbezogen werden. Diese wurden zwischen April 2011 und Dezember 2012 in der Abteilung für Gastroenterologie, Hepatologie und gastrointestinale Onkologie im Klinikum Bogenhausen, München, behandelt. Die Mehrzahl der Patienten waren deutscher Abstammung und im Umkreis des Klinikums wohnhaft. Grund der stationären Aufnahme war meistens eine akute Dekompensation der Lebererkrankung aufgrund von Aszites.

Ursache der Lebererkrankung waren Alkoholabusus in 74,1% (40/54), Hepatitis C in 9,3% (5/54), Hepatitis B in 3,7% (2/54), Autoimmunhepatitis in 1,9% (1/54) und andere in 11% (6/54). Die Charakteristika aller Patienten und der Kontrollgruppe sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

4.1.2 Kontrollgruppe

Als Kontrollgruppe stellten sich 43 Personen (21 Männer und 22 Frauen) mit einem mittleren Alter (Streubreite) von 43,9 (31-75) Jahren aus der Abteilung für Otorhinolaryngologie, Kopf- und Halschirurgie, Technische Universität München, München - überwiegend aus Bereichen der Ohren- und Halschirurgie - zur Verfügung. Sie waren weder an einer Leberzirrhose erkrankt noch litten sie unter Riechstörungen.

Personen nach Nasenoperationen oder mit bekannten Riech- oder Geschmacksstörungen, nasalen Abnormitäten wie Schleimhautentzündung, Septumdeviationen, Polypen und übermäßigem Nasentropfenkonsum wurden von der Studie ausgeschlossen. Allen

Probanden wurde das Studienprotokoll, genehmigt vom Ethikkomitee der Bayerischen Landesärztekammer und streng in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki, mündlich und schriftlich vorgestellt.

Tabelle 1 Klinische Charakteristika aller Patienten und der Kontrollgruppe

	Patienten	Kontrollgruppe
n	54	43
Geschlecht (m/w)	33/21	21/22
Alter (Durschnitt)*	60,8	43,9
Ätiologie der Zirrhose		
a) Alkoholabusus	40/54	-
b) Hepatitis B	2/54	-
c) Hepatitis C	5/54	-
d) Autoimmunhepatitis	1/54	-
e) andere	6/54	-

*Patienten SD 10,73 Jahre; Altersspanne 33-80

Kontrollgruppe SD 12,3 Jahre; Altersspanne 31-75

4.2 Methoden

4.2.1 Beurteilung des Schweregrads der Lebererkrankung mithilfe der Child-Pugh-Kriterien

Die Leberzirrhose wurde entweder durch Histologie oder klinische, sonographische und labortechnische Befunde bzw. durch radiologische Befunde gesichert, die eine reduzierte Leberfunktion und eventuell einen portalen Hypertonus aufzeigten.

Das gesamte ätiologische Spektrum der Leberzirrhose konnte eingeschlossen werden. Um den Schweregrad der Lebererkrankung zu beurteilen, wurde mithilfe der Child-Pugh-Kriterien ein Punktwert für jeden Patienten berechnet. Hierbei wird anhand von fünf Kriterien (drei Laborwerte und zwei klinische Befunde) eine Gesamtpunktzahl erstellt, wobei jeweils 1-3 Punkte vergeben werden, so dass ein Punktwert von 5 bis 15 erreicht werden kann. Es werden drei Schweregrade unterschieden - Child A, B und C - wobei mit steigender Punktzahl die Schwere der Erkrankung zunimmt und sich die Prognose verschlechtert. (Child and Turcotte 1964; Pugh et al. 1973) Die Child-Pugh-Klassifikation ist in Tabelle 2 dargestellt.

Bei der gesunden Kontrollgruppe wurde eine Leberzirrhose mithilfe der oben genannten Verfahren ausgeschlossen.

Tabelle 2 **Einschätzung der Schwere der Lebererkrankung mithilfe des Child-Pugh-Scores (Child and Turcotte 1964; Pugh et al. 1973)**

	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte	Einheit
Serum-Bilirubin (ges)	<2,0	2,0-3,0	>3,0	mg/dl
Serum-Albumin	>3,5	2,8-3,5	<2,8	g/dl
Quick-Wert	>70	40-70	<40	%
Aszites im Ultraschall	keiner	leicht	mittelgradig	
HE	keine	Stadium I-III	Stadium III-IV	

Punkte	Stadium	5-Jahres-Überlebensrate
5-6	Child A	44 %
7-9	Child B	21 %
10-15	Child C	20 %

4.2.2 Stadieneinteilung der hepatischen Enzephalopathie mithilfe der West-Haven-Kriterien

Zur Einschätzung des Schweregrads der hepatischen Enzephalopathie wurden die West-Haven-Kriterien (WHC) und die kritische Flimmerfrequenz (CFF) verwendet. Die West-Haven-Kriterien unterteilen das Syndrom der hepatischen Enzephalopathie klinisch in vier Stadien. Evaluiert werden Bewusstsein, Intellekt und Verhalten sowie neurologische Symptome. Diese beschreiben eine Spannweite der Symptomatik von leichter kognitiver Beeinträchtigung bis zum hepatischen Koma (siehe Tabelle 3).

Die minimale hepatische Enzephalopathie wird den vier Stadien der West-Haven-Kriterien als „Stadium 0“ beigelegt. (Conn et al. 1993)

In unserer Studie teilten wir die hepatische Enzephalopathie in eine niedriggradige Form (Stadium I der West-Haven-Kriterien) und eine hochgradige Form ($>$ Stadium I der West-Haven-Kriterien) ein, wobei Stadium $<$ I der West-Haven-Kriterien eine manifeste hepatische Enzephalopathie ausschloss.

Tabelle 3 West-Haven-Kriterien, modifiziert nach Conn et al. 1993

	Bewusstseinslage	neuropsychiatrische Symptome	neurologische Symptome
Stadium 0=MHE	normal	Störungen nur durch psychometrische Tests zu erfassen	Keine
Stadium I	leichtgradige mentale Verlangsamung	Eu-/Dysphorie, Reizbarkeit und Angst, reduzierte Aufmerksamkeit	gestörte Feinmotorik (beeinträchtigt Schreibvermögen, Fingertremor)
Stadium II	verstärkte Müdigkeit, Apathie oder Lethargie	leichte Persönlichkeitsstörung, minimale Desorientiertheit bzgl. Ort und Zeit	Flapping-Tremor, Ataxie, verwaschene Sprache
Stadium III	Somnolenz	Aggressivität, ausgeprägte Desorientiertheit bzgl. Ort und Zeit	Rigor, Krämpfe, Asterixis
Stadium IV	Koma	-	Hirndruckzeichen

4.2.3 Stadieneinteilung der hepatischen Enzephalopathie mit kritischer Flimmerfrequenz

Eine neue diagnostische Option zur Optimierung der Schweregraduierung einer hepatischen Enzephalopathie ist die Flimmerfrequenzanalyse (CFF = critical flicker fusion frequency). Hierbei wird die visuelle Diskriminationsfähigkeit zwischen Gleichlicht und Flimmern gemessen. Für die Untersuchung blickt der Patient durch ein spezielles Gerät und sieht zunächst ein hochfrequentes Licht, das er als Dauerlicht wahrnimmt. Daraufhin wird sukzessive die Frequenz reduziert, bis für den Patienten ein Flimmern sichtbar wird. Studien konnten zeigen, dass Patienten mit einer hepatischen Enzephalopathie - gemessen mit psychometrischen Tests - eine niedrigere kritische Flimmerfrequenz aufzeigen als gesunde Probanden oder Patienten mit einer Leberzirrhose ohne Anhalt für eine hepatische Enzephalopathie. Desweiteren verringert sich die kritische Flimmerfrequenz mit zunehmendem Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie. (Kircheis et al. 2002) Da diese Technik weder von Untersucher, Alter, Bildung, Tageszeit noch Lerneffekt beeinflusst wird, ermöglicht sie eine objektive und reproduzierbare Untersuchungsmethode insbesondere einer minimalen hepatischen Enzephalopathie mit einer Sensitivität von 98% und einer Spezifität von 94%. (Kircheis et al. 2014)

Die Flimmerfrequenzanalyse soll in dieser Arbeit als objektives Testverfahren - ergänzend zu den klinischen West-Haven-Kriterien - zur Schweregraduierung einer hepatischen Enzephalopathie eingesetzt werden. Die kritische Flimmerfrequenz wurde in einem ruhigen, abgedunkelten Raum ohne Störgeräusche gemessen. Wir verwendeten ein tragbares, batteriebetriebenes Analysegerät (Hepatonorm TM Analyzer, Abteilung für Gastroenterologie, Hepatologie, Infektiologie, Heinrich Heine Universität Düsseldorf, Düsseldorf, Deutschland) (siehe Abbildung 1). Das Messgerät erzeugt einen intrafovealen Lichtstimulus mit einer Wellenlänge von 650 nm, einer Leuchtkraft von 270 cm/m² und einer Lichtintensität von 5,3 mcd. Man beginnt mit einem hochfrequenten rotem Licht (60 Hz), so dass der Patient den Eindruck eines Dauerlichts erhält. Danach

wird die Frequenz stetig so lange reduziert, bis der Patient den Eindruck hat, das Dauerlicht hat sich in ein Flimmern verwandelt. Der Patient wurde angewiesen, einen Knopf zu drücken, wenn ihm diese Veränderung aufgefallen war. Es erfolgten mindestens fünf Wiederholungen dieses Versuchsablaufs, um sicherzustellen, dass der Patient das Procedere verstanden hat. Danach wurde der Versuch mit neun Wiederholungen durchgeführt und es konnten aus den Ergebnissen die Mittelwerte für jeden Patienten berechnet werden.

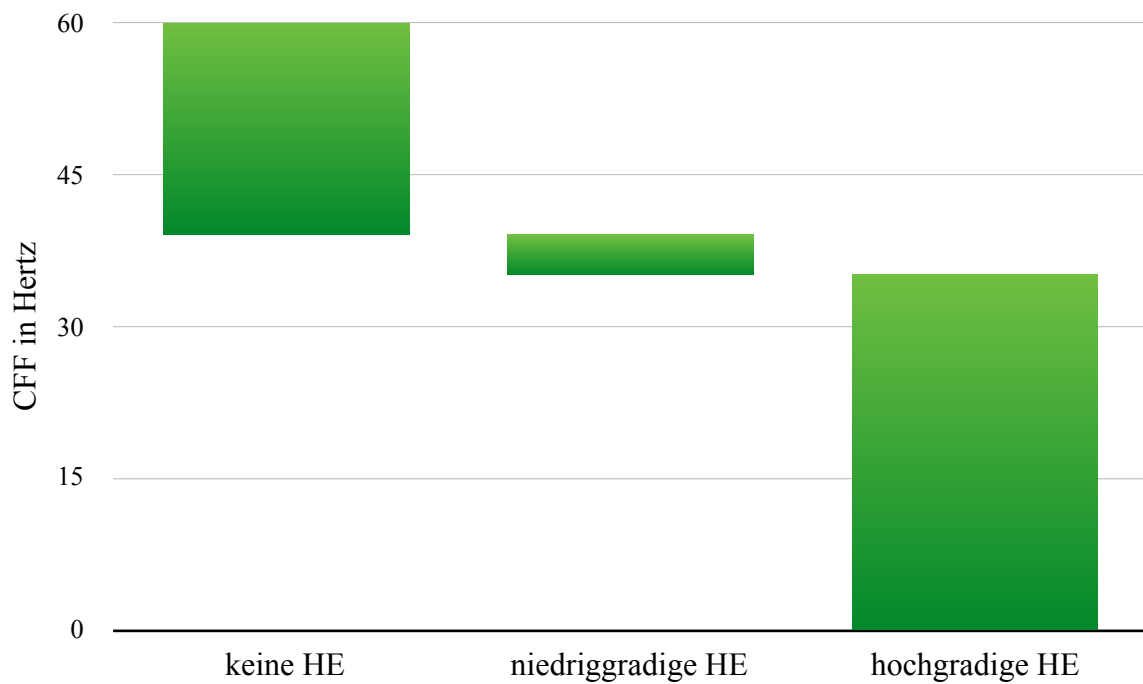
Bisher konnte kein einheitlicher Schwellenwert für eine abnormale kritische Flimmerfrequenz festgelegt werden. In der Pilotstudie von Kircheis et al. wurde die Grenze bei 39 Hz festgelegt, um gesunde Probanden von Patienten mit Leberzirrhose und hepatischer Enzephalopathie zu unterscheiden. (Kircheis et al. 2007) Romero-Gomez et al. erzielten bei 38 Hz die beste Sensitivität und Spezifität. (Romero-Gomez et al. 2007) Um einen Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie und den kritischen Flimmerfrequenzen herzustellen, ist es nötig, die einzelnen Schweregrade der hepatischen Enzephalopathie nach Flimmerfrequenzen einzuteilen. Kircheis et al. erhoben eine kritische Flimmerfrequenz von $36.0 \pm 1,4$ Hz für Patienten mit einer hepatischen Enzephalopathie im Stadium I (bestimmt anhand der West-Haven-Kriterien), von 32.1 ± 2.7 Hz mit einer hepatischen Enzephalopathie im Stadium II und von < 30 Hz mit einer hepatischen Enzephalopathie im Stadium III. (Kircheis et al. 2007)

In unserer Studie wurde die hepatische Enzephalopathie in eine niedriggradige Form ($35 \text{ Hz} \geq \text{CFF} \leq 39 \text{ Hz}$) und in eine hochgradige Form (durchschnittliche $\text{CFF} \leq 35 \text{ Hz}$) unterteilt, wobei eine durchschnittliche Flimmerfrequenz von $>39 \text{ Hz}$ eine hepatische Enzephalopathie ausschloss (siehe Abbildung 2).

Abbildung 1 CFF Methode, Hepatonorm Analyser (<http://www.nevolab.de>)



Abbildung 2 Einteilung der hepatischen Enzephalopathie nach kritischer Flimmerfrequenz



4.2.4 Testung der Riechfunktion mithilfe des Sniffin' Sticks Testsystems

Um die Riechfunktion der Patienten mit hepatischer Enzephalopathie zu messen, verwendeten wir den Sniffin' Sticks Test (Burghard Messtechnik). Hierbei werden der Versuchsperson Duftstoffe in filzstiftähnlicher Form angeboten. Sie bestehen aus einer Plastikhülle, in welcher sich ein mit Duftstoff getränkter Tampon befindet. Der vordere Teil gibt den Duftstoff über eine Filzspitze frei. Um die Duftstoffe zu präsentieren, wird die Stiftkappe entfernt und der Stift mit der Filzspitze dem Probanden für circa drei Sekunden in ungefähr zwei Zentimeter Abstand vor beide Nasenlöcher gehalten. Danach wird die Verschlusskappe wieder auf den Stift gesetzt und somit einer Kontamination und einer Austrocknung der Substanzen vorgebeugt. (Hummel et al. 1997)

Alle Patienten nahmen mit verbundenen Augen an dem Test teil. Es wurden sowohl Wahrnehmungsschwelle (S=Schwelle), Duftunterscheidung (D=Diskrimination) und Dufterkennung (I=Identifikation) getestet.

Um die Riechschwelle der Patienten und Kontrollgruppe zu bestimmen, wurde die Verdünnungsstufe von n-Butanol ermittelt, bei der der Geruch gerade eben von nicht-riechenden Proben unterschieden werden konnte. Jeder Versuchsperson wurden drei Stifte in einer zufälligen Reihenfolge dargeboten. Zwei der Stifte enthielten nichts und der dritte enthielt n-Butanol in einer bestimmten Konzentration. Wir begannen mit der niedrigsten Konzentration von n-Butanol und erhöhten die Konzentration so lange, bis der Proband den Stift mit n-Butanol zweimal richtig identifizierte. Nach einer richtigen Identifikation wurden immer niedrigere Konzentrationen von n-Butanol dargeboten, bis die Versuchsperson den Stift, der n-Butanol enthielt, nicht mehr identifizieren konnte. Danach erhöhten wir wiederum die Konzentration von n-Butanol, um uns durch die Wendepunkte der Riechschwelle zu nähern. Dieses Procedere wurde insgesamt sieben Mal durchgeführt und die letzten vier von sieben Wendepunkten wurden als Schwellenwert definiert.

Zur Duftunterscheidung wurden dem Probanden Stifte in Dreiergruppen in zufälliger Reihenfolge dargeboten. Zwei Stifte enthielten den selben Duftstoff, der Dritte enthielt einen anderen. Die Probanden mussten den anders riechenden Stift identifizieren. Insgesamt wurden 16 Dreierpaare getestet.

Zur Duftidentifikation verwendeten wir 16 alltägliche Duftstoffe. Bei jedem Stift musste der Proband den richtigen Duftstoff aus einer Liste von vier Antwortmöglichkeiten auswählen. Die korrekten Antworten wurden zusammengezählt.

Sowohl für die Riechschwelle als auch für die Duftunterscheidungs- und Duftidentifikationsfähigkeit wurde für jede Versuchsperson ein Punktwert von 0 bis 16 berechnet, wobei eine hohe Punktzahl bei einer guten Riechfunktion erreicht werden konnte. Die Summe dieser drei Punktzahlen (SDI) ermöglicht eine quantitative Einschätzung der Riechfunktion, mithilfe derer die Riechfunktion in drei Grade eingeteilt wird. (Wolfensberger et al. 2000) Die Maximalpunktzahl beträgt 48 Punkte. Dabei wird bei einem Wert von über 30 eine Normosmie, also ein normales Riechverhalten diagnostiziert. Ein Wert von 15,5 bis 30 bezeichnet eine Hyposmie, den nur unvollständigen Verlust des Geruchssinns, wohingegen ein Wert von 15 und weniger für eine funktionelle Anosmie im Sinne eines kompletten Riechverlustes bzw. eines extrem abgeschwächten Riechvermögens spricht (siehe Tabelle 4). (Hummel et al. 1997, Kobal et al. 2000)

Der Sniffin' Sticks Test ist ein international gültiges Diagnostikum für Riechdefizite und wurde bereits an einer großen Zahl von Patienten und gesunden Kontrollpersonen getestet. (Hummel et al. 2003)

Tabelle 4 Einteilung der Riechfunktion mithilfe des SDI-Wertes

	SDI
Normosmie	>30
Hyposmie	15,5 - 30,0
Anosmie	≤15

4.2.5 Diagnostik von Komplikationen der Leberzirrhose mit Referenzverfahren

Zur Detektion von Komplikationen der Leberzirrhose verwendeten wir im klinischen Alltag gängige diagnostische Verfahren. So wurden alle Patienten sonographisch und radiologisch auf Aszites und Hinweise auf portalen Hypertonus untersucht. Ebenso wurde bei 26 unserer Patienten laborchemisch der Ammoniakspiegel bestimmt.

5 Datenanalyse und Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe des Programms SPSS (Statistical Packages for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago IL. USA). Absolute und relative Häufigkeit olfaktorischer Defizite wurden bei Patienten und Kontrollgruppe bestimmt. Für die erhobenen Daten wurden Mittelwert und Standardabweichung oder Median und erstes und drittes Quartil erfasst. Für Vergleiche zwischen den Gruppen wurde der Chi-Quadrat-Test angewandt. Zum Vergleich der SDI-Werte verwendeten wir den Mann-Whitney-U-Test, da eine schiefe Verteilung der SDI-Werte beobachtet werden konnte. Alle statistischen Tests wurden für beide Gruppen durchgeführt. Es wurde ein Signifikanzlevel von 0,05 festgesetzt.

6 Ergebnisse

6.1 Zusammenhang zwischen Riechfunktion und Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie

Als ersten Punkt prüften wir, ob ein Zusammenhang zwischen der Riechfunktion und dem Schweregrad einer hepatischen Enzephalopathie besteht. Hierfür wurde bei jedem Patienten zunächst der Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie bestimmt. Zur Einschätzung der hepatischen Enzephalopathie verwendeten wir dabei zwei unterschiedliche Testverfahren, nämlich die technisch objektive kritische Flimmerfrequenzmethode und die klinischen West-Haven-Kriterien. Die Messergebnisse aller Patienten sind in Tabelle 5 dargestellt.

6.1.1 Einschätzung der hepatischen Enzephalopathie mithilfe der kritischen Flimmerfrequenz

Klassifizierten wir die hepatische Enzephalopathie mithilfe der kritischen Flimmerfrequenz (CFF), so wurden eine niedriggradige hepatische Enzephalopathie bei 48,1% (26/54) der Patienten und eine hochgradige hepatische Enzephalopathie bei 13,0% (7/54) der Patienten diagnostiziert. Bei 38,9% (21/54) konnte eine hepatische Enzephalopathie ausgeschlossen werden (siehe Abbildung 3).

Bei Patienten mit niedriggradiger hepatischer Enzephalopathie (n=26) wurde eine Hyposmie bei 65,4% (17/26) und eine Anosmie bei 3,8% (1/26) beobachtet. Eine Normosmie konnte bei 30,8% (8/26) der Patienten festgestellt werden. Bei Patienten mit hochgradiger hepatischen Enzephalopathie wurde eine Hyposmie bei 85,7% (6/7) und eine Anosmie bei 14,2% (1/7) diagnostiziert, wobei kein Patient eine Normosmie aufwies (siehe Abbildung 5).

Konnte eine hepatische Enzephalopathie mithilfe der kritischen Flimmerfrequenz ausgeschlossen werden, so fand sich bei bei 66,7% (14/21) der Patienten eine Normosmie, während eine Anosmie bei dieser Gruppe nicht vorkam.

Somit konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen Riechdefiziten und dem Schweregrad einer hepatischen Enzephalopathie gemessen mithilfe der kritischen Flimmerfrequenz hergestellt werden ($p < 0,01$) (siehe Abbildungen 5-7).

6.1.2 Einschätzung der hepatischen Enzephalopathie mithilfe der West-Haven-Kriterien

Wenn man die hepatische Enzephalopathie anhand der klinischen West-Haven-Kriterien einstuft, wurde bei 44,4% der Patienten (24/54) eine niedriggradige hepatische Enzephalopathie und bei 11,1 % (6/54) eine hochgradige hepatische Enzephalopathie diagnostiziert, während 44,4% der Patienten (24/54) als asymptomatisch klassifiziert wurden (siehe Abbildung 4).

Bei Patienten mit niedriggradiger hepatischer Enzephalopathie wurde bei 58,3% (14/24) eine Hyposmie und bei 41,7% (10/24) eine Normosmie festgestellt, wohingegen keine Anosmie bei dieser Patientengruppe gefunden werden konnte.

Bei Patienten mit hochgradiger hepatischer Enzephalopathie zeigten alle olfaktorische Defizite auf. Hyposmie wurde bei 83,3% (5/6) und Anosmie bei 16,7% (1/6) dieser Patienten gefunden.

Bei Patienten ohne manifeste hepatische Enzephalopathie zeigten 50% (12/24) eine Normosmie, 45,8% eine Hyposmie (11/24) und 4,2% (1/24) eine Anosmie. Es gibt folglich einen Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und dem Schweregrad einer hepatischen Enzephalopathie - gemessen mithilfe der West-Haven- Kriterien. Jedoch ist er statistisch nicht signifikant ($p = 0,097$) (siehe Abbildung 8).

6.1.3 Vergleich zwischen kritischer Flimmerfrequenz und West-Haven-Kriterien

Bei 72% der Patienten (39/54) konnte mithilfe der West-Haven-Kriterien und der kritischen Flimmerfrequenz derselbe Schweregrad einer hepatischen Enzephalopathie bestimmt werden. Von diesen Patienten zeigten 100% der Patienten (1/1) mit einer hochgradigen hepatischen Enzephalopathie eine Anosmie, diejenigen mit einer niedriggradigen hepatischen Enzephalopathie in 65% der Fälle (13/20) eine Hyposmie und in 35% der Fälle (7/20) eine Normosmie.

Bei 28% der Patienten (15/54) stimmten die Ergebnisse der West-Haven-Kriterien und der kritischen Flimmerfrequenz nicht überein. Bei 46 % dieser Patienten (7/15) wies die kritische Flimmerfrequenz eine niedriggradige hepatische Enzephalopathie auf, die West-Haven-Kriterien jedoch nicht. Bei diesen trat eine Anosmie bei 14% (1/7), eine Hyposmie bei 29% (2/7) und eine Normosmie bei 57% (4/7) auf. Wenn man die hochgradige hepatische Enzephalopathie ausschließlich mithilfe der kritischen Flimmerfrequenz bestimmte, konnte bei 20% (3/15) eine hochgradige hepatische Enzephalopathie festgestellt werden. Alle drei Patienten zeigte eine Hyposmie auf (100%). Bei den Patienten, bei denen die West-Haven-Kriterien eine niedriggradige hepatische Enzephalopathie diagnostizierten, die kritische Flimmerfrequenz jedoch nicht, nämlich bei 13% der Patienten (2/15), konnte eine Normosmie nachgewiesen werden. Darüber hinaus konnte bei den Patienten, die nur bei nach West-Haven-Kriterien eine hochgradige hepatische Enzephalopathie aufzeigen, also bei 20% der Patienten (3/15) eine Hyposmie in 100% der Fälle gezeigt werden.

Abbildung 3 Einstufung der HE mithilfe der CFF

● niedriggradige HE ● keine HE ● Hochgradige HE

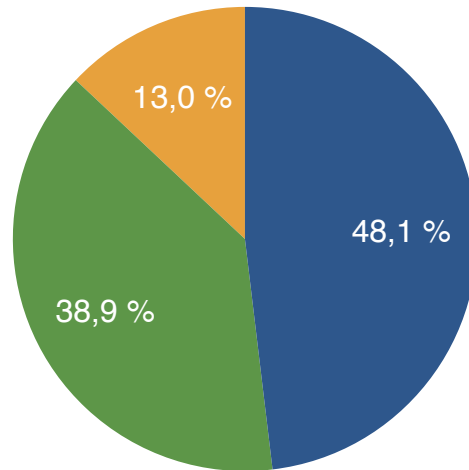


Abbildung 4 Einstufung der HE mithilfe der WHC

● niedriggradige HE ● keine HE ● Hochgradige HE

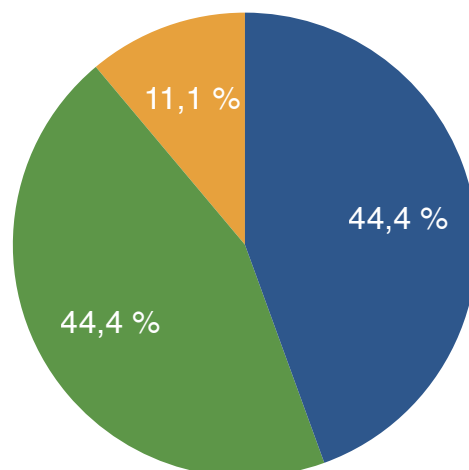


Abbildung 5 Zusammenhang zwischen hepatischer Enzephalopathie - gemessen mit der CFF-Methode - und der Riechfunktion bei Patienten mit Leberzirrhose

Es besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und einer HE gemessen mithilfe der CFF-Methode (n=54; p= 0,008)

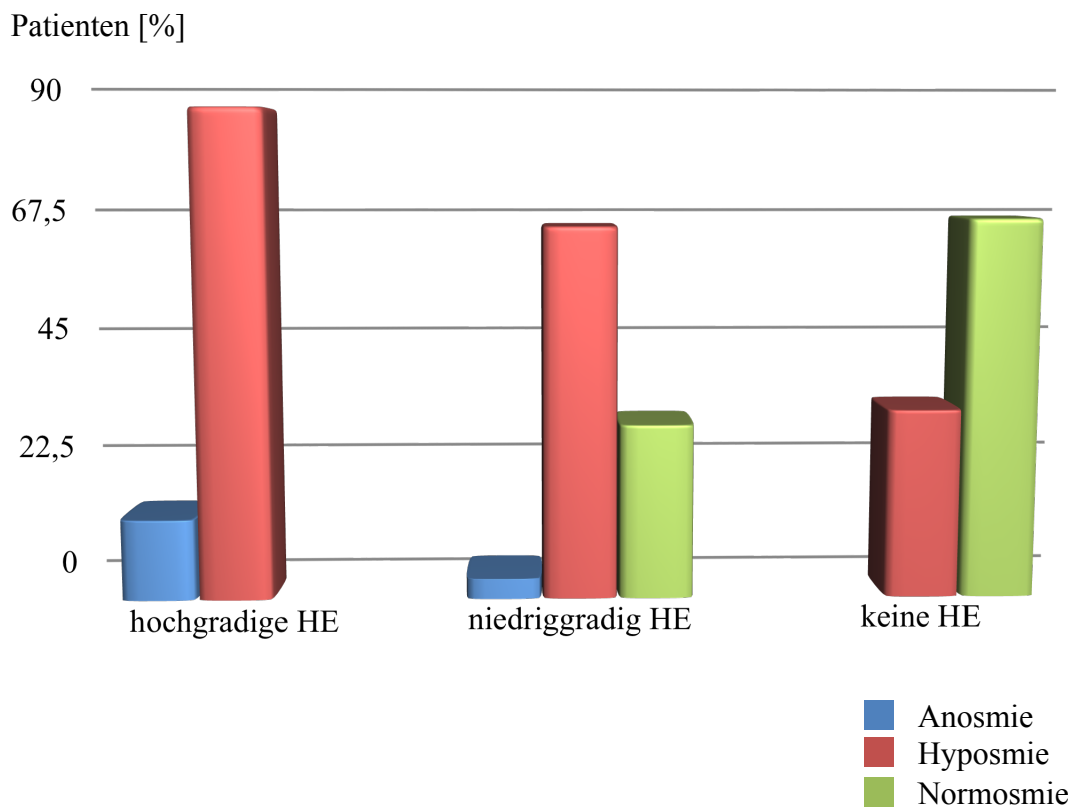


Abbildung 6 Zusammenhang zwischen der kritischen Flimmerfrequenz (CFF) und der Riechfunktion als Boxplot-Graph

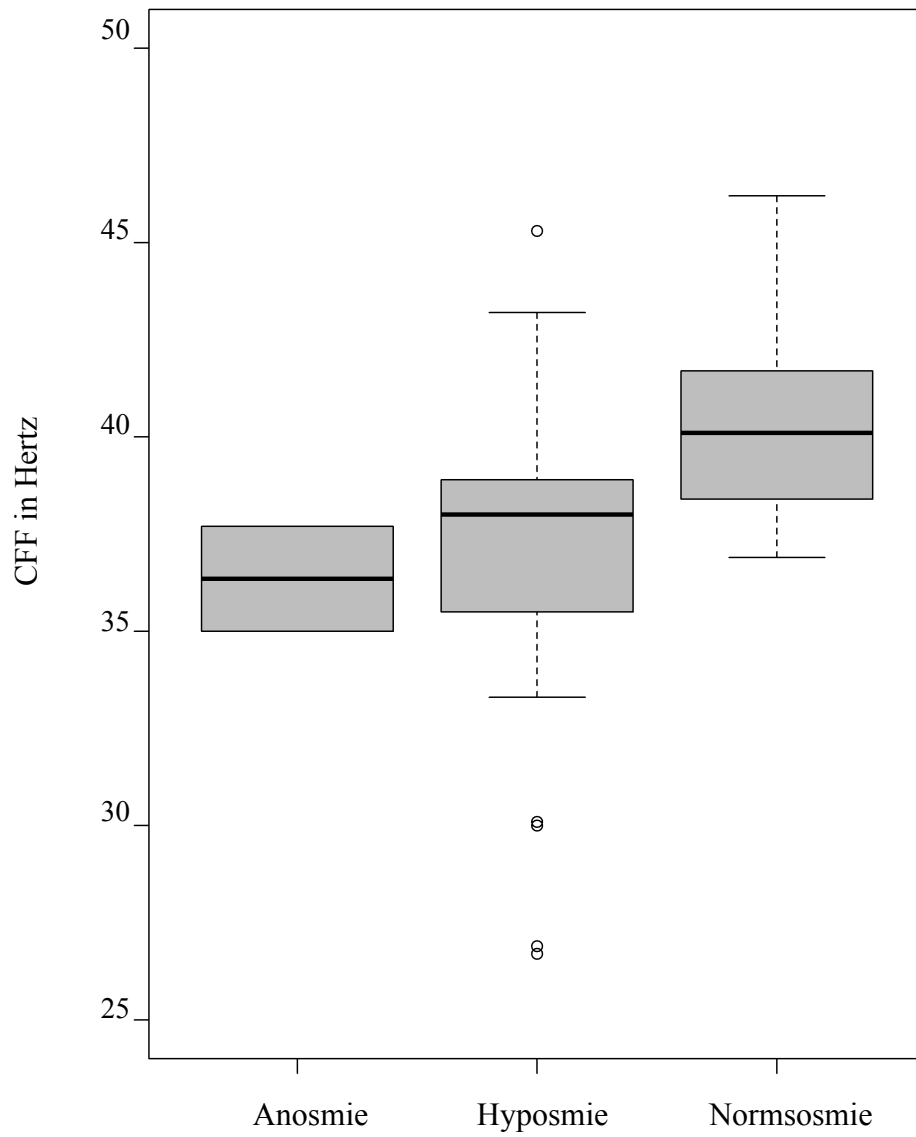


Abbildung 7 Zusammenhang zwischen der kritischen Flimmerfrequenz (CFF) und der Riechfunktion mittels Standardabweichung

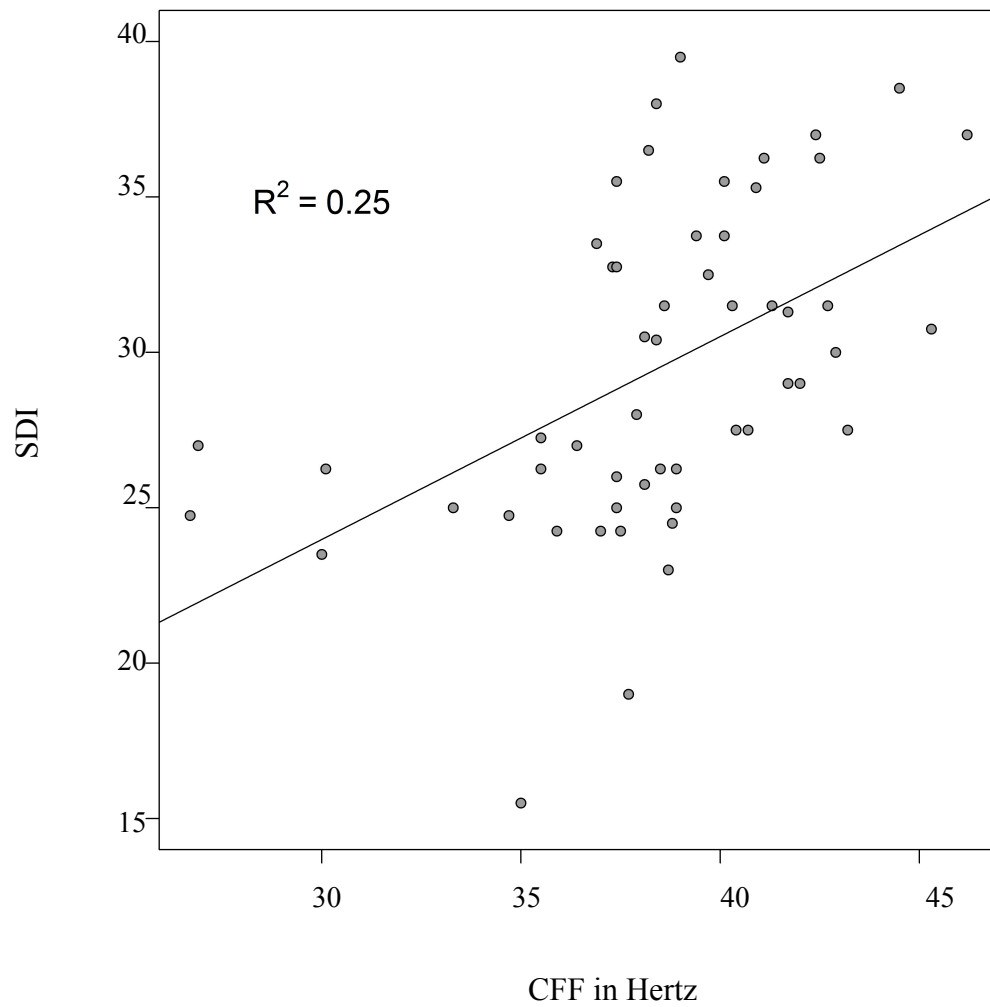
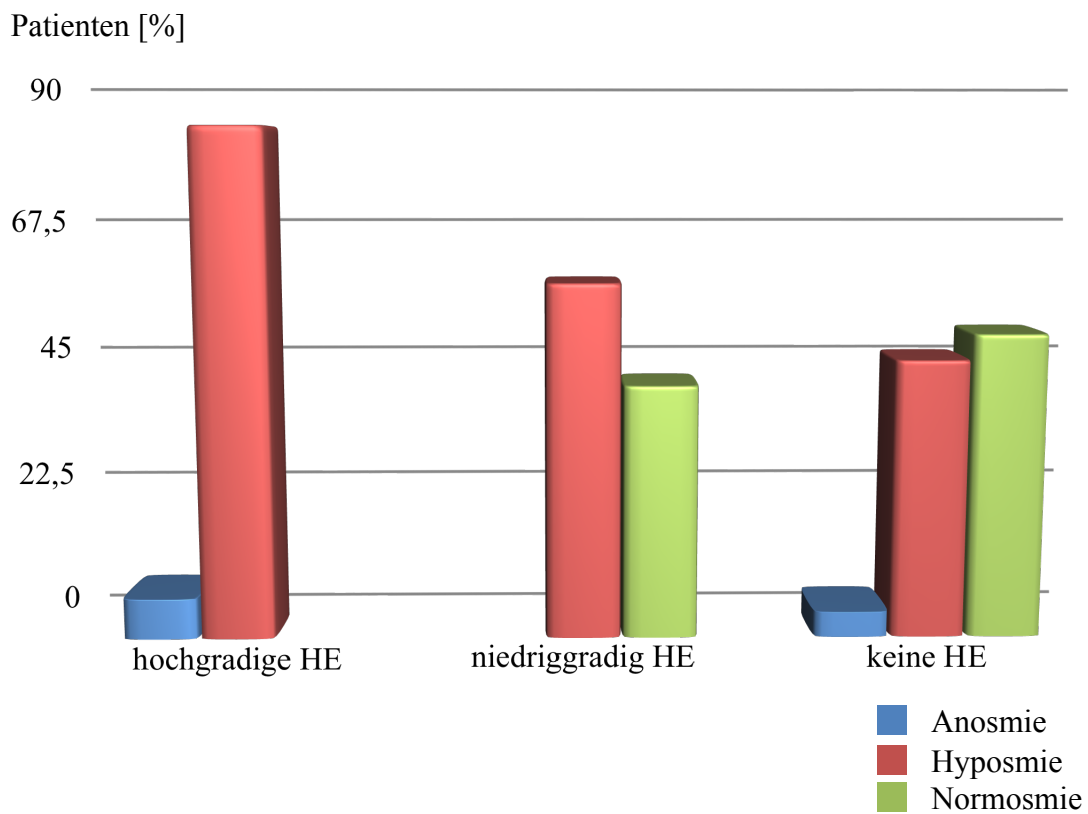


Abbildung 8 Zusammenhang zwischen hepatischer Enzephalopathie - gemessen mit den West-Haven-Kriterien - und der Riechfunktion bei Patienten mit Leberzirrhose. Es besteht ein statistisch nicht signifikanter Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und dem Schweregrad der HE gemessen mithilfe der West-Haven-Kriterien (n=54; p=0,097)



6.2 Zusammenhang zwischen Riechfunktion und Plasma-Ammoniakspiegel

Venöse Blutproben zur Bestimmung des Plasma-Ammoniakspiegels wurden von 26 unserer Patienten entnommen. 87,5 % der Patienten (7/8) mit erhöhtem Plasma-Ammoniakspiegel zeigten Defizite beim Riechtest. Jedoch wurde auch bei 50% der Patienten (9/18) mit normalem Ammoniakspiegel eine Anosmie oder Hyposmie diagnostiziert. Daher konnte der Zusammenhang zwischen Riechfunktion und Plasma-Ammoniakspiegel als nicht signifikant gewertet werden ($p=0,119$) (siehe Abbildung 9).

6.3 Zusammenhang zwischen Riechfunktion und Schweregrad der Lebererkrankung gemessen mithilfe der Child-Pugh-Klassifikation

Klassifiziert man die Schwere der Lebererkrankung mithilfe der Child-Pugh-Kriterien (CP-Score), konnte bei 50% aller Child A Patienten (6/12) eine Normosmie und bei den übrigen 50% eine Hyposmie beobachtet werden, wohingegen keiner dieser Patienten eine Anosmie aufzeigte.

Bei Patienten mit Leberzirrhose im Stadium Child B wurden bei 8,7% der Patienten (2/23) eine Anosmie, bei 60,9 % (14/23) eine Hyposmie und bei 30,4 % (7/23) eine Normosmie festgestellt.

Bei Patienten mit Leberzirrhose im Stadium Child C zeigte keiner der Patienten eine Anosmie, bei 52,6% dieser Patienten (10/19) konnte eine Hyposmie und bei 47,4 % (9/19) eine Normosmie diagnostiziert werden.

Jedoch war der Zusammenhang zwischen Child-Pugh-Score und Riechdefiziten nicht signifikant ($p=0,41$) (siehe Abbildung 10). Zusätzlich konnte beobachtet werden, dass sich mit zunehmendem Schweregrad der Leberzirrhose die Duftidentifikation, jedoch nicht die Riechschwelle oder Duftunterscheidung verschlechterten.

Abbildung 9 Zusammenhang zwischen Plasma-Ammoniakspiegel und der Riechfunktion. Es besteht ein statistisch nicht signifikanter Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und Plasma-Ammoniakspiegel (n=26; p=0,119)

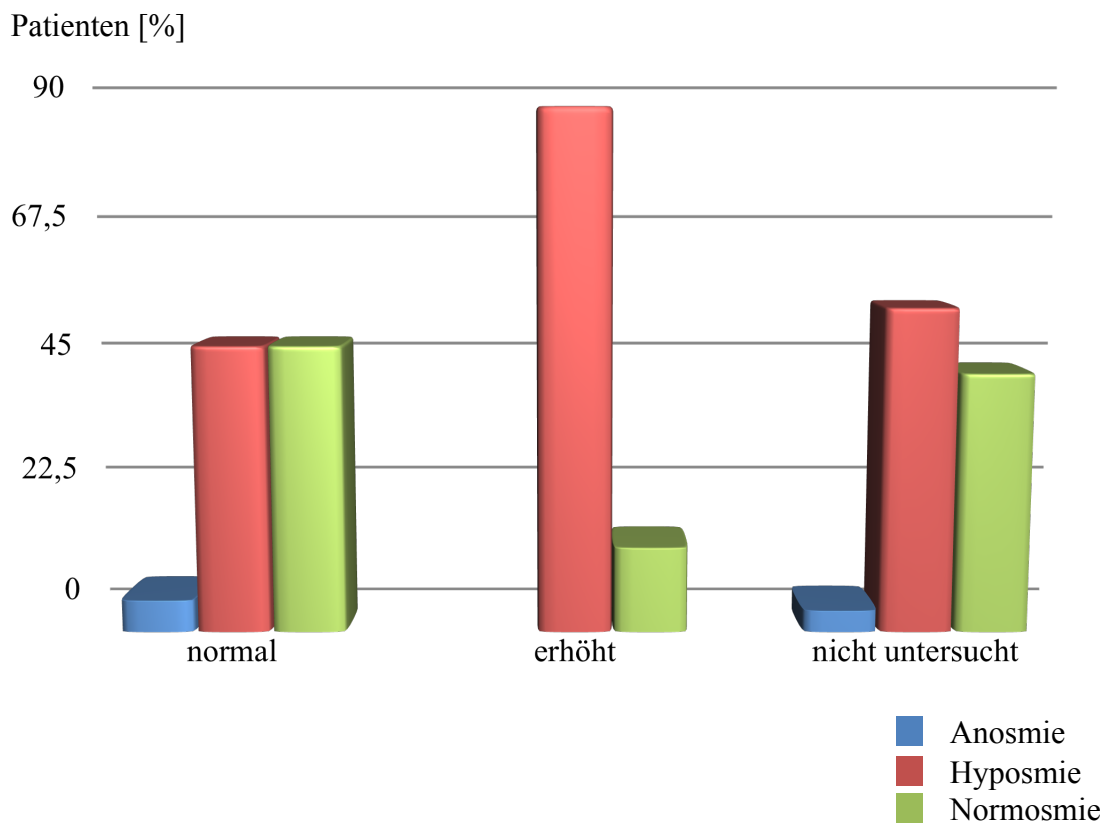
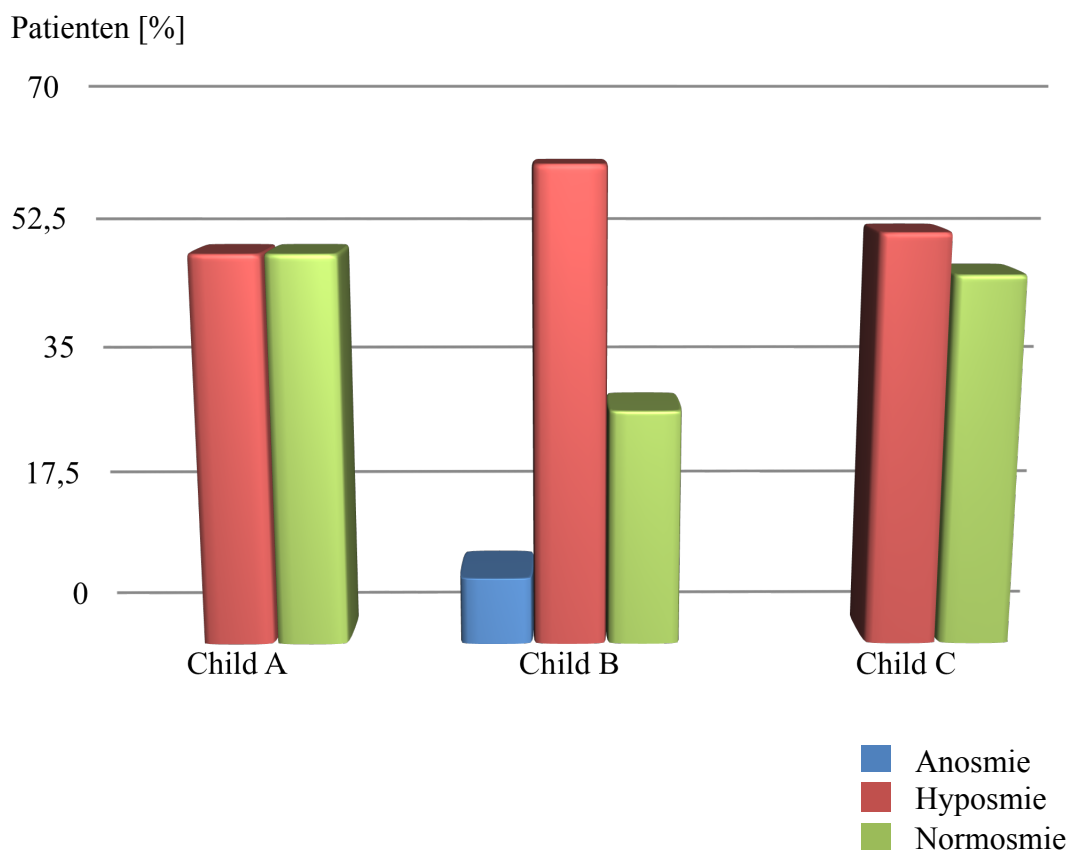


Abbildung 10 Zusammenhang zwischen Schweregrad der Lebererkrankung - gemessen mit mithilfe der Child-Pugh-Kriterien und der Riechfunktion. Es besteht ein statistisch nicht signifikanter Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und Schweregrad der Lebererkrankung. (n=54; p=0,41)



6.4 Zusammenhang zwischen Riechfunktion und Aszites

Alle Patienten - abgesehen von einer Person - wurden auf das Vorhandensein von Aszites untersucht. Bei 69,8% der Patienten (37/53) konnte Aszites sonographisch nachgewiesen werden, während 30,2% der Patienten (16/53) keine Anzeichen von Aszites aufzeigten.

Bei den Leberzirrhosekranken mit Aszites traten bei 64,9% (24/37) Riechdefizite auf. 2,7% dieser Patienten (1/37) zeigten eine Anosmie, 62,2% (23/37) eine Hyposmie und 35,1% (13/37) eine Normosmie. Bei Patienten ohne Aszites konnte eine Anosmie bei 6,3% der Patienten (1/16), eine Hyposmie bei 37,5% der Patienten (6/16) und eine Normosmie bei 56,3% der Patienten (9/16) beobachtet werden. Jedoch waren die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen statistisch nicht signifikant ($p=0,35$) (siehe Abbildung 11).

6.5 Zusammenhang zwischen Riechfunktion und portalem Hypertonus

Bei Zirrhosekranken mit portalem Hypertonus konnte eine Hyp- oder Anosmie bei 67,6% (23/34) Patienten beobachtet werden. Davon zeigten 2,9% (1/34) eine Anosmie, 64,7% (22/34) eine Hyposmie und 32,4% (11/34) eine Normosmie, wohingegen bei Patienten ohne portalem Hypertonus eine Anosmie in 7,1% (1/14), eine Hyposmie in 57,1% (8/14) und eine Normosmie bei 35,7% (5/14) auftrat. Auch bei dieser Gruppe ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Patienten mit und ohne portalem Hypertonus feststellen ($p=0,1$) (siehe Abbildung 12).

Abbildung 11 Zusammenhang zwischen Aszites und der Riechfunktion. Es besteht ein statistisch nicht signifikanter Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und Aszites (n= 53; p=0,41) .

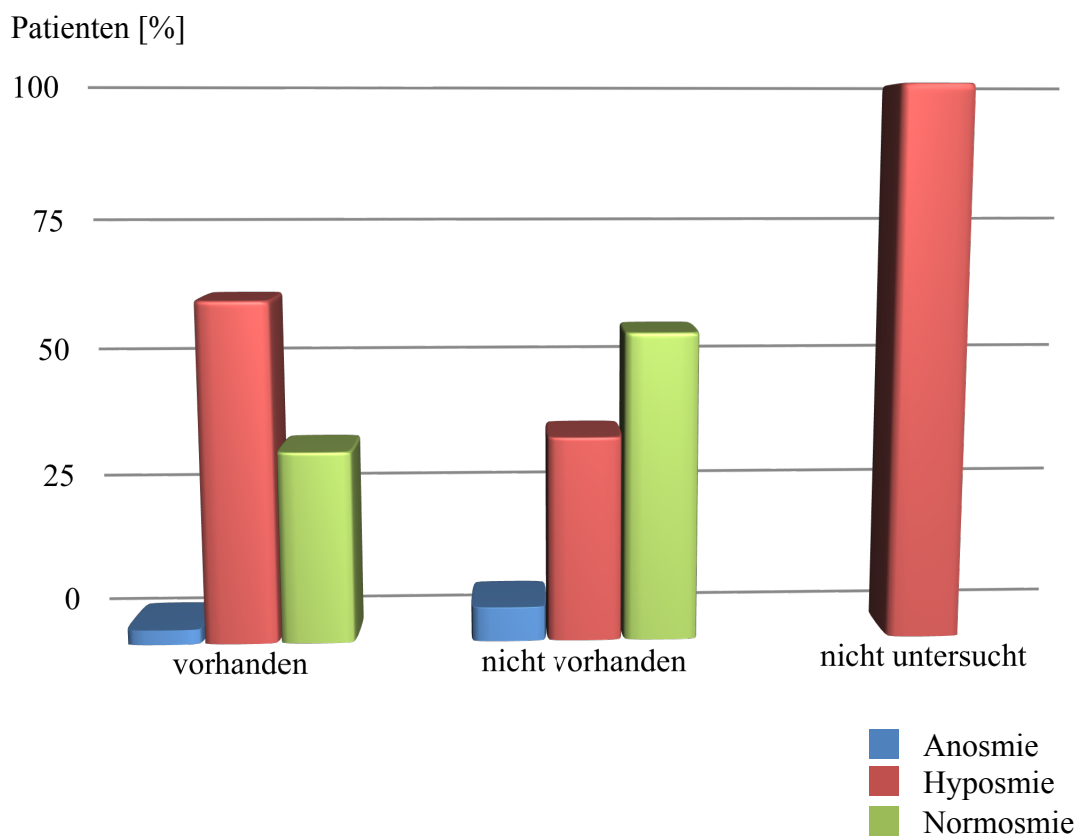


Abbildung 12 Zusammenhang zwischen portalem Hypertonus (PH) und der Riechfunktion. Es besteht ein statistisch nicht signifikanter Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und portalem Hypertonus (n=48; p=0,41)

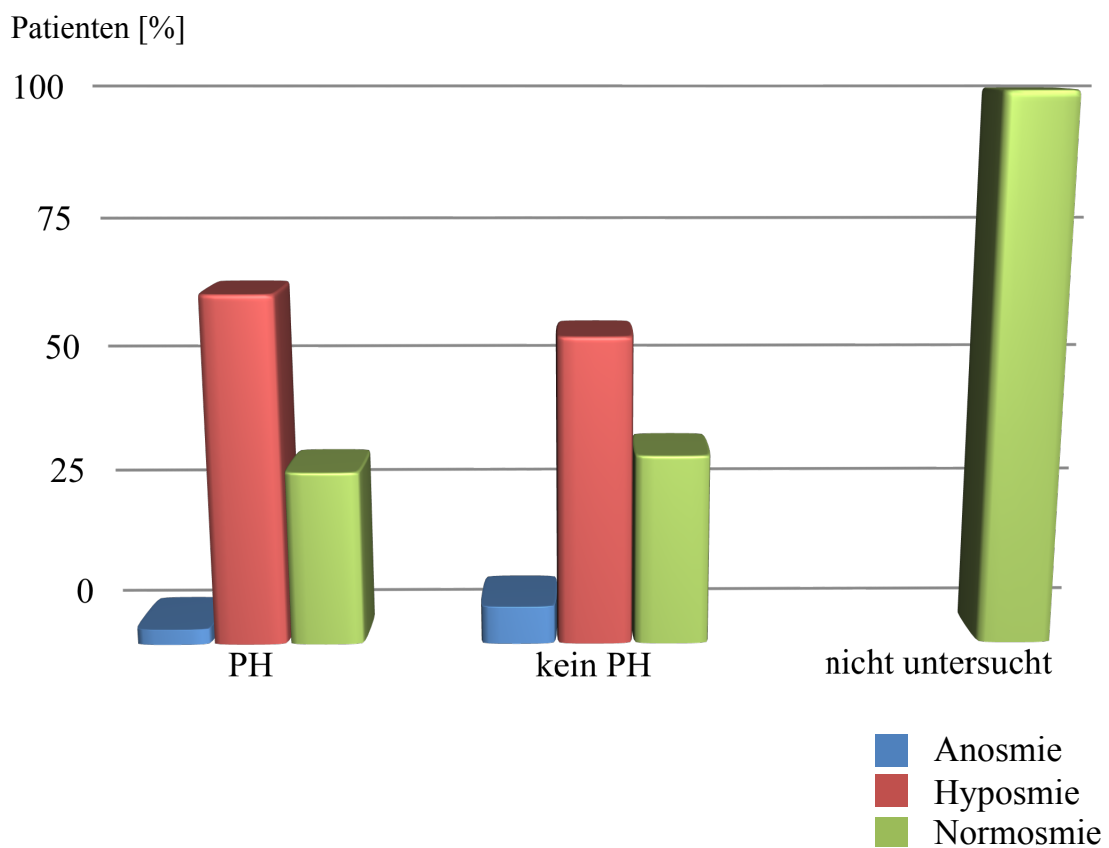


Tabelle 5 Messergebnisse aller Patienten in Prozent (Absolutzahlen in Klammern)

	Anzahl (n)	Normosmie	Hyposmie	Anosmie
1) CFF				
- keine HE	n=21	66,7% (14/21)	33,3% (7/21)	0
- niedriggr. HE	n=26	30,8% (8/26)	65,4% (17/26)	3,8% (1/26)
- hochgr. HE	n=7	0	85,7% (6/7)	14,3% (1/7)
2) West-Haven-Kriterien				
- keine HE	n=24	50% (12/24)	45,8% (11/24)	4,2% (1/24)
- niedriggr. HE	n=24	41,7% (10/24)	58,3% (14/24)	0
- hochgr. HE	n=6	0	83,3% (5/6)	6,7% (1/6)
3) Child-Pugh-Score				
- A	n=12	50% (6/12)	50% (6/12)	0
- B	n=23	30,4% (7/23)	60,9% (14/23)	8,7% (2/23)
- C	n=19	47,4 % (9/19)	52,6% (10/19)	0
4) Ätiologie				
- äthyltoxisch	n=40	32,5% (13/40)	65% (26/40)	2,5% (1/40)
- autoimmun	n=1	100% (1/1)	0	0
- Hepatitis B	n=2	50% (1/2)	0	50% (1/2)
- Hepatitis C	n=5	100% (5/5)	0	0
- andere	n=6	33,3% (2/6)	66,7% (4/6)	0
5) Aszites*				
- nicht vorhanden	n=16	56,3% (9/16)	37,5% (6/16)	6,3% (1/16)
- vorhanden	n=37	35,1% (13/37)	62,2% (23/37)	2,7% (1/37)
- nicht untersucht*	n=1	0	100% (1/1)	0
6) Portaler Hypertonus**				
- Nein	n=14	35,4% (5/14)	57,1% (8/14)	7,1% (1/14)
- Ja	n=34	32,4% (11/34)	64,7 (22/34)	2,9% (1/34)
- Nicht geprüft**	n=6	100% (6)	0	0
7) Serum Ammoniak				
- Normal	n=18	50% (9/18)	44,4% (8/18)	5,6% (1/18)
- erhöht	n=8	12,5% (1/8)	87,5% (7/8)	0
- nicht untersucht***	n=28	42,9% (12/28)	53,6% (15/28)	3,6% (1/28)

* Daten nicht erhoben von n=1 Patienten

** Daten nicht erhoben von n=6 Patienten

***Daten nicht erhoben von n=28 Patienten

7 Diskussion

7.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

Unsere Studie beschäftigt sich mit Riechdefiziten bei Patienten mit Leberzirrhose bei unterschiedlichem Schweregrad einer hepatischen Enzephalopathie.

Die Hauptergebnisse unserer Studie lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Die Prävalenz von olfaktorischen Defiziten (Hyposmie, Anosmie) nimmt mit dem Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie - gemessen mithilfe der kritischen Flimmerfrequenz und klinischen West-Haven-Kriterien - zu.
- Es wurde kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Riechdefiziten und dem Schweregrad der Lebererkrankung - gemessen mithilfe der Child-Pugh-Kriterien- beobachtet.
- Es wurde kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Riechdefiziten und der Ätiologie der Leberzirrhose beobachtet.
- Es wurde kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Riechdefiziten und Komplikationen der Leberzirrhose wie Aszites oder portalem Hypertonus beobachtet.

7.2 Zusammenfassung und Kritik bisher vorliegender Studien zur Riechfunktion bei hepatischer Enzephalopathie

Besonders bei Patienten mit Leberzirrhose stellt die hepatische Enzephalopathie eine häufige Komplikation dar. Es existieren Daten, dass bis zu 80% aller Leberzirrhosepatienten im Verlauf eine hepatische Enzephalopathie entwickeln. (Kircheis et al. 2007)

Da diese Patienten mit einer hepatischen Enzephalopathie verglichen mit Leberzirrhosepatienten ohne hepatische Enzephalopathie eine deutlich schlechtere Prognose

haben, ist es wichtig, die Krankheit bereits im frühen Stadium zu erkennen und zu therapieren. (Ferenci et al. 2002) Während die Therapie einer hepatischen Enzephalopathie in der heutigen Zeit sehr einfach und effektiv durchzuführen ist, stellt die sichere Diagnosestellung dieser Erkrankung, besonders in frühen Stadien, ein großes klinisches Problem dar. (Sharma et al. 2010)

Bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen, wie Parkinson, Alzheimer oder dem Korsakoff-Syndrom zählen Riechdefizite zu den häufigen und auch ersten beschriebenen Symptomen. Daher zählen Riechtests zur sinnvollen Diagnostik, diese Krankheiten zu bestätigen oder auszuschließen. (Dunckley et al. 2014)

Andererseits wurden Riechdefizite häufig beschrieben bei Patienten mit Leberzirrhose. Einige Studien zeigten dabei, dass die Beeinträchtigung der Riechfunktion nicht vom Schweregrad der Zirrhose - ermittelt mithilfe des Child-Pugh-Scores abhängt. (Temmel et al. 2005, Zucco et al. 2006) Da die hepatische Enzephalopathie und die oben genannten neurologischen Erkrankungen ähnliche Symptome aufweisen, könnten die olfaktorischen Defizite bei Zirrhosekranken mit der kognitiven Dysfunktion zusammenhängen.

Vor unserer Studie beschäftigten sich bisher zwei Studien mit dem Zusammenhang einer Leberzirrhose und olfaktorischen Defiziten bei gleichzeitigem Vorliegen einer hepatischen Enzephalopathie.

Temmel et al. untersuchten den Zusammenhang zwischen Riechfunktion und verschiedenen Laborparametern sowie psychologischen Parametern, die mit einer hepatischen Enzephalopathie vereinbar sind, indem sie den Sniffin' Sticks Test verwendeten. Die Autoren stellten bei dieser Studie einen negativen Zusammenhang zwischen der Duftidentifikation und dem Schweregrad einer hepatischen Enzephalopathie fest. Keine Auffälligkeiten wurden bei der Riechschwelle oder Duftunterscheidung beobachtet. (Temmel et al. 2005)

Zucco et al. führten eine Pilotstudie durch, bei der sie olfaktorische Defizite bei einer kleinen Gruppe Zirrhosekranker mit minimaler hepatischen Enzephalopathie untersuchten. Bei ihrer Studie schnitten Patienten mit einer minimalen hepatischen Enzephalopathie bei Tests für Duftidentifikation und Erinnerungsvermögen deutlich schlechter ab. (Zucco et al. 2006)

In beiden Studien konnte kein Zusammenhang zwischen Riechverschlechterung und Schweregrad der Leberzirrhose - gemessen mithilfe des Child-Pugh-Scores- beobachtet werden. (Temmel et al. 2005, Zucco et al. 2006)

Die oben genannten Studien zeigen, dass ein Zusammenhang zwischen der hepatischen Enzephalopathie und olfaktorischen Defiziten besteht.

Die Diagnosestellung erfolgte bei beiden Studien mit neuropsychologischen Tests des Psychometrischen Hepatischen Enzephalopathie Scores (PHES-Score). Als ein wesentlicher Kritikpunkt bei Temmel et al. ist anzuführen, dass die Diagnose einer hepatischen Enzephalopathie lediglich mit einem dieser fünf Tests gestellt wurde, nämlich einem Zahlenverbindungstest (TMT-A-Test). Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass ein einzelner psychometrischer Test nicht aussagekräftig genug ist, um eine hepatische Enzephalopathie zu bestätigen oder auszuschließen. Daher empfiehlt die International Society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism (ISHEN) die Verwendung von mindestens zwei Tests. (Vilstrup et al. 2014) Zucco et al. verwendeten zwar die gesamte Testbatterie zur Ermittlung des PHES-Scores, jedoch lagen bei ihm Ungenauigkeiten bei der Durchführung des Bleistift-Papier-Tests vor und somit stellte sich retrospektiv heraus, dass das Ergebnis von der subjektiven Einschätzung des Untersuchers beeinflusst war.

Die Problematik der neuropsychiatrischen Untersuchung zur Diagnosestellung einer hepatischen Enzephalopathie besteht jedoch nicht nur in der Beeinflussbarkeit durch die subjektive Einschätzung des Untersuchers, sondern auch darin, dass die neurologischen und psychiatrischen Untersuchungen sehr viel Zeit und Mittel in Anspruch nehmen, die

nur in wenigen Kliniken zur Verfügung stehen. Weiterhin muss darauf hingewiesen werden, dass die neuropsychiatrischen Tests nicht beliebig oft wiederholt werden können, da ein gewisser Lerneffekt unvermeidbar ist. Hinzu kommt, dass die leichte Form der hepatischen Enzephalopathie häufig übersehen wird, da diese keine offensichtlichen neurologischen Ausfallserscheinungen zeigt. (Ferenci et al. 1998) Deswegen ist es nötig, einen Früherkennungstest einzuführen, der objektiv, präzise und in allen Kliniken einfach durchführbar ist.

7.3 Diskussion der Ergebnisse und Ausblick

Bereits Temmel et al. und Zucco et al. verwendeten in ihrer Studie das Sniffin' Sticks Testsystem. Da dieser als gültiger Standardtest zur Evaluierung der Riechfunktion im klinischen Alltag gilt, könnte er in Zukunft als Goldstandard verwendet werden, um eine Riechverschlechterung bei Patienten mit einer hepatischen Enzephalopathie aufzudecken.

Um eine mögliche Korrelation zwischen Riechdefiziten und hepatischer Enzephalopathie zu untersuchen, benötigt man ein objektives Verfahren wie die kritische Flimmerfrequenz.

Die kritische Flimmerfrequenzmethode ist leicht durchzuführen, zuverlässig, genau und erlaubt eine umfassende Beurteilung der hepatischen Enzephalopathie. Ein zusätzlicher Vorteil der kritischen Flimmerfrequenz ist, dass mit ihr zwischen verschiedenen Schweregraden einer hepatischen Enzephalopathie unterschieden werden kann. (Kicheis et al. 2002)

Nach unserem Wissen wurde bisher keine Studie durchgeführt, die sich mit der Riechfunktion und dem Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie gemessen mithilfe diagnostischer Tests wie der kritischen Flimmerfrequenz beschäftigt hat.

In unserer Studie konnten alle 54 Patienten mithilfe der West-Haven-Kriterien und der kritischen Flimmerfrequenz sowohl klinisch als auch technisch objektiv im Schweregrad ihrer hepatischen Enzephalopathie eingeschätzt werden und anschließend einem Riechtest unterzogen werden.

Unsere Testergebnisse stimmen mit den oben genannten Studien von Temmel et al. und Zucco et al. dahingehend überein, dass die Riechfunktion bei der Mehrheit der Leberzirrhosekranken, nämlich bei 61,1% verringert ist. Der Mann-Whitney-U-Test zeigte beim Vergleich der SDI-Werte eine signifikant schlechtere Riechfunktion bei der Zirrhosegruppe (Median 29,0 [1.Quartil: 25,8; 3. Quartil 33,5]) als bei der Kontrollgruppe (Median 35,3 [1.Quartil: 34,3; 3. Quartil 38,5], $p < 0,001$). Ebenso stieg die Prävalenz olfaktorischer Defizite, wie Hyposmie und Anosmie, mit zunehmendem Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie - gemessen mithilfe der kritischen Flimmerfrequenz und klinischen Kriterien ($p = 0,008$ für Hyposmie und $p = 0,097$ für Anosmie).

Bei Messungen mit der kritischen Flimmerfrequenz betrug die Sensitivität des Riechtests für eine hochgradige hepatische Enzephalopathie 100% und für eine niedriggradige hepatische Enzephalopathie 68%. Die Spezifität war für eine hochgradige hepatische Enzephalopathie 98,7% und für eine niedriggradige hepatische Enzephalopathie 66,7%.

Kein signifikanter Zusammenhang konnte zwischen Plasma-Ammoniakpiegeln und olfaktorische Defiziten beobachtet werden.

Wie bereits oben erwähnt konnten wir ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen olfaktorischen Defiziten und dem Schweregrad der Leberzirrhose - gemessen mithilfe der Child-Pugh-Kriterien - feststellen, wie bereits von Zucco et al. 2006 vermutet.

Auch konnten wir keinen Zusammenhang zwischen der Ätiologie der Zirrhose und olfaktorische Defiziten beobachten, was uns vermuten lässt, dass eine verminderte Riechfunktion nicht durch die Lebererkrankung an sich verursacht wird, sondern vielmehr durch die Komplikationen, die mit einer Lebererkrankung einhergehen.

Da bei unserer Studie kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Komplikationen der Zirrhose wie Aszites oder portalem Hypertonus beobachtet werden konnte, unterstützt das die Vermutung, dass eine verminderte Riechfunktion bei Leberzirrhosekranken mit der Pathophysiologie der hepatischen Enzephalopathie zusammenhängt.

Es sind bereits einige pathophysiologische Mechanismen bekannt, die einen Zusammenhang zwischen einer hepatischen Enzephalopathie und gestörten Riechfunktion vermuten lassen. Butterworth beschrieb, dass neurotoxische Substanzen wie Mangan und Ammoniak extrem schädliche Effekte auf das Gehirn haben. (Butterworth et al. 1996) Weiterhin wird in der Literatur beschrieben, dass hohe Konzentrationen an Mangan im Pallidum (Globus pallidus) akkumulieren und extrapyramidale Symptome hervorrufen. (Krieger et al. 1995) Desweiteren können sie die Neurotransmitter Glutamat und Dopamin hemmen, die beim Riechen eine wichtige Rolle spielen. (Trombley et al. 1993) Behar et al. zeigten, dass das GABAerge System bei Patienten mit hepatischer Enzephalopathie eine verminderte Aktivität zeigt. (Behar et al. 1999) Glutamat ist der Neurotransmitter der Rezeptoren im Riechsystem (Berkowicz et al. 2000) und Dopamin kann vor allem als Neurotransmitter in den periglomerulären Zellen nachgewiesen werden. (Doty 2001)

Zusammenfassend lässt sich für unsere Studie festhalten, dass das Riechvermögen bei Leberzirrhosekranken signifikant verringert ist. Zusätzlich konnte beobachtet werden, dass die Riechverschlechterung mit dem Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie zunimmt. Somit könnte ein Riechtest als Screeningverfahren für eine hepatische Enzephalopathie dienen und auch für subklinische Stadien eingesetzt werden. Es sollten weitere prospektive Studien durchgeführt werden, die die Chemosensibilität in subklinischen Stadien und bei manifester hepatischer Enzephalopathie prüfen, besonders im Hinblick auf eine spezifische medizinische Behandlung, z.B. mit L-ornithin-L-aspartat oder Rifaximin.

8 Zusammenfassung

Das Riechvermögen wird bei Vorliegen einer chronischen Lebererkrankung auf verschiedene Weise beeinflusst. Die Ergebnisse einiger Untersuchungen – mit allerdings nur geringen Fallzahlen – lassen vermuten, dass bei Vorliegen einer hepatischen Enzephalopathie zentrale olfaktorische Funktionen bzw. das Riechvermögen beeinflusst werden. Es wurden jedoch bislang noch keine Studien durchgeführt, in denen dieser Zusammenhang - Beeinflussung des Riechvermögens je nach Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie - durch die Verwendung objektiver diagnostischer Methoden überprüft wurde. Vor diesem Hintergrund führten wir eine Pilotstudie durch, bei der das Riechvermögen mittels des Sniffin' Sticks Tests in Korrelation zum Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie mithilfe der kritischen Flimmerfrequenzanalyse und West-Haven-Kriterien untersucht wurde.

Es wurden 54 Leberzirrhose-Patienten eingeschlossen und mit 43 gesunden erwachsenen Freiwilligen als Kontrollgruppe verglichen. Das Riechvermögen wurde mittels des Sniffin' Sticks Testsystems - einem in Forschung und klinischem Alltag häufig verwendeten Diagnostikum zur Objektivierung der Riechschwelle, der Geruchsidentifikation und Geruchsdiskrimination - erfasst. Verschiedene Komplikationen der Leberzirrhose wurden durch im klinischen Alltag gängige Methoden diagnostiziert. Der Zusammenhang zwischen zirrrose-assoziierten Komplikationen und dem Riechvermögen wurde anschließend mittels multivariater Analyseverfahren untersucht. Das Vorliegen einer hepatischen Enzephalopathie und deren Einteilung in verschiedene Schweregrade wurden nach klinischen Kriterien (West-Haven-Kriterien) und unter Ermittlung der kritischen Flimmerfrequenz mittels eines portablen Analysegerätes objektiviert.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass ein Zusammenhang zwischen Riechdefiziten und der hepatischen Enzephalopathie besteht und diese mit dem Schweregrad der hepatischen Enzephalopathie zunehmen. Diese Riechdefizite sind jedoch weder vom Schweregrad

der Lebererkrankung noch von Komplikationen der Lebererkrankung wie Aszites oder portalem Hypertonus abhängig.

Die Untersuchung und Objektivierung des Riechvermögens könnte eine Screening-Methode zur Detektion des Vorliegens einer hepatischen Enzephalopathie darstellen. Hiermit lässt sich möglicherweise zukünftig die Einstufung des Schweregrades der Erkrankung deutlich erleichtern und präzisieren. Somit könnten sich durch diese Screening-Methode neue therapeutische, diagnostische und prognostische Optionen für das klinische Management dieser gravierenden Komplikation einer Leberzirrhose entwickeln.

9 Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1 Klinische Charakteristika aller Patienten und der Kontrollgruppe
- Tabelle 2 Einschätzung der Schwere der Lebererkrankung mithilfe des Child-Pugh-Scores
- Tabelle 3 West-Haven-Kriterien
- Tabelle 4 Einteilung der Riechfunktion mithilfe des SDI-Wertes
- Tabelle 5 Messergebnisse aller Patienten und der Kontrollgruppe

10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	CFF Methode, Hepatonorm Analyser
Abbildung 2	Einteilung der hepatischen Enzephalopathie nach kritischer Flimmerfrequenz
Abbildung 3	Einstufung der HE mithilfe der CFF
Abbildung 4	Einstufung HE mithilfe der WHC
Abbildung 5	Zusammenhang zwischen hepatischer Enzephalopathie - gemessen mit der CFF-Methode - und der Riechfunktion bei Patienten mit Leberzirrhose
Abbildung 6	Zusammenhang zwischen der kritischen Flimmerfrequenz (CFF) und der Riechfunktion als Boxplot-Graph
Abbildung 7	Zusammenhang zwischen der kritischen Flimmerfrequenz und der Riechfunktion mittels Standardabweichung
Abbildung 8	Zusammenhang zwischen hepatischer Enzephalopathie - gemessen mit den West-Haven-Kriterien - und der Riechfunktion bei Patienten mit Leberzirrhose
Abbildung 9	Zusammenhang zwischen Plasma-Ammoniakspiegel und der Riechfunktion
Abbildung 10	Zusammenhang zwischen Schweregrad der Lebererkrankung - gemessen mithilfe der Child-Pugh-Kriterien - und der Riechfunktion
Abbildung 11	Zusammenhang zwischen Aszites und der Riechfunktion
Abbildung 12	Zusammenhang zwischen portalem Hypertonus (PH) und der Riechfunktion

11 Literaturverzeichnis

Atluri DK, Prakash R, Mullen KD: Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment of Hepatic Encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol* 2011; 1: 77-86

Arora S, Martin CL, Herbert M. Myth: interpretation of a single ammonia level in patients with chronic liver disease can confirm or rule out hepatic encephalopathy. *CJEM*. 2006; 8:433-435

Behar KL, Rothman DL, Petersen KF, Hooten M, Delaney R, Petroff OA, Shulman GI, Navarro V, Petrakis IL, Charney DS, Krystal JH: Preliminary evidence of low cortical GABA levels in localized 1H-MR spectra of alcohol-dependent and hepatic encephalopathy patients. *Am J Psychiatry*. 1999; 156:952-954

Berkowicz DA, Trombley PQ: Dopaminergic modulation at the olfactory nerve synapse. *Brain Res*. 2000; 855: 90-99

Bloomfield RS, Graham BG, Schiffman SS, Killenberg PG: Alterations of chemosensory function in end-stage liver disease. *Physiol Behav*. 1999; 66: 203-207

Burch RE, Sackin DA, Ursick JA, Jetton MM, Sullivan JF: Decreased taste and smell acuity in cirrhosis. *Arch Intern Med* 1978; 138: 743–746

Butterworth RF: The neurobiology of hepatic encephalopathy. *Semin Liver Dis*. 1996;16: 235-244

Butterworth RF , Giguère JF , Michaud J, Lavoie J, Layrargues GP. Ammonia: a key factor in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Neurochem Pathol* 1987; 6: 1-12

Child CG, Turcotte JG: Surgery and portal hypertension. C. G. Child (Hrsg.): *The liver and portal hypertension*. Saunders, Philadelphia 1964, S. 50–64.

Conn HO, Bircher J (eds): *Hepatic encephalopathy: syndromes and therapies*. East Lansing: Medi Ed Press 1993: 13 – 26

Dhiman RK, Saraswat VA, Sharma BK, Sarin SK, Chawla YK, Butterworth R, Duseja A, Aggarwal R, Amarapurkar D, Sharma P, Madan K, Shah S, Seth AK, Gupta RK, Koshy A, Rai RR, Dilawari JB, Mishra SP and Acharya SK: Minimal hepatic encephalopathy: Consensus statement of a working party of the Indian National Association for Study of the Liver. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1029-41

Doty RL.: Olfaction. *Annu Rev Psychol*. 2001; 52:423-542

Driver-Dunckley E, Adler CH, Hentz JG, Dugger BN, Shill HA, Caviness JN, Sabbagh MN, Beach TG: Arizona Parkinson Disease Consortium. Olfactory dysfunction in incidental Lewy body disease and Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2014; 20: 1260-1262

Faraj BA, Camp VM, Ansley JD, Scott J, Ali FM, Malveaux EJ: Evidence for central hypertyraminemia in hepatic encephalopathy. *J Clin Invest* 1981 Feb;67(2):395-402.

Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT: Hepatic encephalopathy – definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congress of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology* 2002; 35: 716-721

Garrett-Laster M, Russell RM, Jacques PF: Impairment of taste and olfaction in patients with cirrhosis: the role of vitamin A. *Hum Nutr Clin Nutr* 1984; 38: 203–214

Gundling F, Seidl H, Pehl C, Schmidt T, Schepp W: How close do gastroenterologists follow specific guidelines for nutrition recommendations in liver cirrhosis? A survey of current practice. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2009; 21: 756-761

Gundling F, Schmidler F, Hapfelmeier A, Schulte B, Schmidt T, Pehl C, Schepp W, Seidl H: Fecal calprotectin is a useful screening parameter for hepatic encephalopathy and spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis. *Liver Int.* 2011; 31: 1406-1415

Henkin RI, Smith FR: Hyposmia in acute viral hepatitis. *Lancet.* 1971;1: 823-826

Hummel T, Futschik T, Frasnelli J, Hüttenbrink KB. Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli. *Toxicol Lett.* 140:273-80

Hummel T, Sekinger B, Wolf SR, Pauli E, Kobal G: 'Sniffin' sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chem Senses.* 1997; 22: 39-52

Kircheis G, Hilger N, Häussinger D: Value of critical flicker frequency and psychometric hepatic encephalopathy score in diagnosis of low-grade hepatic encephalopathy. *Gastroenterology.* 2014; 146: 961-969

Kircheis G, Fleig WE, Görtelmeyer R, Grafe S, Häussinger D: Assessment of low-grade hepatic encephalopathy: a critical analysis. *J Hepatol.* 2007; 47:642-650

Kircheis G, Wettstein M, Timmermann L, Schnitzler A, Häussinger D: Critical flicker frequency for quantification of low-grade hepatic encephalopathy. *Hepatology* 2002; 35: 357-366

Kobal G, Klimek L, Wolfensberger M, Gudziol H, Temmel A, Owen CM, Seeber H, Pauli E, Hummel T: Multicenter investigation of 1,036 subjects using a standardized method for the assessment of olfactory function combining tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2000; 257: 205-211

Krieger D, Krieger S, Jansen O, Gass P, Theilmann L, Lichtnecker H: Manganese and chronic hepatic encephalopathy. *Lancet*; 346: 270-274

Landis BN, Konnerth CG, Hummel T: A study on the frequency of olfactory dysfunction. *Laryngoscope.* 2004;114: 1764-1769

Madden AM, Bradbury W, Morgan MY: Taste perception in cirrhosis: its relationship to circulating micronutrients and food preferences. *Hepatology.* 1997; 26: 40-48

McPhail MJ, Bajaj JS, Thomas HC, Taylor-Robinson SD: Pathogenesis and diagnosis of hepatic encephalopathy. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010; 4: 365-378

Ong JP , Aggarwal A, Krieger D, Easley KA, Karafa MT , Van Lente F, Arroliga AC, Mullen KD: Correlation between ammonia levels and the severity of hepatic encephalopathy. *Am J Med* 2003; 114: 188-93

Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R: Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices *British Journal of Surgery* 1973 60; 8: 646–649;

Romero-Gómez M, Córdoba J, Jover R, del Olmo JA, Ramírez M, Rey R, de Madaria E, Montoliu C, Nuñez D, Flavia M, Compañy L, Rodrigo JM, Felipe V: Value of the critical flicker frequency in patients with minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology* 2007;45: 879-885

Sharma P , Sharma BC, Puri V , Sarin SK: Critical flicker frequency: Diagnostic tool for minimal hepatic encephalopathy. *J Hepatology* 2007; 47: 67-73

Stuck BA, Beule A, Damm M, Gudziol H, Hüttenbrink KB, Landis BN, Renner B, Sommer JU, Uecker FC, Vent J, Hummel T; Committee on Olfaction and Gustation of the German Society of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery. [Position paper "Chemosensory testing for expert opinion in smell disorders"]. *Laryngorhinootologie.* 2014; 93: 327-329

Temmel AF, Pabinger S, Quint C, Munda P, Ferenci P, Hummel T: Dysfunction of the liver affects the sense of smell. *Wien Klin Wochenschr.* 2005;117: 26-30

Trombley PQ, Shepherd GM: Synaptic transmission and modulation in the olfactory bulb. *Curr Opin Neurobiol.* 1993;3: 540-547

URL: http://www.nevolab.de/files/2014/01/IMG_5661.jpg abgerufen am 25.02.2017 um 8.35 Uhr

Vilstrup H, Amodio P, Bajaj J, Cordoba J, Ferenci Peter, Mullen KD, Weissenborn K, Wong P: Hepatic Encephalopathy in Chronic Liver Disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol.* 2014; 61: 642-659;

Wolfensberger M, Schnieper I, Welge-Lüssen A: Sniffin'Sticks: a new olfactory test battery. *Acta Otolaryngol.* 2000; 120: 303-306

Zucco GM, Amodio P, Gatta A: Olfactory deficits in patients affected by minimal hepatic encephalopathy: a pilot study. *Chem Senses.* 2006; 31: 273-278

12 Danksagung

Für den erfolgreichen Abschluss der vorliegenden Arbeit schulde ich vielen Menschen meinen herzlichen Dank:

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Schepp, Chefarzt der Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Gastroenterologische Onkologie des Städtischen Klinikum München Bogenhausen danken, der die Durchführung dieser Arbeit in seiner Klinik unter vortrefflichen Arbeitsbedingungen ermöglicht hat.

Ein besonderes Dankeswort für die engagierte Betreuung gilt meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med. Felix Gundling, der mir viel Geduld und fachkundige, wissenschaftliche sowie praktische Unterstützung entgegengebracht hat. Durch seine immer neuen Anregungen, Ideen und Hilfestellungen konnte die vorliegende Arbeit in dieser Form entstehen.

Großer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Roland Schmid, Direktor der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik im Klinikum Rechts der Isar, der mich als Mentor in wissenschaftlichen Fragen unterstützt hat.

Ein weiterer Dank geht auch an alle Mitarbeiter der Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Gastroenterologische Onkologie des Städtischen Klinikum München Bogenhausen, die diese Studie erst ermöglichten.

Ein persönlicher Dank gilt meiner Mutter Dr. med. Gudrun Schmidt für die uneingeschränkte, liebevolle und vielseitige Unterstützung während meines Studiums, ohne die diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre.