

Aus der  
I. Medizinische Klinik und Poliklinik  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Untersuchung von Neurofilament-Leichtketten im Serum als Biomarker für das  
Vorliegen einer minimalen hepatischen Enzephalopathie bei Patientinnen und  
Patienten mit Leberzirrhose

Inauguraldissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von  
Paula Kämper aus Aachen

Mainz, 2023

Tag der Promotion:

11. März 2024

# Inhalt

<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>7</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>8</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>9</b>
<b>2 Literaturdiskussion</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1 Aufbau und Funktion der Leber</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2 Leberzirrhose</b> .....	<b>13</b>
<b>2.3 Prognose, Scores</b> .....	<b>16</b>
<b>2.4 Komplikationen der Leberzirrhose</b> .....	<b>18</b>
2.4.1 Portale Hypertension .....	19
2.4.2 Aszites.....	19
2.4.3 Gastroösophageale Varizen, Blutungen.....	20
2.4.4 Spontan-bakterielle Peritonitis.....	20
2.4.5 Das hepatorenale Syndrom.....	21
<b>2.5 Die hepatische Enzephalopathie</b> .....	<b>22</b>
2.5.1 Einteilung der hepatischen Enzephalopathie.....	22
2.5.2 Pathogenese der hepatischen Enzephalopathie .....	24
2.5.3 Diagnostik der hepatischen Enzephalopathie.....	27
2.5.4 Therapie der hepatischen Enzephalopathie .....	28
2.5.5 Sekundärprophylaxe der hepatischen Enzephalopathie .....	30
<b>2.6 Die minimale hepatische Enzephalopathie</b> .....	<b>30</b>
2.6.1 Bedeutung.....	30
2.6.2 Diagnostik der minimalen hepatischen Enzephalopathie .....	31
<b>2.7 Neurofilament-Leichtketten als potenzieller Biomarker zur Detektion der minimalen hepatischen Enzephalopathie</b> .....	<b>33</b>
<b>3 Patientinnen und Patienten und Methoden</b> .....	<b>35</b>
<b>3.1 Studiendesign und Ethik</b> .....	<b>35</b>
<b>3.2 Studienteilnehmerinnen und -teilnehmer</b> .....	<b>36</b>
<b>3.3 Testdurchführung</b> .....	<b>37</b>
3.3.1 Anamnese .....	38
3.3.2 Diagnosestellung der minimalen hepatischen Enzephalopathie .....	38
3.3.3 Der portosystemische Enzephalopathie Test.....	38

3.4 Laboruntersuchungen .....	42
3.5 Bestimmung von Neurofilament-Leichtketten im Serum .....	42
3.6 Die Vergleichskohorte .....	43
3.7 Statistik.....	43
<b>4 Ergebnisse .....</b>	<b>45</b>
4.1 Ausgangsdaten der Studienpopulation.....	45
4.2 Vergleich von Patientinnen und Patienten mit und ohne MHE .....	46
4.3 Vergleich von sNfL bei MHE und neurologischen Erkrankungen.....	48
4.4 Vergleich von sNfL bei Patientinnen und Patienten mit einer OHE in der Anamnese .....	50
4.5 Vergleich von sNfL bei ethyltoxischer und nicht ethyltoxischer Genese.....	51
4.6 Prädiktoren für das Vorliegen einer MHE .....	51
4.7 Korrelation zwischen sNfL- und Ammoniak- bzw. IL-6-Konzentration .....	52
4.8 Assoziation zwischen Variablen und höheren sNfL-Konzentrationen.....	54
4.9 Fähigkeit von sNfL zur Unterscheidung zwischen Patientinnen und Patienten mit und ohne MHE.....	56
<b>5 Diskussion.....</b>	<b>58</b>
5.1 Relevanz der HE und ihrer Diagnose.....	58
5.2 NfL als möglicher Biomarker für MHE .....	58
5.3 Vergleich sNfL mit anderen Biomarkern .....	59
5.4 sNfL und OHE .....	61
5.5 sNfL und Alkohol .....	61
5.6 sNfL bei Patientinnen und Patienten mit neurologischen Erkrankungen.....	62
5.7 Limitationen und Ausblicke.....	62
<b>6 Zusammenfassung .....</b>	<b>64</b>
<b>7 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>66</b>
<b>8 Danksagung .....</b>	<b>74</b>
<b>9 Lebenslauf.....</b>	<b>75</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ACLF .....	Akut auf chronisches Leberversagen
AIH .....	Autoimmunhepatitis
AKI .....	Acute Kidney Injury
aPTT .....	Aktivierter partieller Thromboplastinzeit
AUROC .....	Area under the ROC-curve
BCAA .....	Branched-Chain Amino Acids, Verzweigt-kettige Aminosäuren
CCM .....	Cirrhose Centrum Mainz
CFF .....	Critical flicker frequency
CHE .....	Covert hepatische Enzephalopathie, Covert hepatische Enzephalopathie
CI .....	Konfidenzintervall
CRMP-2 .....	Collapsin Response Mediator Protein 2
CRP .....	C-reaktives Protein
CRT .....	Continuous Reaction Time
CV .....	Variationskoeffizient
EEG .....	Elektroenzephalogramm
ELISA .....	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
GCS .....	Glasgow-Coma-Scale
GFR .....	Glomeruläre Filtrationsrate
GOLD .....	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
HCC .....	Hepatozelluläres Karzinom, Leberzellkarzinom
HE .....	Hepatische Enzephalopathie
HRS .....	Hepatorenales Syndrom
HSC .....	Hepatische Sternzelle
ICT .....	Inhibitory Control Test
IL-12 .....	Interleukin-12
IL-1 $\beta$ .....	Interleukin-1 $\beta$
IL6 .....	Interleukin-6
IL-8 .....	Interleukin-8
INR .....	International Normalized Ratio
IQR .....	Interquartilsabstand, Interquartilsabstand
KP .....	Kreise punktieren
LN .....	Linien nachfahren
LOLA .....	L-Ornithin-L-Aspartat
MELD .....	Model for End Stage Liver Disease
MHE .....	Minimale hepatische Enzephalopathie
NAKI .....	Non-Acute Kidney Injury
NASH .....	Nicht-alkoholische Steatohepatitis
NfL .....	Neurofilament-Leichtketten
NMDA .....	N-Methyl-D-Aspartat
NO .....	Stickstoffmonoxid
NYHA .....	New York Heart Association
ÖGD .....	Ösophago-Gastro-Duodenoskopie
OHE .....	Overt hepatische Enzephalopathie
OR .....	Odds Ratio
PBC .....	Primär biliäre Cholangitis
PHES .....	Psychometric Hepatic Encephalopathy Score
PSC .....	Primär sklerosierende Cholangitis
PSE .....	Postsystemische-Enzephalopathie-Test
RAAS .....	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RBANS .....	Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status
ROC .....	Receiver Operating Characteristics
SBP .....	Spontan bakterielle Peritonitis
SiMoA .....	Single Molecule Arrays
sNfL .....	Neurofilament-Leichtketten im Serum
TGF- $\beta$ .....	Transforming Growth Factor $\beta$
TIA .....	Transitorische ischämische Attacke
TIPS .....	Transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Shunt
TNF- $\alpha$ .....	Tumornekrosefaktor $\alpha$

WHC .....	<i>West-Haven-Klassifikation</i>
ZNS .....	<i>Zentrales Nervensystem</i>
ZS .....	<i>Zahlen-Symbol-Test</i>
ZVT-A.....	<i>Zahlen-Verbinden-Test A</i>
ZVT-B.....	<i>Zahlen-Verbinden-Test B</i>

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ätiologie der Leberzirrhose nach Herold 2020 und Gerok 2007.....	14
Tabelle 2: Berechnung des Child-Pugh-Scores (Ludwig, 2020) .....	16
Tabelle 3: Mögliche Auslöser einer HE (Pantham et al., 2017).....	28
Tabelle 4: Charakteristika der Studienpopulation.....	45
Tabelle 5: Vergleich von Patientinnen und Patienten mit und ohne MHE .....	47
Tabelle 6: sNfL-Werte im Vergleich verschiedener Patientinnen- und Patientengruppen.....	49
Tabelle 7: Logistische Regressionsanalysen von Prädiktoren für das Vorliegen einer MHE bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose. ....	52
Tabelle 8: Uni- und multivariable Analyse von mit erhöhten sNfL-Werten assoziierten Variablen bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose .....	55

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Unterteilung der Leber in Segmente (Schünke et al., 2018) .....	11
Abbildung 2: Feinaufbau der Leber, Schematischer Aufbau eines Leberläppchens (Brenner, 2018)....	12
Abbildung 3: 3-Monats-Sterblichkeit in Abhängigkeit vom MELD-Score (Universitätsmedizin, 11.11.2013).....	18
Abbildung 4: Einteilung der HE (Ridola et al., 2020) .....	23
Abbildung 5: Ammoniakabhängige Spaltung von CRMP-2 (Cai et al., 2019) .....	26
Abbildung 6: Neurofilament-Leichtketten als Zytoskelettbestandteil der Neurone (Khalil et al., 2018)	33
Abbildung 7: Serumspiegel von sNfL in verschiedenen Patientinnen- und Patientenkohorten.....	49
Abbildung 8: sNfL bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose und einer Vorgeschichte von OHE (n=8), bei Patientinnen und Patienten mit MHE, aber ohne Vorgeschichte von OHE (n=19) und bei Patientinnen und Patienten ohne Vorgeschichte oder Vorliegen von HE (n=37).....	50
Abbildung 9: sNfL bei Patientinnen und Patienten mit oder ohne ethyltoxische Ätiologie der Leberzirrhose, differenziert nach MHE-Status .....	51
Abbildung 10: Korrelation zwischen der Ammoniak-Konzentration und der sNfL-Konzentration im Serum der Patientinnen und Patienten.....	53
Abbildung 11: Korrelation zwischen der IL-6-Konzentration und der sNfL-Konzentration im Serum der Patientinnen und Patienten .....	53
Abbildung 13: Trennschärfe von sNfL zum Nachweis einer MHE in der Gesamtkohorte von Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose .....	56
Abbildung 14: Trennschärfe von sNfL zum Nachweis einer MHE der von Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose unter Ausschluss der Patientinnen und Patienten mit einer OHE-Episode in der Anamnese.....	57



# 1 Einleitung

Die Leberzirrhose ist in der westlichen Welt eine häufige gastroenterologische Erkrankung und wird in Deutschland jedes Jahr bei ca. 250 pro 100.000 Menschen neu diagnostiziert, die Prävalenz liegt bei ca. 1.000.000 (Liu and Chen, 2022). Demnach betreffen auch ihre Komplikationen eine erhebliche Anzahl von Patientinnen und Patienten. Die hepatische Enzephalopathie (HE) ist eine häufige Komplikation der Leberzirrhose und hat erhebliche Auswirkungen auf die Lebensqualität und Prognose der Patientinnen und Patienten (Gerbes et al., 2019, Labenz et al., 2017c, Labenz et al., 2019c, Román et al., 2011, Ridola et al., 2018). In ihren frühen bzw. milden Stadien (minimale HE und HE Grad 1) ist die HE klinisch kaum apparent und wird daher auch als „coverte HE“ (CHE) bezeichnet. Diese kann aktuell ausschließlich durch aufwendige psychometrische oder apparative Tests, wie zum Beispiel den Portosystemische-Enzephalopathie-Test (PSE-Test) diagnostiziert werden, die im klinischen Alltag kaum praktikabel sind (Weissenborn, 2019, Vilstrup et al., 2014). Ein Goldstandard zur Diagnosesicherung einer CHE existiert allerdings nicht (Gerbes et al., 2019). Insgesamt wird die CHE und vor allem die minimale HE deshalb häufig übersehen und entsprechend nicht therapiert. Das kann weitreichende Folgen für Patientinnen und Patienten haben, welche in folgenden Abschnitten weitergehend erläutert werden. Ein Biomarker, um auch klinisch inapparente Stadien der HE sicher zu erkennen, wäre also wünschenswert.

Einen möglichen Kandidaten hierfür stellen Neurofilament-Leichtketten (NfL) dar, da sie schon in verschiedenen Studien im Zusammenhang mit neurodegenerativen und neuropathischen Erkrankungen als möglicher Biomarker untersucht werden konnten (Zetterberg, 2016, Varhaug et al., 2019, Thebault et al., 2020, Mollenhauer et al., 2020, Khalil et al., 2018). Da es nach aktuellen Untersuchungen auch bei einer HE zu Nervenzellschäden und -untergängen im zentralen Nervensystem (ZNS) kommt, liegt die Vermutung nahe, dass selbst eine klinisch milde HE-Episode zu erhöhter NfL-Konzentration im Blutserum führen könnte (Cai et al., 2019, García-Lezana et al., 2017). Möglicherweise könnte in Zukunft die Bestimmung der NfL im Blutserum den Diagnosealgorithmus bei klinisch unauffälligen Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose ergänzen, um zu einer früheren Diagnose einer minimalen HE

beizutragen. Das könnte zu einer zielgerichteteren Behandlung, verbesserten Prognose und erhaltenen Lebensqualität führen.

Diese Arbeit hatte deshalb zum Ziel, die NfL-Konzentration im Blutserum von Patientinnen und Patienten mit MHE zu messen und mit denen neurologischer Patientinnen und Patienten und gesunder Kontrollen zu vergleichen. Außerdem sollte der diagnostische Wert erhöhter NfL-Werte zur Detektion einer MHE evaluiert werden.

## **2 Literaturdiskussion**

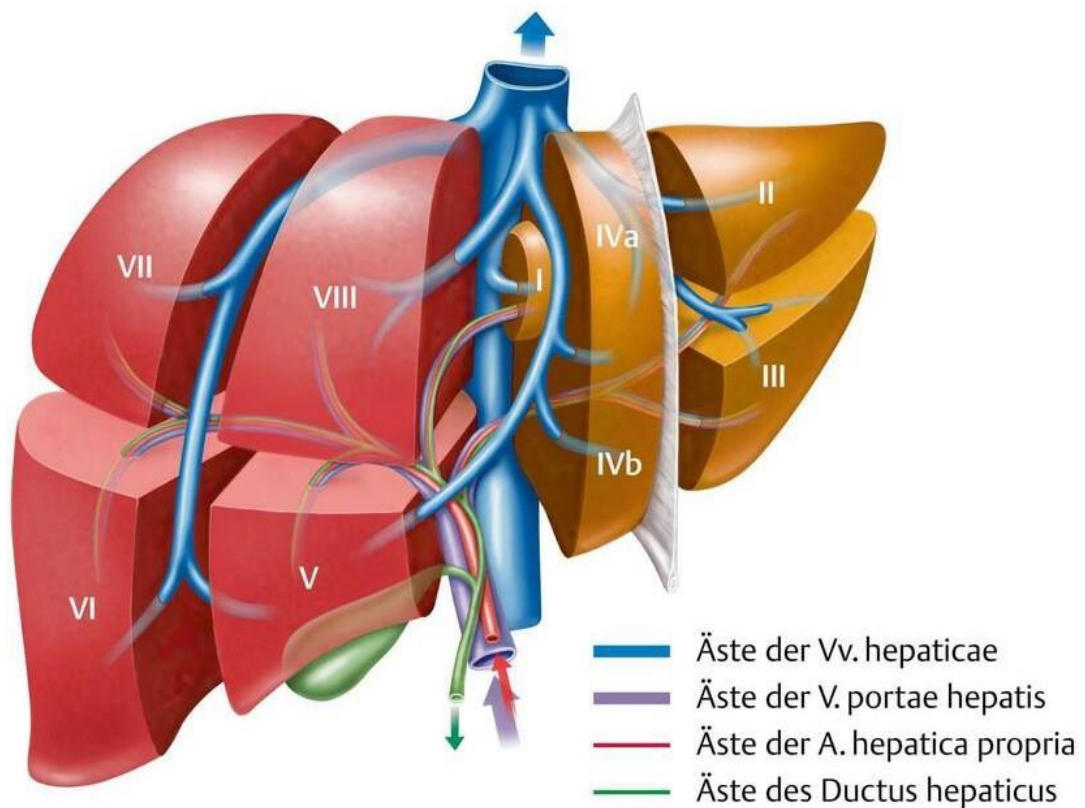
### **2.1 Aufbau und Funktion der Leber**

Die Leber liegt intraperitoneal im rechten Oberbauch und ist mit einer Masse von etwa 1,5 kg das größte Stoffwechselorgan des menschlichen Körpers.

Anatomisch wird sie in vier Lappen unterteilt: Lobus hepatis dexter, Lobus hepatis sinister, Lobus quadratus und Lobus caudatus. Funktionell, also entsprechend ihrer Blutversorgung bzw. des Galleflusses wird die Leber in acht Segmente eingeteilt, hierbei bilden die Segmente I – IV den linken und V – VIII den rechten Lappen (siehe Abbildung 1).

Die Leber wird mit ca. 15% des Herz-Zeit-Volumens sehr gut durchblutet, was ihre zentrale Rolle in der Entgiftung des Körpers ermöglicht. Dabei stammt ca. 25% der Blutzufuhr aus ihrem *vas privata*, der *A. hepatica propria*, die anderen 75% hingegen aus ihrem *vas publica*, der *V. portae*, welches das venöse Blutvolumen aller unpaaren Bauchorgane zur Leber führt (Brenner, 2018, Schünke et al., 2018).

Abbildung 1: Unterteilung der Leber in Segmente (Schünke et al., 2018)

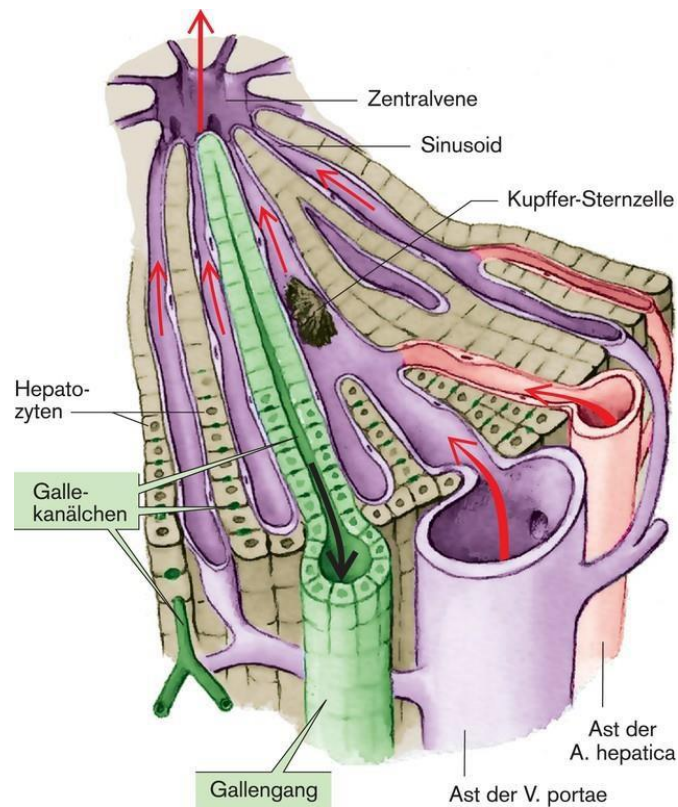


Mikroskopisch ist die Leber aus Leberläppchen aufgebaut, die jeweils um eine Zentralvene herum angeordnet sind. Am Rand der Leberläppchen befinden sich die sogenannten Portalfelder, die aus je einem Ast der V. Portae, der A. hepatica propria und einem Gallengang bestehen, die man zusammen auch als Glisson-Trias bezeichnet. Innerhalb dieser Läppchen stellt der keilförmige Ausschnitt eines Leberläppchens zwischen zwei Ästen der A. hepatica propria und einer Zentralvene eine Funktionseinheit dar, die man Azinus nennt (siehe Abbildung 2).

Die jeweiligen Äste der A. hepatica propria und der V. portae münden gemeinsam in die Lebersinusoide. In diesen fließt sauerstoff- und nährstoffreiches Blut in Richtung der Zentralvene in der Mitte des einzelnen Leberläppchens. Die Auskleidung der Sinusoide mit Endothelzellen ohne dichte Basalmembran erlaubt, dass das Blutvolumen in unmittelbarem Kontakt zu den umgebenden Hepatozyten kommt. Dadurch können die Hepatozyten, die ca. 80% des Gesamtzellgehalts der Leber

ausmachen, ihre zentrale Aufgabe im Stoffwechsel übernehmen. Den schmalen Spalt zwischen Sinusoid und Hepatozyt nennt man Dissé-Raum (Brenner, 2018).

Abbildung 2: Feinaufbau der Leber, Schematischer Aufbau eines Leberläppchens (Brenner, 2018)



Zu den Aufgaben der Leber gehören zum Beispiel die Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels, die Synthese von Gallenflüssigkeit, Plasmaproteinen und Hormonen, die Speicherung von einigen Mikronährstoffen und Teile der Immunabwehr. Die Biotransformation, also Entgiftung, von sowohl körpereigenen Stoffen wie Bilirubin als auch von körperfremden Stoffen wie Alkohol oder Medikamenten ist daneben eine der wichtigsten Aufgaben der Hepatozyten (Schmidt, 2019). Ethanol wird zum Beispiel innerhalb der Hepatozyten durch das Enzym Alkoholdehydrogenase über Zwischenschritte zu Acetyl-CoA metabolisiert, wodurch die intrahepatische Triglyceridsynthese stimuliert wird. Durch die Ansammlung der Triglyceride in den Hepatozyten entstehen die typischen pathologischen

Veränderungen des Leberparenchyms bei chronischem Alkoholabusus, wie Hepatomegalie und Steatohepatitis.

Eine weitere Funktion liegt in der Ammoniakentgiftung, welche größtenteils in der Leber stattfindet. Hierbei wird der toxische Ammoniak, der im Körper durch den Aminosäurestoffwechsel anfällt, zu Harnstoff umgewandelt und kann so über die Nieren ausgeschieden werden (Heinrich, 2014).

Die zahlreichen Funktionen der Leber werden durch verschiedene Botenstoffe wie Zytokine und Hormone sowie durch intrazelluläre Mechanismen gesteuert. Ein weiterer Mechanismus zur Steuerung der Enzymaktivität in der Leber ist die Aufnahme oder Abgabe von osmotisch wirksamen Teilchen, durch die eine Zellschwellung oder -schrumpfung bewirkt werden kann. Auch die Innervation und Genexpression spielen bei der Regulation der Funktion der Leber eine Rolle (Heinrich, 2014, Schmidt, 2019).

Neben der großen Zahl an Hepatozyten sind zwei weitere Zelltypen wichtig für die Speicher- und Immunfunktion des Leberparenchyms: die Kupffer-Sternzellen, welche vor allem eine Rolle in der Immunabwehr einnehmen und die Ito-Zellen, auch hepatische Sternzellen (HSC) genannt. Sie speichern Vitamin-A, regulieren den Blutfluss in den Sinusoiden und sind maßgeblich an der Entstehung von Leberzirrhose bei Schädigung des Leberparenchyms beteiligt (Gerok, 2007, Harrison et al., 2012).

## **2.2 Leberzirrhose**

Die Leberzirrhose ist die pathologische Gewebeveränderung der Leber, die aus einer Vielzahl von schädigenden Faktoren resultieren kann. Die chronische Entzündung übersteigt die Fähigkeit der Leber zur Regeneration und führt so zu irreversiblen Umbauten der Parenchymarchitektur. Histopathologisch besteht das definierende Merkmal der Zirrhose im fibrotischen Umbau mit Entstehung von bindegewebigen Septen und sogenannten Regeneratknoten. Je nach Größe dieser Knoten kann man die Leberzirrhose in mikronoduläre, makronoduläre und gemischtknotige differenzieren (Harrison et al., 2012). Induziert wird der fibrotische Umbau durch die Ito-Zellen, die auf die dauerhafte Entzündung und auf von Kupffer-Sternzellen sezernierte Zytokine (TNF- $\alpha$  und TGF- $\beta$ ) mit der überschießenden Produktion von Komponenten der extrazellulären Matrix reagieren.

Auf diese Weise werden einerseits Hepatozyten direkt zerstört, andererseits werden die Sinusoide und Dissé-Räume durch Bindegewebe unterbrochen, was die Durchblutung und damit die Funktion der Leber erheblich einschränkt (Harrison et al., 2012). Der Umbau des Gewebes führt konsekutiv zu einem Blutstau in der V. portae mit Ausbildung einer portalen Hypertension. Dies kann zur Ausbildung von Umgehungskreisläufen mit Shunting von Blut aus der V. portae in den Körperkreislauf unter Umgehung der Leber führen, ohne dass ein Stoffaustausch mit den Hepatozyten stattfinden kann (Schuppan and Afdhal, 2008).

In Europa und Nordamerika erkranken jedes Jahr ca. 250 pro 100.000 Menschen neu an einer Leberzirrhose, wobei Männer doppelt so häufig betroffen sind wie Frauen (Herold, 2023). Die Prävalenz liegt in Deutschland bei schätzungsweise 1 Millionen Menschen, wobei ca. 22.000 davon jedes Jahr versterben (gbe-Bund, 07.11.2020).

Die Ätiologie der Leberzirrhose ist sehr vielfältig und kann in toxische, infektiöse, autoimmune, vaskuläre und metabolische Genesen eingeteilt werden (siehe Tabelle 1).

*Tabelle 1: Ätiologie der Leberzirrhose nach Herold 2020 und Gerok 2007*

<b>Toxisch:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alkohol</li> <li>- Medikamente</li> </ul>
<b>Infektiös:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Virushepatitis B</li> <li>- Virushepatitis C</li> <li>- Parasitäre Infektionen (Leishmaniose, Bilharziose)</li> </ul>
<b>Autoimmun:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Primär biliäre Cholangitis (PBC)</li> <li>- Primär sklerosierende Cholangitis (PSC)</li> <li>- Autoimmunhepatitis (AIH)</li> </ul>
<b>Vaskulär:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pfortaderthrombose</li> <li>- Budd-Chiari-Syndrom</li> </ul>

<b>Metabolisch:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- NASH</li> <li>- Hämochromatose</li> <li>- Morbus Wilson</li> <li>- <math>\alpha_1</math>-Antitrypsin-Mangel</li> <li>- Porphyrien</li> <li>- Mukoviszidose</li> </ul>
<b>Kryptogen:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Unbekannte Genese</li> </ul>

Die mit Abstand häufigste Ätiologie der Leberzirrhose ist dabei in Deutschland der chronische Alkoholabusus gefolgt von der nicht-alkoholischen Steatohepatitis (NASH), welche zusammen 50-60% der Zirrhosen bewirken. Die zweithäufigste Ursache sind die chronischen Virushepatitiden B und C. Sie sind für ca. 40% der Leberzirrhosen verantwortlich. Nur ungefähr 5% der Leberzirrhosen sind auf andere Auslöser zurückzuführen (Herold, 2023).

In frühen, kompensierten Stadien ist die Leberzirrhose zumeist asymptomatisch oder wird nur von unspezifischen Allgemeinsymptomen wie Müdigkeit und Leistungsminderung begleitet. In manchen Fällen weisen die sogenannten Leberhautzeichen auf eine Erkrankung der Leber hin und sind auch bei kompensierten Patientinnen und Patienten sichtbar. Beispiele sind Teleangiektasien, Gefäßspinnen (Spider naevi) auf Gesicht und Oberkörper, Palmarerytheme oder eine Bauchglätze (Herold, 2023, Schuppan and Afdhal, 2008). Durch das Fehlen früher Symptome werden Patientinnen und Patienten nicht selten erst mit Komplikationen einer Leberzirrhose klinisch vorstellig, ohne zuvor die Diagnose einer Lebererkrankung erhalten zu haben (Schuppan and Afdhal, 2008). Das Auftreten von Komplikationen wie Aszites, gastrointestinalen Blutungen, Ikterus oder HE-Episoden definiert das Vorliegen einer dekompenzierten Leberzirrhose (Gerok, 2007). Diese Komplikationen gehen mit einem erheblichen Letalitätsrisiko und mit einer generell schlechten Prognose einher (Wittenburg et al., 2011). Patientinnen und Patienten im dekompenzierten Stadium haben ohne Lebertransplantation eine 5-Jahres-Mortalität von etwa 85% (Schuppan and Afdhal, 2008).

## 2.3 Prognose, Scores

Zur Einschätzung der Prognose und des Schweregrades der Leberzirrhose sind verschiedene Scores etabliert und validiert worden. Aktuell sind der Child-Pugh-Score und der MELD-Score klinisch am bedeutsamsten.

Der Child-Pugh-Score, als Modifikation des Child-Turcotte-Scores von 1973 durch Pugh et al. dient als Instrument zur Evaluation der Leberdysfunktion und der 1-Jahres-Überlebensrate bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose (Peng et al., 2016). Der Score wird aus klinischen sowie laborchemischen Parametern berechnet und teilt so den Schweregrad der Leberzirrhose in A (gute Leberfunktion, fast 100% 1-Jahres-Überlebensrate), B (eingeschränkte Leberfunktion, ca. 85% 1-Jahres-Überlebensrate) und C (massive Leberdysfunktion, ca. 35% 1-Jahres-Überlebensrate) ein (Herold, 2023).

*Tabelle 2: Berechnung des Child-Pugh-Scores (Ludwig, 2020)*

Parameter	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte
<b>Albumin</b>	> 3,5g/dl	2,8–3,5g/dl	< 2,8g/dl
<b>Bilirubin</b>	<2mg/dl	2–3mg/dl	> 3mg/dl
<b>Quick-Wert (INR)</b>	>70% (<1,7)	40–70% (1,7–2,3)	<40% (>2,3)
<b>Aszites</b>	Kein (minimal)	Mäßig	Viel
<b>Enzephalopathie</b>	Keine	Grad I–II	Grad III–IV

Nach Addition der einzelnen Werte ergibt sich so der Child-Pugh-Score (Child-Pugh A = 5–6 Punkte, Child-Pugh B = 7–9 Punkte, Child-Pugh C = 10–15 Punkte).

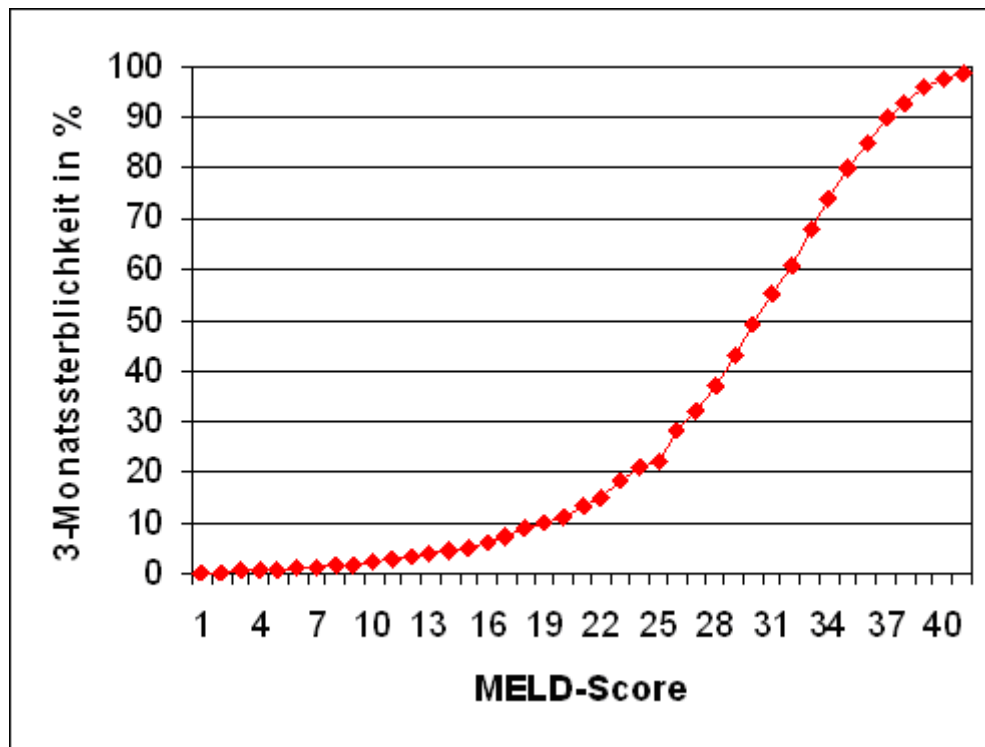
Ein weiterer Score zur Prädiktion der Mortalitätsrate ist der MELD-Score, der Werte zwischen 6 und 40 vergibt. Er dient der Berechnung der prozentualen 3-Monat-Überlebensrate und wird in Deutschland vor allem für die Priorisierung zur Lebertransplantation genutzt (Schuppan and Afdhal, 2008). Der MELD-Score berechnet sich ausschließlich aus laborchemischen Parametern nach der folgenden Formel:



$$\mathbf{MELD - Score = 10 \times (0,957 \times \ln(Kreatinin[\frac{mg}{dl}]) + 0,378 \times \ln(Bilirubin[\frac{mg}{dl}]) + 1,12 \times \ln(INR) + 0,643)}$$

Er ist somit objektiver als der Child-Pugh-Score, allerdings beachtet er keine Komplikationen wie Aszites oder HE, die einen erheblichen Einfluss auf die Prognose nehmen (Bernardi et al., 2011). Je höher der MELD-Score ist, desto höher ist die Sterblichkeitsrate ohne Lebertransplantation in den nächsten 3 Monaten (siehe Abbildung 3).

Abbildung 3: 3-Monats-Sterblichkeit in Abhängigkeit vom MELD-Score (Universitätsmedizin, 11.11.2013)



## 2.4 Komplikationen der Leberzirrhose

Im klinischen Verlauf der Leberzirrhose können sich durch die Vielzahl der Funktionen der Leber verschiedene Komplikationen ergeben. Diese sind unabhängig von der Genese der Parenchymschädigung und haben erhebliche Folgen für die Prognose und Lebensqualität der Patientinnen und Patienten (Janani et al., 2018, Schuppan and Afdhal, 2008). Die häufigsten Komplikationen, die oft schon bei Diagnosestellung der Leberzirrhose bestehen, sind die portale Hypertension, Aszites, die spontan bakterielle Peritonitis (SBP), Ösophagusvarizenblutungen, die HE und das hepatorenale Syndrom (HRS). Diese Komplikationen bedingen und begünstigen sich teilweise gegenseitig, zum Beispiel führt eine Hypertension in der V. portae zur Bildung von Gefäßkollateralen und verursacht so die Entstehung von gastroösophagealen Varizen (Seo, 2018).

### **2.4.1 Portale Hypertension**

Die portale Hypertension ist die häufigste Komplikation bei Leberzirrhose. Definiert ist sie durch den Druckanstieg in der V. portae auf über 10mmHg. Durch den strukturellen Umbau des Lebergewebes mit Einengung der Sinusoide und Lebervenen, sowie Fibrosierung des Dissé-Raums kommt es zu einem erhöhten Strömungswiderstand innerhalb der Leber. Dadurch bedingt kommt es mit fortschreitender Zirrhose zur portalen Hypertension (Iwakiri, 2014). Wenn der portalvenöse Druck, der physiologisch 3-6mmHg beträgt, über 10-12mmHg ansteigt, formen sich Kollateralen der V. portae und schaffen so einen pathologischen Fluss des portalen Blutvolumens in das venöse Gefäßsystem des Körperkreislaufs (Iwakiri, 2014). Je nach Ausprägung der portalen Hypertension kann darüber hinaus eine Dilatation der arteriellen viszerale Gefäße beobachtet werden, die vermutlich durch Stickstoffmonoxid (NO) bedingt ist. Dies hat die Konsequenz eines vermehrten Blutflusses in der V. portae und verstärkt so wiederum den portalen Überdruck (Iwakiri, 2014).

Die portale Hypertension bedingt einige weitere Komplikationen, die erheblich zur Mortalität bei Leberzirrhose beitragen. Im Folgenden werden einzelne dieser Komplikationen beschrieben.

### **2.4.2 Aszites**

Eine der häufigsten Komplikationen der Leberzirrhose ist der Aszites (intraperitoneale Ansammlung seröser Flüssigkeit). Ca. 60% der Patientinnen und Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose entwickeln innerhalb von 10 Jahren Aszites, welcher oft das erste Anzeichen einer Dekompensation der Zirrhose und mit einer erheblichen Erhöhung der Mortalität verbunden ist (EASL, 2010). Bedingt wird Aszites vor allem durch die portale Hypertension, durch die verschiedene Mechanismen des Wasserverlusts in die Bauchhöhle entstehen. Einerseits führt der erhöhte hydrostatische Druck in der V. portae und in den ihr vorgeschalteten abdominalen Gefäßen in Kombination mit dem verringerten kolloidosmotischen Druck durch das Fehlen von Albumin durch das zunehmende Leberversagen zur Exsudation von Serum in die Bauchhöhle.

Verstärkt wird dies andererseits durch die Vasodilatation viszeraler Arterien durch vermehrte NO-Ausschüttung. Dadurch kommt es zu Hypotension und somit zur Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) und anderer Vasokonstriktoren. Das so retinierte Wasser verstärkt den Aszites zusätzlich (Ginès et al., 2004). Der Aszites kann zu weiteren Komplikationen, wie zum Beispiel zu einem HRS oder einer SBP führen, die die Lebenserwartung von Leberzirrhose Patientinnen und Patienten weiter einschränken.

### **2.4.3 Gastroösophageale Varizen, Blutungen**

Wenn der Druck in der V. portae über 10mmhg ansteigt, bilden sich Gefäßkollateralen zwischen dem portalvenösen System und dem venösen System des Körperkreislaufs. Diese sind vor allem als gastroösophageale Varizen eine lebensbedrohliche Komplikation (Seo, 2018, Wittenburg et al., 2011). Bei Fortbestehen oder Eskalation des erhöhten Drucks kommt es zum Wachstum der Varizen und das Risiko einer Ruptur und damit einer akuten Varizenblutung steigt. Das Mortalitätsrisiko durch eine gastroösophageale Varizenblutung liegt in den ersten sechs Wochen ab der Blutung bei bis zu 30% (Garcia-Tsao and Bosch, 2010).

### **2.4.4 Spontan-bakterielle Peritonitis**

10-30% der Patientinnen und Patienten mit Aszites entwickeln im Erkrankungsverlauf eine SBP, welche sich durch eine Infektion der Aszitesflüssigkeit ohne intraabdominelle Infektionsquelle präsentiert (Ginès et al., 2004). Ihre Genese liegt sowohl in der bakteriellen Translokation zugunsten pathologischer Darmkeime innerhalb des Magen-Darm-Traktes als auch im Verlust der Funktion der Darmmukosa als Barriere zwischen Darmlumen und Bauchhöhle (Căruntu and Benea, 2006). Wie die anderen Komplikationen der Leberzirrhose verschlechtert eine SBP die Prognose der Patientinnen und Patienten erheblich und begünstigt das Auftreten anderer Komplikationen, wie zum Beispiel das HRS oder die HE (Wittenburg et al., 2011).

## 2.4.5 Das hepatorenale Syndrom

Das HRS ist definiert als Nierenversagen bei Patientinnen und Patienten mit fortgeschrittener Lebererkrankung, dem keine andere Pathogenese als das chronische Leberversagen vorausgeht. Es wird in eine akute Form, das HRS-Acute Kidney Injury (HRS-AKI) und eine chronische Form, das HRS-Non Acute Kidney Injury (HRS-NAKI), unterteilt (Angeli et al., 2019). Zur Diagnose eines HRS-AKI müssen folgende Kriterien erfüllt sein:

- Leberzirrhose mit Aszites, akutes Leberversagen oder akut auf chronisches Leberversagen (ACLF)
- Anstieg des Serumkreatinins um 0,3mg/dl oder um das 1,5-fache des Ausgangswertes innerhalb von 48 Stunden und/oder Rückgang der Urinausscheidung auf <0,5ml/kg Körpergewicht innerhalb von mehr als 6 Stunden
- keine Verbesserung des Serumkreatinins nach Absetzen der Diuretika und Volumenexpansion mit Albumin für mindestens 2 Tage
- kein Vorliegen eines Schocks
- keine aktuelle oder kürzliche Einnahme nephrotoxischer Substanzen
- Ausschluss struktureller Nierenerkrankungen durch das Fehlen einer Proteinurie oder Hämaturie sowie durch den unauffälligen Befund einer Ultraschalluntersuchung der Nieren

Die HRS-NAKI hingegen ist als Form der chronischen Niereninsuffizienz definiert durch eine glomeruläre Filtrationsrate (GFR) von <60ml/min/1,73m<sup>2</sup> über mindestens 3 Monate, die durch eine Lebererkrankung bedingt ist (Angeli et al., 2019).

Die HRS-AKI entsteht einerseits durch die Vasodilatation der splanchnischen Gefäße und der daraus resultierenden Verminderung des effektiven arteriellen Blutvolumens, andererseits durch die Aktivierung des RAAS, wodurch es zu einer Minderperfusion der Nieren kommt (EASL, 2010).

Das Auftreten einer HRS-AKI wird durch andere Komplikationen wie die SBP begünstigt und seine Prognose ist mit einer 4-Wochen-Letalität von ca. 90% überaus schlecht (Wittenburg et al., 2011).

## **2.5 Die hepatische Enzephalopathie**

Die HE ist eine durch akute oder chronische Lebererkrankungen hervorgerufene potenziell reversible Störung des ZNS und mit motorischen, kognitiven und psychiatrischen Veränderungen verbunden (Butterworth, 2019). Das Lebenszeitrisiko für eine overte HE (OHE) liegt bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose bei 30-40% (Labenz et al., 2017c). Eine coverte HE (CHE) tritt mit einer Prävalenz von 40-60% noch häufiger auf (Das et al., 2001, Liu and Chen, 2022).

Für die Prognose der Patientinnen und Patienten ist die HE ein erheblicher Faktor, die 5-Jahres-Überlebensrate liegt nach einer HE bei nur 15%, während das Risiko für eine erneute HE-Episode innerhalb eines Jahres auf 40% steigt (Vilstrup et al., 2014, AASLD, 2014). Zudem schränkt die HE die Lebensqualität betroffener Patientinnen und Patienten erheblich ein und kann langfristige kognitive Defizite nach sich ziehen (Bajaj et al., 2020, Ridola et al., 2018). Diese Defizite in Bezug auf Lernfähigkeit, Reaktionsgeschwindigkeit und Gedächtnis sind auch nach Abklingen einer OHE-Episode als anhaltend und sogar mit jeder weiteren HE-Episode als aggraviert beobachtet worden (Bajaj et al., 2010).

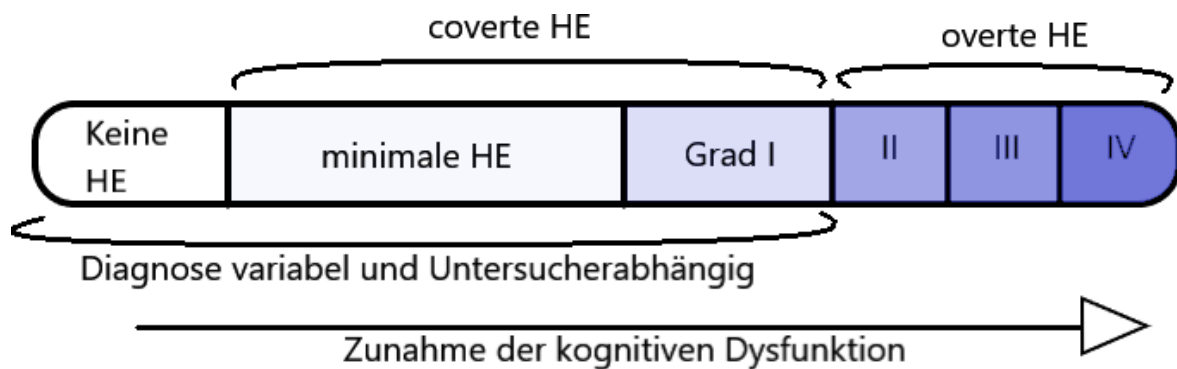
### **2.5.1 Einteilung der hepatischen Enzephalopathie**

Die HE wird anhand ihrer Genese und nach ihrem Schweregrad eingeteilt. Hinsichtlich der Genese unterscheidet man Typ A (durch akutes Leberversagen), Typ B (durch portosystemische Shunts) und Typ C (durch Leberzirrhose) (Ludwig, 2020).

Hinsichtlich des Schweregrades wird die HE nach der West-Haven-Klassifikation in minimale HE (MHE) und HE Grad I-IV unterteilt. Die MHE und Grad I werden als CHE, Grad II-IV als OHE zusammengefasst. Die Ausprägung der neurokognitiven Symptome bestimmt hierbei welcher Grad der HE vorliegt (Weissenborn, 2019).

Patientinnen und Patienten mit einer MHE haben per definitionem keine klinisch detektierbaren Defizite, die Erkrankung kann deshalb nur mittels psychometrischer und neurophysiologischer Tests diagnostiziert werden. Sie stellt somit einen Sonderfall dar und wird in der klinischen Routine häufig nicht erkannt (Labenz et al., 2017a).

Abbildung 4: Einteilung der HE (Ridola et al., 2020)



Patientinnen und Patienten mit einer HE Grad I zeigen subtile psychiatrische Auffälligkeiten wie Nervosität, leichte Persönlichkeitsveränderungen oder euphorische Stimmung. Hinzu kommen teilweise Konzentrationsschwäche, Schlafstörungen, Verwahrlosungstendenzen und Probleme, einfache Rechenaufgaben zu lösen (Gerbes et al., 2019).

Ab Grad II spricht man von einer OHE, da die Symptome ab diesem Stadium klinisch offensichtlich werden. Die Patientinnen und Patienten sind zumeist zeitlich desorientiert, apathisch und zeigen deutliche Verhaltensauffälligkeiten.

Grad III ist charakterisiert durch Somnolenz, Desorientierung zu Zeit, Ort und Situation und ein allgemein bizarres Verhalten der Patientinnen und Patienten.

Bei einer HE Grad IV sind Patientinnen und Patienten komatös und reagieren nicht mehr auf externe Stimuli (Weissenborn, 2019).

Neuromotorische Auffälligkeiten wie Asterixis (auch Flattertremor genannt), Ataxie oder Hypomimie können gelegentlich bereits bei Patientinnen und Patienten mit HE Grad I-II beobachtet werden und sind Ausdruck der extrapyramidalen Dysfunktion durch die Lebererkrankung (Das et al., 2001).

Die HE tritt zumeist episodisch auf, sodass zwischen einzelnen Episoden symptomfreie Intervalle liegen. Auch wenn sie sich in ihren klinischen Symptomen in den meisten Fällen reversibel zeigt, kann eine Persistenz der neurokognitiven Einschränkung der Patientinnen und Patienten bestehen. Diese nimmt tendenziell mit jeder HE-Episode im Krankheitsverlauf zu (Bajaj et al., 2010). Häufig kann ein auslösendes Ereignis wie zum Beispiel eine Infektion, eine gastrointestinale Blutung oder eine Elektrolytentgleisung im Voraus beobachtet werden (Weissenborn, 2019).

### **2.5.2 Pathogenese der hepatischen Enzephalopathie**

Die Entstehung der HE ist komplex und nicht vollumfänglich verstanden (Romero-Gómez et al., 2015). Es wird eine multifaktorielle Genese angenommen.

Eine zentrale Rolle in der Pathogenese der HE spielt Ammoniak. Dieses wird im Körper durch das Mikrobiom im Darm und im Aminosäurestoffwechsel produziert. Bei intakter Leberfunktion wird Ammoniak über die V. portae zur Leber geleitet und dort durch die Hepatozyten zu Harnstoff und Glutamin umgewandelt, die durch die Niere ausgeschieden werden können. Durch das Vorliegen einer Leberzirrhose wird dieser Mechanismus an verschiedenen Stellen gestört, wodurch es zur Akkumulation von Ammoniak im Körperkreislauf kommt. Zum einen wird das venöse Blutvolumen aus dem Magen-Darm-Trakt durch die bereits beschriebenen Kreislaufkollateralen an der Leber vorbeigeleitet und gelangt ohne Entgiftung in den systemischen Kreislauf.

Zum anderen sind die Hepatozyten bei einer Leberzirrhose nicht mehr in der Lage, den Ammoniak suffizient zu metabolisieren, sodass selbst der Anteil an Ammoniak, das die Lebersinusoiden erreicht, nicht verstoffwechselt werden kann (Patidar and Bajaj, 2015).

Durch Hypomobilität des Darmtraktes, erhöhte Durchlässigkeit der Darmmukosa und Überbesiedlung des Dünndarms mit Bakterien kommt es bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose zu einer pathologischen Veränderung des Mikrobioms in Dick- und Dünndarm. Dieser Zustand wirkt sich ebenfalls negativ auf die Ammoniakentgiftung aus, da die Darmbakterien, die bei Leberzirrhose überwiegend den Darmtrakt besiedeln, eine große Menge an Ammoniak produzieren (Rai et al., 2015). Kumuliert führen diese Komponenten zu einem pathologisch erhöhten Ammoniakspiegel im Blut und schließlich zum Übertritt von Ammoniak aus dem Blut

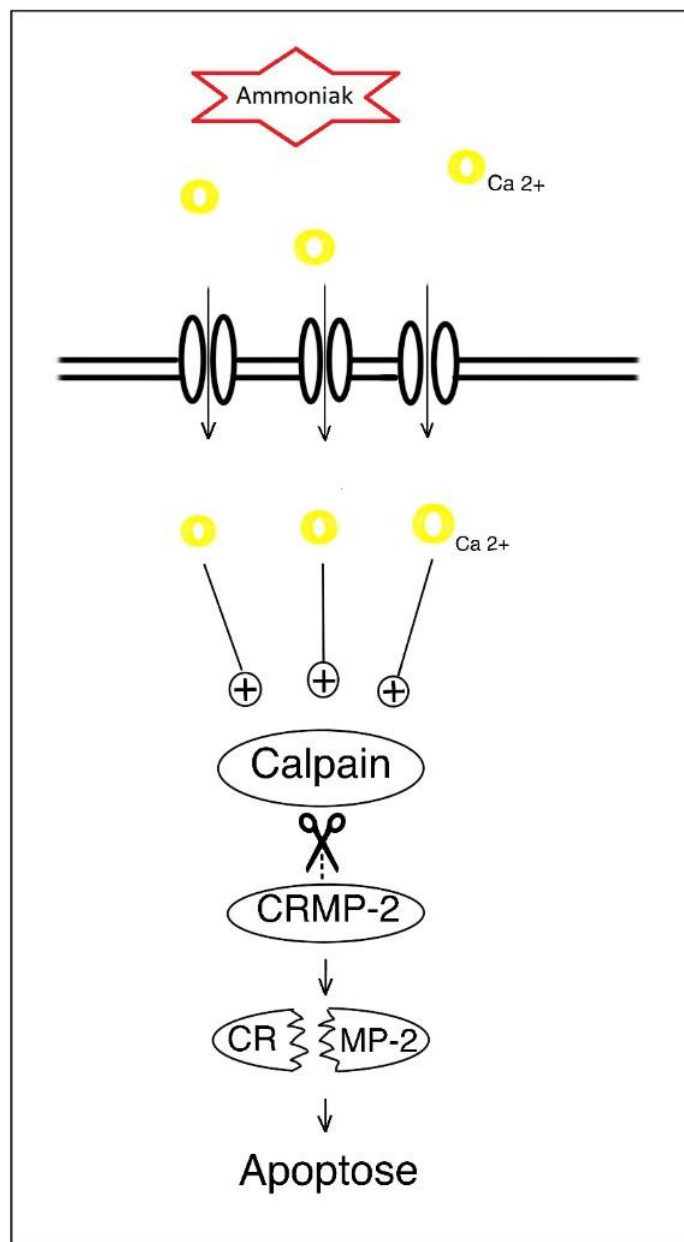


über die Blut-Hirn-Schranke in das Gehirn (Ott and Larsen, 2004). Im ZNS hat Ammoniak eine toxische Wirkung auf Neurone und Astrozyten. Astrozyten übernehmen im ZNS Funktionen der Kommunikation, des Stoffwechsels und als Stützgewebe (Heinrich, 2014). Sie wandeln Ammoniak in osmotisch wirksames Glutamin um und schwellen so unter erhöhten Ammoniakspiegeln in Blut und ZNS an. Dadurch kommt es zu einem geringgradigen Hirnödem, das die Funktion und Kommunikation der Zellen im ZNS stört, jedoch potenziell reversibel ist (Bleibel and Al-Osaimi, 2012, Gerbes et al., 2019, Klejman et al., 2005).

Cai und Mitarbeitende konnten zeigen, dass es durch erhöhte Ammoniakspiegel im Blut auch zu direkten neuronalen Schäden kommt (Cai et al., 2019). Ammoniak führt im ZNS zu einer Dysregulation des Calciumhaushaltes der Neurone. Durch erhöhte intrazelluläre Calciumspiegel werden calciumabhängige Enzyme aktiviert. Eines davon ist Calpain, das in der Lage ist, das Collapsin Response Mediator Protein 2 (CRMP-2) zu spalten. CRMP-2 übernimmt wichtige Funktionen für die Stabilität von Neuronen, vor allem der Axone. Seine ammoniakabhängige Spaltung führt zur Destabilisierung der Axone und schließlich zur Apoptose des dazugehörigen Neurons (siehe Abbildung 5). Im Gegensatz zur ödematösen Schwellung der Gliazellen ist dieser Vorgang nicht reversibel. Zusätzlich können oxidativer Stress und stärkere Aktivierung von NMDA-Rezeptoren im Rahmen einer Leberzirrhose zur Neurodegeneration führen.

Sowohl die Schwellung von Gliazellen als auch die Degeneration von Neuronen konnte in Tiermodellen in HE-Episoden vor allem im Kleinhirn und in den Basalganglien beobachtet werden (García-Lezana et al., 2017).

Abbildung 5: Ammoniakabhängige Spaltung von CRMP-2 (Cai et al., 2019)



Durch die Zirrhose bedingte portale Hypertension kommt es zudem zu vermehrtem Keimübertritt aus dem Darm in den Systemkreislauf. Dies bedingt eine chronische, systemische Inflammation bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose mit erhöhten Konzentrationen von Zytokinen wie TNF- $\alpha$ , Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, IL-8 und IL-12. Die Entzündungsmediatoren potenzieren den neurotoxischen Effekt von Ammoniak und verstärken die Schwellung der Gliazellen (Bleibel and Al-Osaimi, 2012, Patidar and Bajaj, 2015) . Bei Patientinnen und Patienten mit MHE konnten vor allem

erhöhte Konzentrationen von IL-6 und IL-8 beobachtet werden (Cabrera-Pastor et al., 2019).

Diese irreversiblen Pathomechanismen der HE decken sich mit den bereits erwähnten Ergebnissen von (prä-)klinischen Studien, in denen bleibende neuro-kognitive Einschränkungen bei Patientinnen und Patienten nach OHE-Episoden festgestellt wurden (Bajaj et al., 2010, Bajaj et al., 2020).

### **2.5.3 Diagnostik der hepatischen Enzephalopathie**

Da die HE bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose eine häufige Komplikation ist und die Prognose negativ beeinflusst, ist ihre Diagnosestellung ein wichtiger Teil der Behandlung. Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose sollten laut aktuellen Leitlinien im Verlauf ihrer Erkrankung regelmäßig auf klinische Symptome einer OHE untersucht werden. Goldstandard hierbei ist die West-Haven-Klassifikation (WHC). Dazu können weitere klinische Methoden wie Anamneseerhebung oder die Glasgow-Coma-Scale (GCS) zur Einschätzung der HE dienen (Vilstrup et al., 2014). Zusätzlich sind, um die subtilen neuropsychiatrischen Veränderungen bei Grad I zu untersuchen, eine ausführliche Anamnese und, wenn möglich, auch eine Fremdanamnese sinnvoll (Gerbes et al., 2019).

Obwohl aus pathophysiologischer Sicht plausibel, ist die Untersuchung des Ammoniakspiegels im Blutserum zur Diagnosestellung nicht sinnvoll, da die Höhe des Spiegels nicht zwingend mit dem Grad der HE korreliert und die gemessene Konzentration von Ammoniak im Blut durch Abnahmetechnik und Transport zum Labor erheblich schwanken kann (Vilstrup et al., 2014).

Die Diagnosestellung der MHE kann nur mit spezialisierten neurophysiologischen und psychometrischen Verfahren erfolgen. Hierauf wird detaillierter in nachfolgenden Kapiteln eingegangen.

## 2.5.4 Therapie der hepatischen Enzephalopathie

Zur Therapie der HE, vor allem bei niedrigen Graden (MHE und HE Grad 1), gibt es nur wenige, zudem uneinheitliche Empfehlungen.

Bei Patientinnen und Patienten mit OHE sollte zunächst nach einem potenziellen Auslöser gesucht werden. In bis zu 90% der OHE-Episoden kann ein solches Ereignis gefunden werden. Die Therapie des Auslösers kann die HE verbessern oder sogar beseitigen (Gerbes et al., 2019). Häufige Ereignisse, die einer HE-Episode vorausgehen sind in Tabelle 3 aufgelistet. Durch engmaschige Betreuung und Therapie oder Prävention dieser Auslöser kann dem Fortbestehen einer HE-Episode beziehungsweise ihrer Eskalation vorgebeugt werden (Pantham et al., 2017).

*Tabelle 3: Mögliche Auslöser einer HE (Pantham et al., 2017)*

<b>Veränderungen im Elektrolyt- und Wasserhaushalt</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Exsikkose</li><li>- Hypokaliämie</li><li>- Hyponatriämie</li><li>- Parazentese von großen Mengen Aszites</li></ul>
<b>Ammoniakerrhöhung</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Obstipation</li><li>- Gastrointestinale Blutungen</li><li>- TIPS-Implantation</li><li>- Akutes Nierenversagen</li><li>- Nichteinnahme Lactulose</li></ul>
<b>Infektionen</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- SBP</li><li>- Harnwegsinfekte</li><li>- Respiratorische Infektionen</li><li>- Gastrointestinale Infektionen</li></ul>
<b>Medikamente</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Benzodiazepine</li><li>- Diuretika</li></ul>

Unabhängig vom Auslöser sollten soporöse Patientinnen und Patienten (HE Grad III) intensivmedizinisch betreut, und aufgrund der massiven Bewusstseinsbeeinträchtigung sollte eine Intubation frühzeitig erwogen werden (Gerbes et al., 2019).

Die medikamentöse Erstlinientherapie der Wahl bei akuter OHE als auch zur Sekundärprophylaxe nach abgelaufener OHE-Episode ist die orale Gabe von nicht resorbierbaren Disacchariden wie Lactulose oder Lactitol. Die Wirkung der Lactulose beruht auf verschiedenen Eigenschaften, die alle eine Senkung des Ammoniakspiegels im Blutserum zur Folge haben. Lactulose kann im Magen und Dünndarm nicht gespalten werden und gelangt so unverstoffwechselt in den Dickdarm. Dort hat die Lactulose einerseits eine osmotische Wirkung, weshalb sie die Darmpassagezeit verkürzt und so als Laxans fungiert. So kann vermehrt Ammoniak ausgeschieden werden. Andererseits senkt sie den intraluminalen pH-Wert, was dazu führt, dass Ammoniak zu Ammoniakionen oxidiert wird und nicht mehr in den Körperkreislauf resorbiert werden kann. Zusätzlich begünstigt die Lactulose eine Veränderung des Mikrobioms mit Fokus auf Ammoniak abbauende Spezies (Kornerup et al., 2018).

Eine weitere medikamentöse Therapiemöglichkeit sind schwer resorbierbare Antibiotika wie Rifaximin. Diese entfalten ihre Wirkung fast ausschließlich im Darmlumen und führen dort zu einer qualitativen und quantitativen Verbesserung des Mikrobioms. Rifaximin wird aktuell zur Kombinationsbehandlung mit Lactulose als Sekundärprophylaxe nach einem Durchbruchrezidiv einer OHE unter alleiniger Therapie mit Lactulose empfohlen (Bass et al., 2010).

Weitere Therapeutika sind L-Ornithin-L-Aspartat (LOLA), verzweigtkettige Aminosäuren (BCAA) oder Glycerolphenylbutyrat und Ornithinphenylazetat. Diese werden jedoch aktuell nur bei schwer zu therapierenden Fällen empfohlen, und die Evidenz ist als schwach einzuschätzen (Gerbes et al., 2019).

Zur Therapie der CHE oder MHE wird – wie auch zur Therapie der OHE – als Erstlinie der Einsatz von Lactulose empfohlen (Gerbes et al., 2019). Bei Unverträglichkeit kann der Einsatz von Rifaximin oder LOLA erwogen werden. Eine Behandlungsindikation besteht bei Patientinnen und Patienten mit Einschränkungen im klinischen Alltag. Diese sind definiert als z.B. Einschränkungen der Lebensqualität, Fahrauffälligkeiten oder Stürze (Gerbes et al., 2019).

### **2.5.5 Sekundärprophylaxe der hepatischen Enzephalopathie**

Ca. 50% der Patientinnen und Patienten erleiden nach der ersten HE-Episode ein Rezidiv, das mit einer weiteren Erhöhung der Mortalität und Einschränkung der Lebensqualität einhergeht. Aus diesem Grund wird in den aktuellen Leitlinien bereits nach der ersten OHE-Episode, unabhängig vom Grad, eine Sekundärprophylaxe empfohlen. Auch zur Sekundärprophylaxe ist das Medikament der ersten Wahl die Lactulose (Sharma et al., 2009). Im Falle einer höhergradigen HE-Episode oder bei einem HE-Rezidiv trotz Therapie mit Lactulose kann die Therapie durch Rifaximin ergänzt werden (Gerbes et al., 2019).

## **2.6 Die minimale hepatische Enzephalopathie**

### **2.6.1 Bedeutung**

Die MHE ist die mildeste Form der HE und kann nur mit Hilfe spezialisierter Testverfahren detektiert werden. Obwohl sie betroffene Patientinnen und Patienten auf verschiedenen Ebenen affiziert, wird in der klinischen Routine noch zu selten nach ihr gefahndet (Labenz et al., 2017b). Verschiedene Studien konnten nachweisen, dass das Vorliegen einer MHE mit einem erhöhten Risiko für eine zukünftige OHE und einer erhöhten Mortalität einhergeht (Dhiman et al., 2010, Flud and Duarte-Rojo, 2019). Zudem haben Patientinnen und Patienten mit MHE eine schlechtere Lebensqualität, sind in ihrem alltäglichen Leben eingeschränkt und neigen zu Stürzen und Fahrauffälligkeiten (Bajaj et al., 2020, Labenz et al., 2019b, Román et al., 2011). Aus diesen Gründen sind die Diagnosestellung und konsequente Therapie bei betroffenen Patientinnen und Patienten essenziell.

## 2.6.2 Diagnostik der minimalen hepatischen Enzephalopathie

Zur Diagnose einer MHE stehen verschiedene psychometrische und neurophysiologische Testverfahren zur Verfügung, von denen nach europäischen und amerikanischen Leitlinien keiner einen Goldstandard darstellt. (Gerbes et al., 2019, AASLD, 2014, EASL, 2010). Im Folgenden werden die gängigsten Testverfahren vorgestellt.

Der PSE-Test ist ein „Papier-Bleistift-Test“, der aus 5 Untertests besteht. Er beurteilt Aufmerksamkeit, visuell-räumliche Wahrnehmung und Konstruktion, psychomotorische Geschwindigkeit und motorische Genauigkeit. Aus den Ergebnissen in den einzelnen Untertests ergibt sich ein Gesamtpunktwert, der sogenannte Psychometric Hepatic Encephalopathy Score (PHES). Der PSE-Test gilt aktuell als zuverlässigster Test in der Diagnostik der MHE und wurde durch verschiedene Studien validiert (Weissenborn, 2015, Vilstrup et al., 2014, Weissenborn et al., 2001).

Alternativ oder zusätzlich zum PSE-Test kann die Flimmerfrequenzanalyse (Critical flicker frequency, CFF) zur Diagnose einer MHE genutzt werden (Vilstrup et al., 2014). Bei diesem neurophysiologischen Test wird den Patientinnen und Patienten mithilfe einer elektrischen Brille eine flimmernde Lichtquelle gezeigt. Die Frequenz der Lichtimpulse ist zunächst so hoch, dass die Patientin bzw. der Patient das Flimmern nicht wahrnimmt und ein kontinuierlich leuchtendes Licht sieht. Die Frequenz wird immer weiter gesenkt, bis es die Patientin bzw. dem Patienten möglich ist, das Flimmern des Lichts wahrzunehmen. Patientinnen und Patienten mit MHE nehmen das Flimmern des Lichts erst bei niedrigeren Frequenzen wahr als Patientinnen und Patienten ohne MHE. Ab einer wahrnehmbaren Frequenz von 39 Hertz (Hz) oder niedriger ist eine MHE diagnostizierbar (Kircheis et al., 2002). Das Ergebnis der Flimmerfrequenzanalyse variiert sowohl mit den Durchführungsbedingungen als auch mit dem Alter der Patientinnen und Patienten. Nach wiederholter Durchführung kann ein Lerneffekt beobachtet werden, der möglicherweise das Testergebnis verfälscht (Weissenborn, 2015, Kircheis et al., 2002).

Der PSE-Test und die CFF werden aktuell in Deutschland am häufigsten verwendet, um eine MHE zu diagnostizieren (Gerbes et al., 2019).

Eine weitere neurophysiologische Methode ist das Elektroenzephalogramm (EEG). Schon seit den 1950er Jahren werden bei Patientinnen und Patienten mit HE-Veränderung in der Ableitung von visuell evozierten Spätpotenzialen beobachtet (Weissenborn, 2015). Allerdings konnten verschiedene Studien zeigen, dass diese Auffälligkeiten im EEG keine adäquate Diagnostik für die MHE darstellen (Weissenborn et al., 1990). Montagnese und Mitarbeitende zeigten, dass nur 15% der Patientinnen und Patienten, die nach psychometrischen Tests mit einer MHE diagnostiziert wurden, ein auffälliges EEG hatten. Auch Patientinnen und Patienten mit einer OHE zeigten nur zu 50% pathologische EEGs (Montagnese et al., 2007). Somit scheint die Sensitivität des EEGs zur Diagnostik einer MHE nicht auszureichen.

Neuere Tests zur Diagnostik einer MHE sind der Continuous Reaction Time Test (CRT), der Inhibitory Control Test (ICT) und Repeatable Battery for the Assessment of Neuropsychological Status (RBANS) (Vilstrup et al., 2014). Jedoch konnte keiner dieser Tests den PSE-Test in Sensitivität oder Spezifität übertreffen (Weissenborn, 2015).

Der große Aufwand der spezialisierten Testverfahren zur Detektion der MHE ist ein großes Problem im klinischen Alltag. Beispielsweise benötigt die Durchführung des PSE-Tests als aktueller „Goldstandard“ pro Person etwa 20 Minuten und ist so für den klinischen Alltag nicht unbedingt als Standarddiagnostik umsetzbar. Zudem ist das Ergebnis vom Alter und Bildungsgrad der Patientinnen und Patienten abhängig (Duarte-Rojo et al., 2011).

Eine Studie der American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) ergab 2007, dass nur die Hälfte der befragten Ärztinnen und Ärzte ihre Patientinnen und Patienten auf das Vorliegen einer MHE untersuchen und 38% noch nie einen psychometrischen Test zur Diagnose einer MHE bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose verwendet haben (Bajaj et al., 2007). In Deutschland ergab eine Erhebung ähnliche Ergebnisse: ein Drittel der Befragten Gastroenterologinnen und Gastroenterologen und Hausärztinnen und -ärzte gab an, noch nie versucht zu haben, eine MHE zu diagnostizieren (Labenz et al., 2020).

Aufgrund des großen Einflusses der MHE auf die Prognose der Leberzirrhose, das Auftreten weiterer Komplikationen und die Lebensqualität der Patientinnen und Patienten, wäre eine einheitliche, validierte und in den klinischen Alltag integrierbare

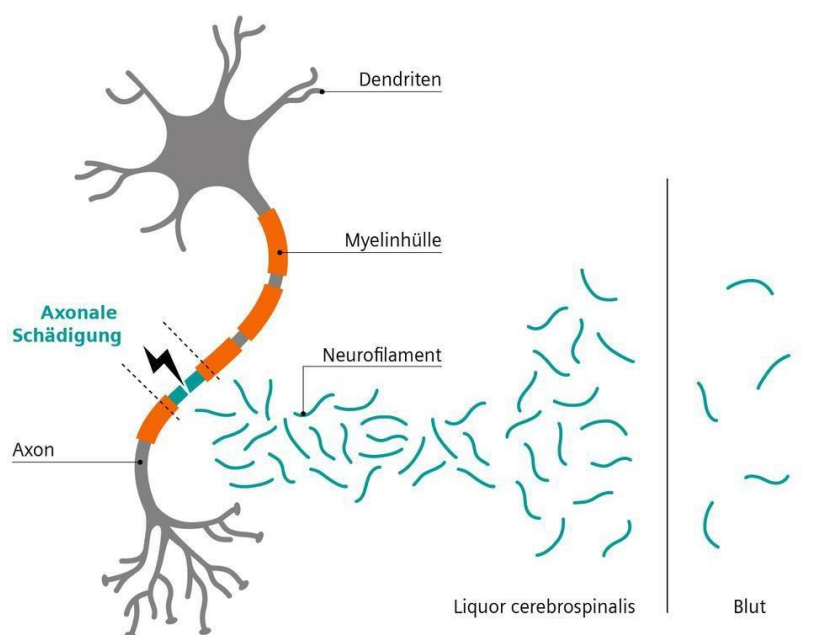


Methode zur Diagnose einer MHE wünschenswert. Ein potenzieller Ansatzpunkt könnte hier beispielsweise ein Blutbiomarker sein.

## 2.7 Neurofilament-Leichtketten als potenzieller Biomarker zur Detektion der minimalen hepatischen Enzephalopathie

NfL sind die spezifischen Intermediärfilamente der Neuronen. Sie befinden sich im Zytoplasma der Axone und sorgen durch ihre Zugfestigkeit und helikale Form für Stabilität (Zetterberg, 2016). Ihre genaue Aufgabe ist noch unklar (Khalil et al., 2018). Da sie ausschließlich in Neuronen vorkommen und bei axonaler Schädigung frei im Liquor in erhöhter Konzentration gefunden werden konnten, eignen sie sich potenziell als spezifischer Marker für Schädigungen im ZNS.

Abbildung 6: Neurofilament-Leichtketten als Zytoskelettbestandteil der Neurone (Khalil et al., 2018)



Ein positiver Nutzen scheint vor allem bei neuroinflammatorischen Erkrankungen wie der Multiplen Sklerose (MS) zu bestehen (Varhaug et al., 2019). Hierbei können die Neurodegeneration und die entzündliche Komponente der Erkrankung bisher gut

mittels Messung der Serum-NfL (sNfL) beobachtet werden (Thebault et al., 2020). Auch wenn die Rolle, Aussagekraft und Relevanz von sNfL bisher am meisten im Hinblick auf MS-Erkrankungen untersucht wurde, konnte beispielsweise bei ischämischen oder traumatischen Ereignissen wie Schlaganfällen oder Schädel-Hirn-Traumata eine Erhöhung der NfL im Liquor und im Serum der Patientinnen und Patienten nachgewiesen werden (Khalil et al., 2018). Insgesamt sprechen aktuelle Forschungsergebnisse dafür, dass sNfL ein unspezifischer Marker für neuro-axonale Schädigung bei verschiedensten Erkrankungen sein könnte.

Im Zusammenhang mit der HE wurden bisher keine NfL-Konzentrationen untersucht. Dies ist vor allem dadurch begründet, dass NfL bis vor wenigen Jahren ausschließlich im Liquor bestimmt werden konnten. Da bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose und HE nicht regelhaft Liquorproben genommen werden, erschien dieser Ansatz in der Klinik als nicht praktikabel. Aufgrund der vor wenigen Jahren etablierten Technik des Single Molecule Arrays (SiMoA) können nun jedoch schon geringste Konzentrationen von NfL im Serum gemessen werden, so dass die Messung im Liquor nicht mehr zwingend notwendig ist. Die Sensitivität des SiMoA ist 126-fach höher als die eines Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA) (Kuhle et al., 2016).

Bei der HE kommt es durch verschiedene Pathomechanismen zu neurodegenerativen Schäden im ZNS. Schon in frühen und klinisch inapparenten Stadien der HE konnten durch hohe Ammoniakspiegel im Blut und zusätzliche Neuroinflammation Zelluntergänge im Groß- und Kleinhirn nachgewiesen werden (Cai et al., 2019). Da diese Zellschäden und das Absterben von Neuronen bereits in anderen Studien mit Patientinnen und Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen zu erhöhten NfL-Konzentrationen führten, könnte die Messung von NfL im Serum als Biomarker für die Detektion bereits geringgradiger HE-Formen dienen. Dies könnte vor allem für Patientinnen und Patienten mit einer CHE eine sichere Diagnose und frühzeitige, adäquate Therapie bedeuten. (Labenz et al., 2020).

Ziele dieser Arbeit waren daher:

- Der Vergleich von sNfL-Werten bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose mit und ohne MHE

- Der Vergleich der sNfL-Werte von Patientinnen und Patienten mit MHE und solchen mit Neuropathien und gesunden Kontrollpatientinnen und -patienten
- Evaluation des diagnostischen Werts von sNfL zur Detektion einer MHE bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose im Vergleich zum PSE-Test

## **3 Patientinnen und Patienten und Methoden**

### **3.1 Studiendesign und Ethik**

Bei der vorliegenden Arbeit mit dem Titel „Untersuchung von Neurofilament-Leichtketten im Serum als Biomarker für das Vorliegen einer minimalen hepatischen Enzephalopathie bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose“ handelt es sich um eine retrospektive Analyse von prospektiv erhobenen Patientinnen- und Patientendaten.

Die Studie wurde gemäß den ethischen Richtlinien der Deklaration von Helsinki von 1975 (6. Revision, 2008) durchgeführt und von der Ethikkommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz genehmigt. Die Nummer des Ethikvotums lautet 837.019.10.

Von jeder Teilnehmerin und jedem Teilnehmer wurde – nach Aufklärung über Nutzen und Risiken durch einen Studienarzt – eine schriftliche Einwilligung eingeholt.

Teile dieser Arbeit wurden bereits am 12.10.2021 als Kurzbericht unter dem Titel „Association Between Serum Levels of Neurofilament Light Chains and Minimal Hepatic Encephalopathy in Patients With Liver Cirrhosis“ im Fachmagazin „Clinical and Translational Gastroenterology“ veröffentlicht. Zudem erfolgte eine Online-Publikation im gleichen Magazin am 19.10.2021 (Labenz et al., 2021).

### 3.2 Studienteilnehmerinnen und -teilnehmer

Die Kohorte aus 64 Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose wurde für diese prospektive Studie zwischen Juli 2019 und Dezember 2020 im Cirrhose Centrum Mainz (CCM), das Teil der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz ist, untersucht.

Die potenziellen Studienteilnehmerinnen und -teilnehmer mit Leberzirrhose wurden entweder ambulant in der Leber- und Infektionsambulanz der Universitätsmedizin Mainz vorstellig oder stationär in der medizinischen Klinik und Poliklinik behandelt.

Die ambulante Vorstellung der Patientinnen und Patienten erfolgte zumeist zu Routinekontrollen der Leberzirrhose, zur Leberzellkarzinom (HCC)-Vorsorge oder zur Therapie von chronischen Virushepatitiden. Die stationäre Aufnahme erfolgte aufgrund einer elektiven Untersuchung wie der Kontrolle von bekannten Varizen durch Ösophago-Gastro-Duodenoskopie (ÖGD) in Ligaturbereitschaft, zur laparoskopischen Leberpunktion oder zur Messung des Pfortaderdrucks (hepatic venous pressure gradient, HVPG).

Um in die Studie eingeschlossen zu werden, mussten die Teilnehmerinnen und Teilnehmer mindestens 18 Jahre alt sein und eine gesicherte Diagnose der Leberzirrhose jeglicher Ätiologie aufweisen. Diese Diagnose wurde entweder histologisch oder auf Grundlage der typischen Merkmale der portalen Hypertension in sonographischer, radiologischer und/oder endoskopischer Bildgebung gestellt. Um den Schweregrad der Lebererkrankung zu bestimmen, wurden der MELD-Score und der Child-Pugh-Score ermittelt. Diese wurden aufgrund aktueller Laborwerte und klinischer Parameter bestimmt, die bei allen Patientinnen und Patienten erhoben wurden.

Eingeschlossen in die Studie wurden darüber hinaus nur Patientinnen und Patienten, die keines der folgenden Ausschlusskriterien erfüllten:

- vorangegangene OHE-Episode in den letzten 6 Wochen
- florider Alkoholkonsum in den letzten 3 Monaten
- Einnahme von psychotropen Medikamenten, Drogen oder Opioiden
- Schwere terminale Komorbiditäten:

- Herzinsuffizienz NYHA III-IV
- Chronisch obstruktive Lungenkrankheiten (COPD) im Stadium 3 oder 4 nach der Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD)
- Chronische Niereninsuffizienz (Kreatinin > 1,5 mg/dl) und/-oder Dialysepflichtigkeit
- Das Vorhandensein eines HCC oder andere aktive Krebserkrankungen
- Zustand nach Implantation eines TIPS
- Akute Infektionskrankheit
- Anamnestische Hinweise auf ein kürzliches Trauma
- Elektrolytentgleisungen (Hypo-/ Hypernatriämie, Hypo-/ Hyperkaliämie)
- Gastrointestinale Blutungen in den letzten 6 Wochen
- Nicht therapierte Hypo- oder Hyperthyreose
- Vitamin B12-Mangel
- Psychiatrische oder neurologische Komorbiditäten:
  - Demenz
  - Zustand nach Schlaganfall
  - Epilepsie

### **3.3 Testdurchführung**

Alle Patientinnen und Patienten, die in die Studie eingeschlossen werden konnten, durchliefen ein Anamnesegegespräch, den PSE-Test zur MHE-Diagnostik sowie eine Blutentnahme mit anschließender Laboruntersuchung. Die studienbezogenen Tests wurden in gleicher Reihenfolge und Wortlaut unter fachärztlicher Supervision von Priv.-Droz. Dr. med. C. Labenz durchgeführt.

### **3.3.1 Anamnese**

Mit allen in die Studie eingeschlossenen Patientinnen und Patienten wurde ein Anamnesegespräch anhand eines standardisierten Dokumentationsbogens durchgeführt und schriftlich festgehalten. Allgemeine Daten der Patientinnen und Patienten wie Geschlecht, Alter, Größe und Gewicht sowie Nebendiagnosen, Medikamenten- und Genussmittelanamnese wurden erhoben. Bezüglich der Leberzirrhose wurde eine spezifische Anamnese durchgeführt, wobei einerseits Ätiologie (Ethyltoxisch, NASH, Virushepatitiden B und C, AIH, PBC, PSC und kryptogen) und Datum der Erstdiagnose, andererseits mögliche Komplikationen der Leberzirrhose (Aszites, SBP, Ösophagusvarizen, gastrointestinale Blutungen und OHE-Episoden) notiert wurden. Zusätzlich wurden entsprechende Informationen aus der elektronischen Akte der Patientinnen und Patienten entnommen.

### **3.3.2 Diagnosestellung der minimalen hepatischen Enzephalopathie**

Alle Patientinnen und Patienten wurden in der ambulanten Lebersprechstunde beziehungsweise bei stationärer Aufnahme von einer erfahrenen Hepatologin bzw. Hepatologen auf das Vorliegen klinischer Symptome einer HE untersucht. Patientinnen und Patienten mit klinischen Zeichen einer HE (HE Grad 1–4) wurden entsprechend nicht für die Studie in Betracht gezogen. Diagnostische Grundlage für eine HE Grad 1–4 war, wie in den aktuellen Leitlinien empfohlen, die klinischen Symptome nach den West-Haven-Kriterien (Gerbes et al., 2019, Vilstrup et al., 2014). Bei allen Patientinnen und Patienten ohne OHE oder HE Grad I wurde der PSE-Test durchgeführt, dessen Durchführung im Folgenden beschrieben wird. Ein Ergebnis von  $< -4$  wurde als pathologisch gewertet und damit die Diagnose der MHE gestellt (Weissenborn, 2015).

### **3.3.3 Der portosystemische Enzephalopathie Test**

Bei der vorliegenden Arbeit wurden die Patientinnen und Patienten im Rahmen der Routineuntersuchung mit dem PSE-Test der Medizinischen Hochschule Hannover in zweiter Auflage von 2013 auf das Vorliegen einer MHE untersucht. Der Test besteht

aus einer Testbatterie von fünf verschiedenen Untertests und dient der quantitativen Erfassung und Objektivierung neurophysiologischer Störungen bei Leberinsuffizienz sowie der Diagnose und Verlaufskontrolle bei MHE. Es werden die Aufmerksamkeit, die visuell-räumliche Wahrnehmung, die psychomotorische Geschwindigkeit und die motorische Genauigkeit beurteilt, also genau die Bereiche, die bei einer HE nachweislich eingeschränkt sind (Weissenborn, 2015).

Das verwendete Test-Set besteht aus einem PSE-Manual mit Instruktionen zur Testdurchführung und -auswertung, einer Schablone zur Auswertung des fünften Untertests, sowie den Testbögen selbst. Vor der Durchführung des PSE-Tests wurden die Unterlagen auf Vollständigkeit überprüft, und die Patientin bzw. der Patient erhielt einen funktionsfähigen Stift. Außerdem wurde die Patientin bzw. der Patient über den Grund der Untersuchung informiert. Es wurde sichergestellt, dass die Patientin bzw. der Patient bequem am Tisch sitzt und, falls nötig, seine Lesehilfe aufsetzt. Es wurde für eine ausreichende Beleuchtung im Raum sowie eine ruhige Atmosphäre ohne Störungen durch Personal oder andere Patientinnen und Patienten gesorgt. Die Bearbeitungszeit wurde mithilfe einer Stoppuhr gemessen. Die Testinstruktionen wurden wörtlich aus dem PSE-Manual vorgelesen und anschließend sichergestellt, dass die Patientin bzw. der Patient diese verstanden hat. Bei Unklarheiten erfolgte eine Wiederholung der Anleitung. Danach bearbeitete die Patientin bzw. der Patient die Übungszeile des jeweiligen Untertests und wurde bei Fehlern korrigiert. Erst wenn die Übungszeile sicher ausgeführt werden konnte, folgte die Bearbeitung des Untertests unter Zeitmessung.

Bei vorgegebenen Zeitgrenzen wurden das Start- und Stopkommando deutlich kommuniziert. Bei Untertests ohne Zeitvorgabe wurden das Aufsetzen des Stifts und das Erreichen des Zielpunktes als Anfang und Ende der Zeitmessung gewertet. Bei jedem Untertest wurde die Bearbeitungszeit auf ganze Sekunden gerundet.

### **Untertest 1: Zahlen-Symbol-Test (ZS)**

Beim Zahlen-Symbol-Test mussten innerhalb von 90 Sekunden so viele Ziffern wie möglich dem dazugehörigen Symbol zugeordnet werden. Die Zuordnung der einfachen geometrischen Symbole zur jeweiligen Ziffer befand sich oben auf dem Testbogen. Darunter waren die Ziffern in willkürlicher Reihenfolge in vier Reihen aus je 20 Ziffern zu finden, wobei sich unter jeder Ziffer ein leeres Kästchen zum Eintragen

des Symbols befand. Nach einer Übungszeile wurde die Testrunde mit einem „Los!“ begonnen und mit einem „Halt!“ nach Ablauf der 90 Sekunden beendet. Alle unter der richtigen Ziffer eingetragenen Symbole, die nicht gespiegelt oder anderweitig falsch dargestellt waren, wurden als korrekt gewertet.

### **Untertest 2: Zahlen-Verbinden-Test A (ZVA)**

Dieser Untertest besteht aus den Zahlen von 1 bis 25, welche eingekreist kreuz und quer auf dem Testbogen verteilt sind. Die 1 ist als Start-, die 25 als Endpunkt markiert. Die Aufgabe der Patientinnen und Patienten ist es, die Zahlen in der richtigen Reihenfolge und so schnell wie möglich miteinander zu verbinden. Nach dem Übungsbogen wird die Zeit gestoppt, die die Patientin bzw. der Patient hierfür benötigt. Wenn eine Zahl übersprungen oder die Reihenfolge anderweitig nicht eingehalten wurde, wurde die Patientin bzw. der Patient unterbrochen und zur Korrektur aufgefordert. Die Korrekturzeit wurde zur Bearbeitungszeit dieses Untertests addiert.

### **Untertest 3: Zahlen-Verbinden-Test B (ZVT-B)**

Ähnlich zum Untertest 2 sollte die Patientin bzw. der Patient bei Untertest 3 die Zahlen von 1 bis 13 und die Buchstaben von A bis L in der richtigen Reihenfolge so schnell wie möglich verbinden. Beide waren wieder willkürlich auf dem Bogen verteilt. Hierbei sollte zwischen Zahlen und Buchstaben abgewechselt werden. Also von Startpunkt 1 nach A, von A nach 2, von 2 zu B und so weiter, bis zum Erreichen des Endpunkts 13. Analog zu Untertest 2 wurde die Zeit gestoppt und die Patientin bzw. der Patient bei Fehlern zur Korrektur aufgefordert.

### **Untertest 4: Kreise punktieren (KP)**

Beim vierten Untertest war die Aufgabe der Patientinnen und Patienten die 100 Kreise, welche sich in zehn Reihen angeordnet auf dem Testbogen befanden, möglichst schnell und möglichst mittig mit dem Stift zu punktieren. Dabei sollte kein Kreis ausgelassen werden und jede Zeile von links neu begonnen werden. Die Zeit wurde vom ersten Ansetzen des Stifts bis zum Erreichen des letzten Kreises gestoppt.

### **Untertest 5: Linien nachfahren (LN)**

Der Untertest 5 bestand aus einer Doppellinie, die im Zick-Zack-Muster auf dem Testbogen abgebildet war. Aufgabe der Patientinnen und Patienten war es, mit dem Stift das Zick-Zack-Muster zwischen den beiden Linien nachzufahren und dabei



möglichst zügig, aber auch so sorgfältig wie möglich zu sein und die vorgedruckten Linien so wenig wie möglich zu berühren. Auch bei diesem Test wurde vor der Durchführung eine Übungsfigur bearbeitet. Die Zeit wurde vom Aufsetzen des Stifts bis zum Erreichen des Zielpunktes gemessen. Zusätzlich wurden bei diesem Untertest Fehlerpunkte ermittelt, je nachdem, wie oft und wie weit die Patientin bzw. der Patient die vorgegeben Linien überschritten hat. Hierzu diente die Schablone aus dem Test-Manual, welche die vorgegebene Linie als Raster in einzelne kleine Abschnitte unterteilt. In jedem Rasterabschnitt wurden wie folgt mögliche Fehlerpunkte notiert: für das Berühren der Linien wurde ein Fehlerpunkt notiert, das leichte Überschreiten ergab zwei und starkes Überschreiten drei Fehlerpunkte.

### **Auswertung des PSE-Tests**

Nach Durchführung aller Untertests wurde die Zahl der bearbeiteten Symbole, Bearbeitungszeiten und Fehlerpunkte der einzelnen Tests auf einem Auswertungsbogen eingetragen.

Zu jedem der Tests gehört eine spezifische Normwerttabelle, da das physiologische Testergebnis altersabhängig ist. Als Referenzgruppe für die Normwerttabelle wurde der PSE-Test von der Universität Hannover mit 150 gesunden Personen zwischen 15 und 80 Jahren durchgeführt.

Erzielte die Patientin bzw. der Patient ein Testergebnis  $\pm$  einer Standardabweichung vom Normwert seiner Altersklasse, wurde für dieses Testergebnis der Wertpunkt 0 vergeben.

Ergebnisse die unterhalb der ein-, zwei- oder dreifachen Standardabweichung lagen, wurden mit -1, -2 und -3 Wertpunkten bewertet. Lag das Ergebnis der Patientin bzw. des Patienten oberhalb einer Standardabweichung, wurde der Wertpunkt +1 vergeben.

So wurde für jeden Untertest ein Wertpunkt für die jeweilige Patientin bzw. den jeweiligen Patienten vergeben, für den fünften Untertest gab es zwei Wertpunkte: einen für die Geschwindigkeit und einen für die Sorgfalt.

Die Wertpunkte aller Untertests addiert ergeben einen Gesamtpunktwert, den PHES. Es kann ein PHES zwischen -18 und +6 Punkten erreicht werden, wobei ein Ergebnis von -4 oder weniger als pathologisch gilt und deshalb die Diagnose einer MHE

ermöglicht, sofern keine klinischen Symptome einer OHE vorliegen (Weissenborn, 2015).

### **3.4 Laboruntersuchungen**

Im Rahmen der klinisch notwendigen Untersuchungen der Patientinnen und Patienten in der Ambulanz oder bei stationärer Aufnahme erfolgte eine routinemäßige Blutentnahme. Hierbei wurden ein kleines Blutbild inklusive Elektrolyte, Leberwerte (AP, Gesamt-Bilirubin, GOT, GPT,  $\gamma$ -GT), Albumin, Entzündungsparameter (CRP, IL-6), Gerinnungswerte (Quick, INR, aPTT) und Nierenwerte (Kreatinin, Harnstoff) erfasst. Zusätzlich erfolgte die Abnahme eines EDTA-Röhrchens zur Ammoniakbestimmung. Dieses wurde ohne Venenstauung abgenommen und anschließend auf Eis gekühlt ins hausinterne Labor gebracht. Die Bestimmung der Laborwerte erfolgte im hauseigenen Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz.

### **3.5 Bestimmung von Neurofilament-Leichtketten im Serum**

Die Daten der neurologischen Vergleichsgruppe wurden freundlicherweise zur Verfügung gestellt von PD Dr. med. Felix Lüssi aus der Klinik für Neurologie der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz. Die Bestimmung der NfL-Konzentration im Serum erfolgte im Neuroimmunologischen Labor der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Zipp/ Prof. Dr. Bittner. Hierzu wurden zusätzlich zu den oben genannten routinemäßig abgenommenen Laborwerten im Rahmen der medizinisch notwendigen Vorstellung in der I. Medizinischen Klinik zu Studienzwecken in gleicher Sitzung eine 9,0mL Serummonovette entnommen. Darüber hinaus erfolgte die Entnahme von Serumproben von hinsichtlich Alter und Geschlecht gematchten gesunden Kontrollprobandeninnen und -probanden. Innerhalb von maximal 2 Stunden nach der Blutentnahme erfolgte eine Aufarbeitung der Serumproben mittels Zentrifugation bei 2000 g über 10 Minuten bei Raumtemperatur. Unmittelbar nach der Zentrifugation wurde das Serum gleichmäßig in Polypropylen-Tubes überführt (300–600  $\mu$ l/Tube) und bei -80 °C gelagert.

Die Bestimmung der sNfL-Konzentration erfolgte gemäß den Anweisungen des Herstellers automatisiert mit dem Gerät SiMoA HD-1 (Quanterix, USA) unter Verwendung der NF-Light Advantage Kits (Quanterix, USA) aus der identischen Charge. Die Messung der Serum-NfL-Konzentrationen erfolgte für alle Proben in einer gemeinsamen Analyse. Die Berechnung des Variationskoeffizienten (CV, als Prozentsatz) jeder Probe erfolgte, indem die Standardabweichung beider Wiederholungen durch den Mittelwert beider Wiederholungen geteilt und anschließend mit 100 multipliziert wurde. Proben mit einem CV von mehr als 20% wurden zweimal gemessen. Der mittlere Intra-Assay-CV betrug 4,5%. Die sNfL-Messungen wurden gegenüber den klinischen Angaben verblindet durchgeführt.

### **3.6 Die Vergleichskohorte**

Zusätzlich zur Testkohorte wurden von der Klinik für Neurologie der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz freundlicherweise Daten einer Vergleichskohorte mit neurologischen Erkrankungen (Schlaganfall, Transitorische ischämische Attacke (TIA)) sowie gesunden Patientinnen und Patienten zur Verfügung gestellt.

### **3.7 Statistik**

Die Analyse der Daten und Erstellung der Abbildungen erfolgte mit IBM SPSS Statistic Version 23.0 (Armonk, NY: IBM Corp.) und GraphPad Prism Version 9.2.0 (GraphPad Software, San Diego, CA).

Quantitative Daten werden als Mediane mit Interquartilsabstand (IQR) angegeben, und paarweise Vergleiche für quantitative Variablen wurden mit einem ungepaarten t-Test oder mit dem Mann-Whitney U-Test durchgeführt. Kategorische Variablen werden als Häufigkeiten bzw. Prozentsätze angegeben. Für den Vergleich von zwei oder mehr Personengruppen wurde ein Chi-Quadrat-Test angewendet. Korrelationsanalysen zwischen zwei metrischen Variablen erfolgten mittels Spearman'schem Rangkorrelationskoeffizienten. Korrelationsanalysen zwischen metrischen und dichotomen Variablen erfolgten mittels punktbiserialer Korrelationsanalyse.

Zur Identifizierung von Prädiktoren für das Vorliegen einer MHE wurden zunächst Parameter von Patientinnen und Patienten mit und ohne MHE mit Hilfe von univariablen Analysen untersucht (s.o.). Um im Anschluss unabhängige Prädiktoren für das Vorliegen einer MHE zu identifizieren, wurden alle univariabel signifikanten Parameter ( $p < 0,05$ ) in ein multivariablen logistisches Regressionsmodell eingeschlossen.

Zur Identifizierung von Prädiktoren für höhere sNfL-Serumwerte wurden zunächst univariable Korrelationsanalysen (s.o.) durchgeführt. Zur Identifizierung von unabhängigen Prädiktoren für höhere sNfL-Serumwerte wurden alle univariabel signifikanten Parameter ( $p < 0,05$ ) in ein multivariablen lineares Regressionsmodell eingeschlossen.

Die diskriminative Fähigkeit von sNfL zur Identifizierung von Patientinnen und Patienten mit MHE wurde mit Hilfe der Receiver Operating Characteristics (ROC) und der daraus resultierenden Fläche unter der ROC-Kurve („area under the curve“, AUROC). Für alle Tests wurde ein statistisches Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  definiert.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ausgangsdaten der Studienpopulation

Die Kohorte der Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose umfasste 64 Patientinnen und Patienten. 51,6% der Patientinnen und Patienten waren männlich, 48,4% weiblich. Das mediane Alter lag bei 60 Jahren. Die häufigste Ätiologie der Leberzirrhose war chronischer Alkoholabusus (56,2%), wobei Patientinnen und Patienten mit floridem Alkoholabusus nicht in die Studie eingeschlossen wurden.

Der Großteil der Patientinnen und Patienten befand sich in einem kompensierten Stadium der Leberzirrhose (53% Child-Pugh A). Der mediane MELD-Score lag bei 13. Vor Studieneinschluss haben im Verlauf ihrer Erkrankung bereits 57,8% der Patientinnen und Patienten Aszites und 12,5% eine OHE-Episode entwickelt. Eine MHE konnte am Tag des Studieneinschlusses bei ca. 40,6% der Patientinnen und Patienten detektiert werden. Der mediane PHES in der Gesamtkohorte lag bei -3. Weitere Charakteristika der Kohorte sind in Tabelle 4 dargestellt.

*Tabelle 4: Charakteristika der Studienpopulation*

Variable		Gesamtkohorte (n=64)
Alter in Jahren (IQR)		60 (53; 65)
Männliches Geschlecht, n (%)		33 (51,6)
Ätiologie	Äthyltoxisch, n (%)	36 (56,2)
	Virushepatitis, n (%)	4 (6,3)
	NASH, n (%)	9 (14,1)
	AIH/Cholestatisch, n (%)	3 (4,7)
	Äthyltoxisch + andere Ätiologie, n (%)	5 (7,8)
	Kryptogen/Gemischt, n (%)	7 (10,9)
MELD-Score (IQR)		13 (9; 18)
Child Pugh Score A/B/C, n (%)		34/27/3 (53/42/5)

<b>Aszites in Anamnese, n (%)</b>	37 (57,8)
<b>OHE in Anamnese, n (%)</b>	8 (12,5)
<b>MHE, n (%)</b>	26 (40,6)
<b>PHES (IQR)</b>	-3 (-10; 0)
<b>Thrombozyten, /nl (IQR)</b>	107 (82;145)
<b>Albumin, g/l (IQR)</b>	31 (23; 37)
<b>Natrium, mmol/l (IQR)</b>	138 (135; 140)
<b>IL-6*, pg/ml (IQR)</b>	17 (8; 31)
<b>Ammoniak**, µmol/l (IQR)</b>	44 (35; 59)
<b>sNfL, pg/ml (IQR)</b>	24,3 (12,1; 65,5)

Die Daten sind als Mediane und IQR oder als Häufigkeiten und in Prozent angegeben.

\*bei 55 Patientinnen und Patienten gemessen, \*\*bei 22 Patientinnen und Patienten gemessen.

Zusätzlich wurde die sNfL-Konzentration mit der der Testkohorte verglichen. Diese entsprach 68 altersgleichen Patientinnen und Patienten mit Schlaganfall (n=29), TIA (n=29) und gesunden Patientinnen und Patienten (n=10) bestimmt, deren Daten freundlicherweise von der Klinik für Neurologie der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität zur Verfügung gestellt worden waren. In der Gruppe der Patientinnen und Patienten mit Schlaganfall waren 41,4% männlich und 58,6% weiblich. Das mediane Alter lag bei 56 Jahren. In der Gruppe der Patientinnen und Patienten mit TIA waren 41,4% männlich und 58,6% weiblich. Das mediane Alter lag bei 59 Jahren. In der gesunden Kontrollgruppe waren 20% männlich und 80% weiblich. Das mediane Alter lag bei 52 Jahren.

## 4.2 Vergleich von Patientinnen und Patienten mit und ohne MHE

In der Kohorte von Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose konnte bei 26 Patientinnen und Patienten (40,6%) eine MHE nachgewiesen werden. 38 (59,4%) hatte normale Ergebnisse im PHES. Das Alter der Patientinnen und Patienten mit und ohne MHE unterschied sich nicht signifikant. Patientinnen und Patienten mit MHE waren signifikant häufiger männlich als Patientinnen und Patienten ohne MHE (69,2% vs. 39,5%,  $p = 0,025$ ). Patientinnen und Patienten mit MHE wiesen einen relevant höheren MELD-Score (Median 15 mit MHE vs. 12 ohne MHE) und Child-Pugh-Score

auf als Patientinnen und Patienten ohne MHE (73% Child B oder höher mit MHE, 29% Child B und höher ohne MHE). Auch die Albuminserumkonzentration als Marker für die Syntheseleistung der Leber war in der Gruppe der Patientinnen und Patienten mit MHE signifikant geringer (26mmol/l) als bei Patientinnen und Patienten ohne MHE (33mmol/l). In der Gruppe der Studienteilnehmerinnen und -teilnehmer mit MHE fanden sich wesentlich mehr Patientinnen und Patienten, die in Vergangenheit bereits eine OHE-Episode erlitten hatten (7 Patientinnen und Patienten), als in der Gruppe ohne MHE (1 Patient). Im Serum der Patientinnen und Patienten mit MHE wurde eine signifikant höhere IL-6-Konzentration gefunden (21pg/ml, IQR 16; 82) als im Serum der Patientinnen und Patienten ohne MHE (11pg/ml, IQR 5; 28).

Der Serumwert der sNfL unterschied sich zwischen beiden Personengruppen deutlich. Die mediane Konzentration bei Patientinnen und Patienten mit MHE betrug 73pg/ml (IQR 30,4; 114,4), bei Patientinnen und Patienten ohne MHE 16pg/ml (IQR 11; 25).

*Tabelle 5: Vergleich von Patientinnen und Patienten mit und ohne MHE*

Variable		Patientinnen und Patienten mit MHE (n=26)	Patientinnen und Patienten ohne MHE (n=38)	p-Wert
Alter in Jahren (IQR)		57 (51; 66)	60 (53; 62)	0,795
Männliches Geschlecht, n (%)		18 (69,2)	15 (39,5)	<b>0,025</b>
Ätiologie	Äthyltoxisch, n (%)	20 (76,9)	16 (42,1)	0,170
	Virushepatitis, n (%)	1 (3,8)	3 (7,9)	
	NASH, n (%)	1 (3,8)	8 (21,1)	
	AIH/Cholestatisch, n (%)	0 (0)	3 (7,9)	
	Äthyltoxisch + andere Ätiologie, n (%)	3 (11,5)	2 (5,3)	

	<b>Kryptogen/Gemischt, n (%)</b>	1 (3,8)	6 (15,8)	
<b>MELD-Score (IQR)</b>		15 (11; 21)	12 (8; 16)	<b>0,006</b>
<b>Child Pugh Score A/B/C, n (%)</b>		7/17/2 (27/65/8)	27/10/1 (71/26/3)	<b>0,002</b>
<b>Aszites in Anamnese, n (%)</b>		21 (80,7)	5 (13,2)	<b>0,002</b>
<b>OHE in Anamnese, n (%)</b>		7 (26,9)	1 (2,6)	<b>0,004</b>
<b>MHE, n (%)</b>		26 (100)	0 (0)	N/A
<b>PHES (IQR)</b>				<b>&lt;0,001</b>
<b>Thrombozyten, /nl (IQR)</b>		105 (77; 145)	107 (85; 146)	0,692
<b>Albumin, g/l (IQR)</b>		26 (21; 31)	33 (27; 38)	<b>0,002</b>
<b>Natrium, mmol/l (IQR)</b>		137 (132; 140)	138 (137; 140)	0,103
<b>Interleukin-6*, pg/ml (IQR)</b>		21 (16; 82)	11 (5; 28)	<b>0,006</b>
<b>Ammoniak**, µmol/l (IQR)</b>		52 (44; 58)	37 (31; 61)	0,106
<b>sNfL, pg/ml (IQR)</b>		73.0 (30,4; 114.4)	16 (11; 25)	<b>&lt;0,001</b>

Die Daten sind als Mediane und IQR oder als Häufigkeiten und in Prozent angegeben.

\*bei 55 Patientinnen und Patienten gemessen, \*\*bei 22 Patientinnen und Patienten gemessen.

### 4.3 Vergleich von sNfL bei MHE und neurologischen Erkrankungen

Der Vergleich der sNfL-Konzentration von Patientinnen und Patienten mit MHE, Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose ohne MHE, Patientinnen und Patienten mit Schlaganfall oder TIA und den gesunden Kontrollpatientinnen und -patienten zeigte relevante Unterschiede und ist in Tabelle 6 und Abbildung 7 dargestellt.

Der mediane sNfL-Serumwert bei Patientinnen und Patienten mit MHE betrug 73,045 pg/ml (IQR 31,255, 111,255) und war signifikant höher als bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose ohne HE (15,855 pg/ml; IQR 10,765, 24,73) und Patientinnen und Patienten mit Schlaganfall (Mediane Konzentration 17,7 IQR 9,9;33,4) oder TIA (Mediane Konzentration 10,5pg/ml IQR 8,1;14). Die sNfL-Werte von Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose ohne HE (Median 15,855 IQR 10,765;24,73) waren mit den Werten von Patientinnen und Patienten mit Schlaganfall



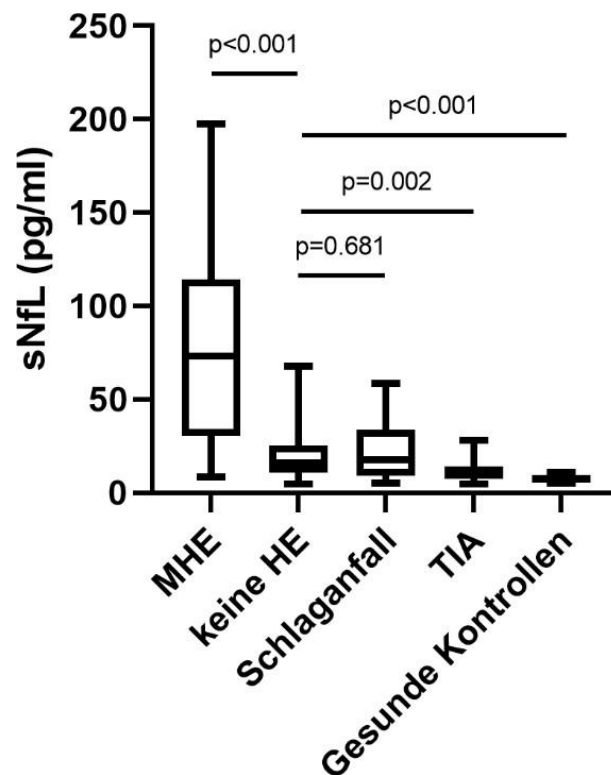
vergleichbar und signifikant höher als bei Patientinnen und Patienten mit TIA oder gesunden Kontrollpatientinnen und –patienten (Abbildung 7).

Tabelle 6: sNfL-Werte im Vergleich verschiedener Patientinnen- und Patientengruppen

	<b>MHE (n=26)</b>	<b>Ohne HE (n=38)</b>	<b>Schlaganfall (n=29)</b>	<b>TIA (n=29)</b>	<b>Gesund (n=10)</b>
<b>Median</b>	73,045	15,855	17,7	10,5	7,79
<b>IQR</b>	31,255, 111,255	10,765, 24,73	9,9, 33,4	8,1, 14	6,0425, 9,02

Gemessen: sNfL in pg/ml

Abbildung 7: Serumspiegel von sNfL in verschiedenen Patientinnen- und Patientenkohorten

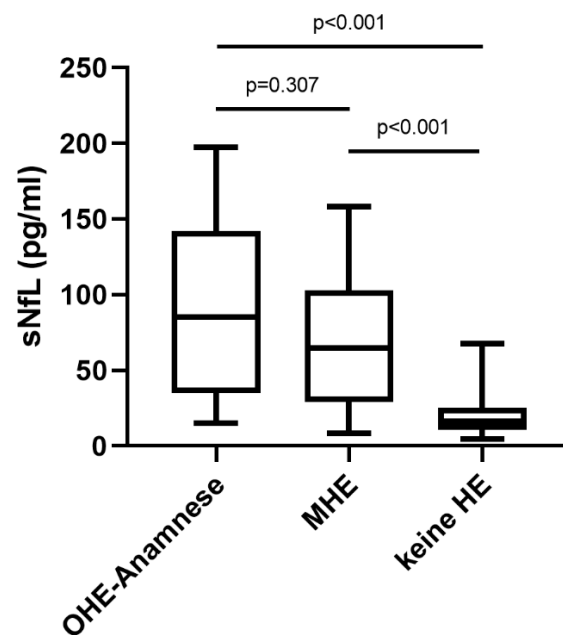


#### 4.4 Vergleich von sNfL bei Patientinnen und Patienten mit einer OHE in der Anamnese

Im Vergleich von Patientinnen und Patienten mit mindestens einer OHE-Episode in der Anamnese, mit Patientinnen und Patienten mit aktueller MHE ohne OHE in der Anamnese zeigte sich kein relevanter Unterschied der sNfL-Werte. Allerdings ließ sich ein Trend zu höheren sNfL-Werten bei Patientinnen und Patienten mit früherer OHE-Episode erkennen.

Patientinnen und Patienten nach einer OHE-Episode hatten auch nach Abklingen der OHE-Episode noch signifikant höhere sNfL-Werte als gesunde Patientinnen und Patienten.

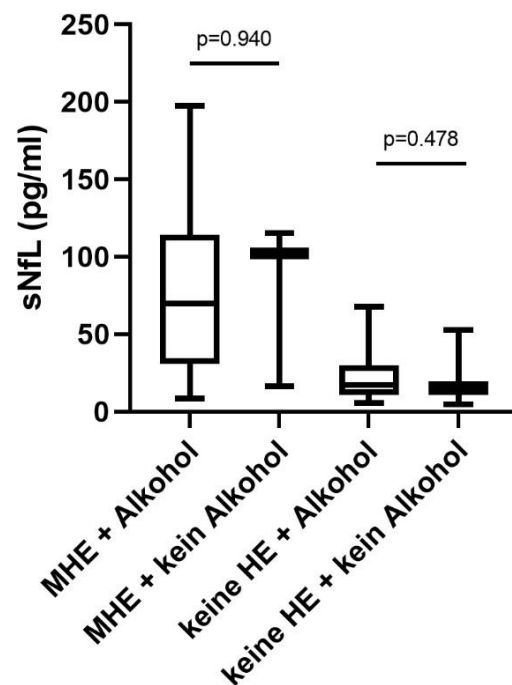
Abbildung 8: sNfL bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose und einer Vorgeschichte von OHE (n=8), bei Patientinnen und Patienten mit MHE, aber ohne Vorgeschichte von OHE (n=19) und bei Patientinnen und Patienten ohne Vorgeschichte oder Vorliegen von HE (n=37)



## 4.5 Vergleich von sNfL bei ethyltoxischer und nicht ethyltoxischer Genese

Die sNfL-Werte von Patientinnen und Patienten mit ethyltoxischer Leberzirrhose und MHE unterschieden sich nicht relevant von denen von Patientinnen und Patienten mit MHE bei Leberzirrhose anderer Genese. Genauso gab es keinen relevanten Unterschied zwischen Patientinnen und Patienten mit und ohne ethyltoxische Leberzirrhose ohne HE.

Abbildung 9: sNfL bei Patientinnen und Patienten mit oder ohne ethyltoxische Ätiologie der Leberzirrhose, differenziert nach MHE-Status



## 4.6 Prädiktoren für das Vorliegen einer MHE

Die multivariable Analyse zeigt, dass in der Studienpopulation weder der MELD-Score, der Albumin-Serumspiegel noch eine vorausgegangene OHE-Episode als verlässlicher Prädiktor für das Vorliegen einer MHE dienen konnte. Die sNfL-Konzentration war jedoch sowohl für Patientinnen und Patienten mit OHE in der Anamnese (Model 1), als auch für Patientinnen und Patienten ohne OHE in der

Anamnese (Model 2) ein relevanter Prädiktor für das Auftreten einer MHE. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 dargestellt.

*Tabelle 7: Logistische Regressionsanalysen von Prädiktoren für das Vorliegen einer MHE bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose.*

	Model 1 <sup>a</sup>		Model 2 <sup>b</sup>	
	OR (95% CI)	p-Wert	OR (95% CI)	p-Wert
<b>sNfL</b>	1,077 (1,027–1,130)	0,002	1,071 (1,022–1,123)	0,004
<b>MELD-Score</b>	0,863 (0,692–1,077)	0,193	0,875 (0,706–1,084)	0,223
<b>Albumin-Serumspiegel</b>	0,924 (0,819–1,042)	0,196	0,920 (0,818–1,036)	0,169
<b>OHE in Anamnese</b>	5,235 (0,341–80,284)	0,235		

OR, Odds Ratio; 95% CI, 95% Konfidenzintervall; sNfL, Serum-Neurofilament-Leichtketten (pg/ml); MELD, Modell für Lebererkrankungen im Endstadium; OHE, offene hepatische Enzephalopathie. a: Modell 1 beinhaltet: sNfL, MELD-Score, Albumin-Serumspiegel (g/l), OHE in Anamnese; b: In Modell 2 wurden Patientinnen und Patienten mit einer OHE in der Anamnese ausgeschlossen, das Modell beinhaltet die Variablen: sNfL (pg/ml), MELD-Score, Albumin-Serumspiegel (g/l).

#### **4.7 Korrelation zwischen sNfL- und Ammoniak- bzw. IL-6-Konzentration**

Die Ammoniak-Konzentration konnte im Blutserum von 22 Patientinnen und Patienten bestimmt werden. Bei diesen Patientinnen und Patienten zeigte sich ein Trend für eine Korrelation zwischen sNfL und Ammoniak im Serum ( $r = 0,381$ ,  $p = 0,081$ ). Die sNfL zeigten eine signifikante Korrelation mit den Ergebnissen im PSE-Test ( $r = -0,575$ ,  $p < 0,0001$ ) und mit Interleukin-6 Serumwerten ( $r = 0,544$ ,  $p < 0,001$ ).

Abbildung 10: Korrelation zwischen der Ammoniak-Konzentration und der sNfL-Konzentration im Serum der Patientinnen und Patienten

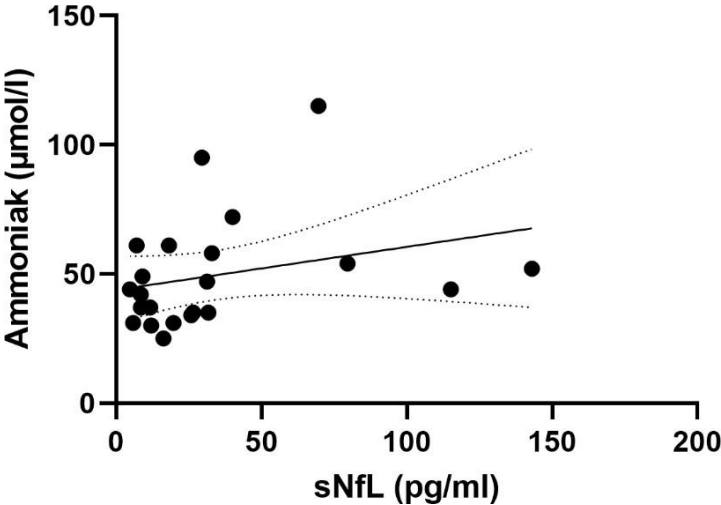
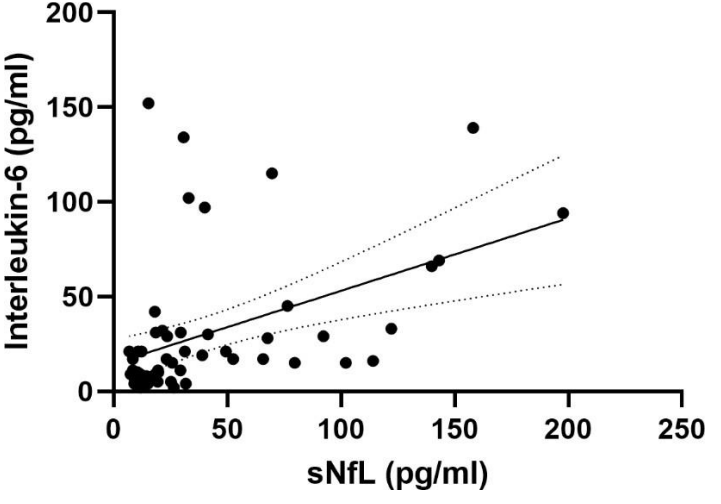


Abbildung 11: Korrelation zwischen der IL-6-Konzentration und der sNfL-Konzentration im Serum der Patientinnen und Patienten



#### **4.8 Assoziation zwischen Variablen und höheren sNfL-Konzentrationen**

In einer univariablen Korrelationsanalyse konnte gezeigt werden, dass sowohl eine MHE, eine OHE in der Anamnese als auch ein höherer MELD-Score in signifikantem Maße mit der sNfL-Konzentration korrelierten. Eine MHE hatte dabei die stärkste Korrelation mit sNfL-Konzentrationen ( $r= 0,646$ ,  $p$ -Wert  $<0,001$ ).

Im nächsten Schritt wurde mittels einer multivariablen, linearen Regressionsanalyse geprüft, welche Variable unabhängig mit sNfL-Konzentrationen assoziiert sind. Hierbei wurden in schrittweiser Variablenselektion die Variablen Geschlecht, Alter, ethyltoxische Genese, Aszites in der Anamnese, Natrium, Thrombozyten und Albumin ausgeschlossen. Als unabhängig mit höheren sNfL-Konzentrationen assoziiert zeigten sich ein höherer MELD-Score, eine OHE in der Anamnese und eine MHE (Tabelle 8).

Tabelle 8: Uni- und multivariable Analyse von mit erhöhten sNfL-Werten assoziierten Variablen bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose

	sNfL			
	Univariable Analyse		Multivariable Analyse <sup>a</sup>	
	r	p-Wert	β	p-Wert
<b>Männliches Geschlecht</b>	0,299	0,017		
<b>Alter</b>	0,109	0,389		
<b>Ethyltoxische Leberzirrhose</b>	-0,303	0,015		
<b>MELD-Score</b>	0,595	<0,001	<b>0,268</b>	<b>0,007</b>
<b>Aszites in Anamnese</b>	0,356	0,004		
<b>OHE in Anamnese</b>	0,457	<0,001	<b>0,215</b>	<b>0,029</b>
<b>MHE</b>	0,646	<0,001	<b>0,481</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Natrium</b>	-0,274	0,028		
<b>Thrombozyten</b>	-0,036	0,775		
<b>Albumin</b>	-0,491	<0,001		

sNfL, Serum-Neurofilament-Leichtketten (pg/ml); MELD, Modell für Lebererkrankungen im Endstadium; OHE, offene hepatische Enzephalopathie; MHE minimale hepatische Enzephalopathie.

<sup>a</sup> Multivariables lineares Regressionsmodell mit schrittweiser Variablenselektion (nur signifikante Variablen dargestellt). Nicht signifikante und deshalb ausgeschlossene Variablen waren Geschlecht, Alter, ethyltoxische Genese, Aszites in Anamnese, Natrium, Thrombozyten und Albumin. R<sup>2</sup> Statistik für dieses Modell = 0.512.

## 4.9 Fähigkeit von sNfL zur Unterscheidung zwischen Patientinnen und Patienten mit und ohne MHE

Zur Beurteilung der Diskriminationsfähigkeit von sNfL zwischen Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose mit und ohne MHE wurde eine Bestimmung der AUROC durchgeführt (siehe Abbildung 13). In der Gesamtkohorte lag die AUC bei 0,872 (95% CI 0,773-0,971,  $p = <0,001$ ).

Zur Beurteilung der Diskriminationsfähigkeit von sNfL zwischen Patientinnen und Patienten mit und ohne MHE in der Subgruppe ohne OHE in der Anamnese wurde eine weitere ROC-Analyse in einer Subgruppe aller Patientinnen und Patienten ohne OHE in der Anamnese durchgeführt ( $n = 56$ , siehe Abbildung 14). Hier lag die AUC bei 0,839 (95% CI 0,711–0,966,  $p < 0,001$ ).

*Abbildung 12: Trennschärfe von sNfL zum Nachweis einer MHE in der Gesamtkohorte von Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose*

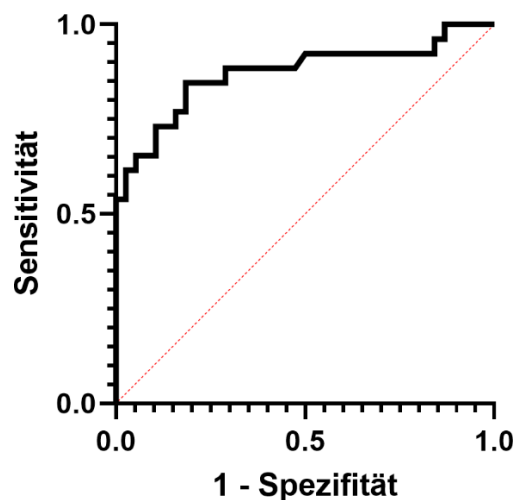
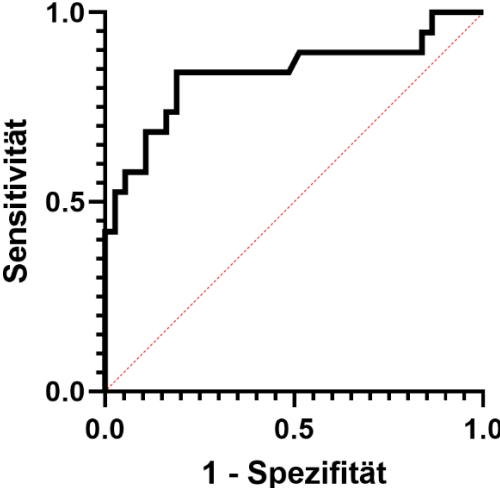




Abbildung 13: Trennschärfe von sNfL zum Nachweis einer MHE der von Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose unter Ausschluss der Patientinnen und Patienten mit einer OHE-Episode in der Anamnese



## **5 Diskussion**

### **5.1 Relevanz der HE und ihrer Diagnose**

Die HE ist eine der häufigsten Komplikationen der Leberzirrhose (Labenz et al., 2017a). Auch in ihrer minimalen und klinisch unauffälligsten Form, der MHE, hat die HE einen großen Einfluss auf Patientinnen und Patienten. Sowohl die Prognose hinsichtlich Rezidivs, weiteren Komplikationen der Leberzirrhose und Mortalität, als auch die Lebens- und Schlafqualität, das Sturzrisiko und die Fahrfähigkeit werden durch die HE negativ beeinflusst (Labenz et al., 2018, Kircheis et al., 2009, Bustamante et al., 1999, Flud and Duarte-Rojo, 2019, Bajaj et al., 2020). Durch adäquate Therapie und Prophylaxe kann dem entgegen gewirkt werden (Sharma et al., 2009, AASLD, 2014). Voraussetzung dafür ist jedoch die Diagnosestellung, welche im Falle einer CHE (MHE oder HE Grad 1) durch ihre fehlende klinische Symptomatik erschwert ist. Um auch diese milden Formen der HE zu detektieren, sind zeitaufwendige psychometrische Tests notwendig. Nicht zuletzt wegen des diagnostischen Aufwandes wird vor allem nach der MHE im klinischen Alltag zu selten gefahndet (Labenz et al., 2020). Aus diesem Grund wäre die Identifizierung eines Biomarkers zur Detektion der MHE wünschenswert. In der aktuell durchgeführten Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass sNfL ein adäquater Biomarker-Kandidat für die Detektion einer MHE sein könnten.

### **5.2 NfL als möglicher Biomarker für MHE**

In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Konzentration von NfL im Blutserum ein geeigneter Biomarker zur Diagnose und Einschätzung von Progression und Therapieansprechen neurodegenerativer Erkrankungen sein könnte (Bacioglu et al., 2016, Gaetani et al., 2019, Mollenhauer et al., 2020, Thebault et al., 2020). Sie werden bei neuronalen Zelluntergängen als Bruchstücke in den Liquor und durch die Absorption des Liquors ins venöse Blutsystem auch ins periphere Blut freigesetzt. Auch im Rahmen einer HE kommt es durch erhöhte Ammoniakspiegel im Serum, Entzündungsmediatoren und oxidativen Stress zur direkten Zellschädigung

und -untergang von Astrozyten im ZNS (Cai et al., 2019, García-Lezana et al., 2017, Cabrera-Pastor et al., 2019, Klejman et al., 2005). Diese Schäden werden mittlerweile als potenziell irreversibel angesehen, nachdem sie lange Zeit, analog zum Abklingen der klinischen Symptomatik, als reversibel angenommen wurden (García-Lezana et al., 2017, Balzano et al., 2018). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stehen im Einklang mit diesen Ergebnissen.

In dieser Studie konnte aufgezeigt werden, dass die Konzentration von NfL im Blutserum bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose und MHE signifikant erhöht ist. In uni- und multivariablen Analysen waren die sNfL-Werte unabhängig mit dem Vorhandensein einer MHE assoziiert. Ihre Diskriminationsfähigkeit zum Identifizieren von Patientinnen und Patienten mit MHE bei Leberzirrhose zeigte sich in der ROC-Analyse mit einer AUC von 0,872 (bzw. 0,839 bei Patientinnen und Patienten ohne Vorgeschichte von OHE) als sehr gut. Die Messung der sNfL mittels SiMoA aus peripher entnommenem Blutserum könnte eine schnelle, untersucherunabhängige und wenig invasive Methode sein, um eine MHE frühzeitig zu erkennen und zu therapieren.

Insgesamt konnte mit der Studie gezeigt werden, dass erhöhte sNfL direkt mit dem Vorliegen einer MHE bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose assoziiert sind. sNfL zeigten sich sowohl in uni- als auch multivariabler Analyse als starker Prädiktor einer MHE. Dieses Ergebnis zeigte sich auch unabhängig von der allgemeinen Leberfunktion der Patientinnen und Patienten, da sich keine Erhöhung der sNfL nur durch einen erhöhten MELD-Score oder eingeschränkte Syntheseleistung der Leber (erniedrigte Albumin-Konzentration), beobachten ließ.

### **5.3 Vergleich sNfL mit anderen Biomarkern**

In der Vergangenheit wurden bereits andere mögliche Biomarker für das Vorliegen einer MHE untersucht. Im Folgenden sollen sNfL mit Ammoniak, IL-6 und Indol bzw. Oxindol in ihrer Potenz als Biomarker einer MHE-Episode verglichen werden.

Als mutmaßlicher Haupttrigger der HE und wichtigster therapeutischer Angriffspunkt liegt es nahe, die Ammoniakkonzentration im Blut von Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose als Marker zu wählen. Allerdings korreliert die Höhe der Ammoniakkonzentration nicht mit dem Grad der HE (Labenz et al., 2017c). Zudem ist

die Genauigkeit der gemessenen Ammoniakwerte extrem von der Präanalytik abhängig. Blutproben zur Ammoniakmessung dürfen nicht aus länger gestauten Venen entnommen werden und müssen unverzüglich sowie auf Eis gekühlt in das entsprechende Labor transportiert werden. Außerdem sollten die Proben so schnell wie möglich zentrifugiert werden. Abhängig von diesen präanalytischen Schritten können Messwerte von Ammoniak erheblich schwanken und sind damit kein günstiger Parameter, um eine HE sicher auszuschließen oder zu diagnostizieren (Faccioli et al., 2022, Gundling et al., 2013).

IL-6 ist als Entzündungsmediator bei systemischen Inflammationen messbar. Erhöhte IL-6-Konzentrationen konnten wiederholt im Zusammenhang mit MHE-Episoden bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose gemessen werden (Labenz et al., 2019a, Montagnese et al., 2011). Die Diskriminationsfähigkeit zeigte sich jedoch weniger stark ausgeprägt als bei sNfL (0,87 bei sNfL, 0,72 bei IL-6). Zudem muss bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose immer eine systemische Inflammation als Ursache der IL-6-Erhöhung ausgeschlossen werden, da Interleukine generell unspezifische Entzündungsmediatoren sind. Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose haben aufgrund des eingeschränkten Immunsystems ein erhöhtes Infektionsrisiko, sodass bei einer Interleukinerhöhung nicht direkt auf eine MHE geschlossen werden kann. IL-6 sind daher als alleinstehendes diagnostisches Mittel zur Diagnose einer MHE nicht geeignet. Im Anschluss an die recht kostenintensive IL-6-Bestimmung müsste also zusätzlich ein psychometrischer Test angeschlossen werden, um die MHE-Episode sicher zu diagnostizieren (Gairing et al., 2022a).

Indol und Oxindol als Abbauprodukte von Tryptophan wurden ebenfalls in der Vergangenheit als Biomarker der HE untersucht. Indol entsteht durch den bakteriellen Abbau von Tryptophan im Verdauungstrakt und wird bei normaler Leberfunktion rasch entgiftet. Wenn die Leberfunktion, z.B. bei Leberzirrhose, eingeschränkt ist, akkumuliert Indol im Blut und wird in verschiedenen Geweben zu Oxindol verstoffwechselt. Oxindol kann eine sedierende Wirkung haben und die neuronale Aktivität senken und wird daher als ein wichtiger Stoff bei der Entstehung einer HE angesehen (Moroni et al., 1998). Eine Assoziation zwischen erhöhter Oxindol-Konzentration und EEG-Veränderungen konnte in einer klinischen Studie festgestellt werden. In einer Studie von Riggio et al. konnte eine Erhöhung der Indol-Serumkonzentration in einem Kollektiv von Patientinnen und Patienten mit

Leberzirrhose signifikant öfter bei jenen mit OHE als bei jenen ohne OHE festgestellt werden. Zudem zeigte sich bei Patientinnen und Patienten mit erhöhten Ammoniak-Leveln ebenfalls erhöhte Oxindol-Werte (Riggio et al., 2010). Studiendaten über die Potenz von Indol und Oxindol als Biomarker, insbesondere in Bezug auf die MHE existieren jedoch zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht.

#### **5.4 sNfL und OHE**

Zusätzlich konnten im Rahmen dieser Studie signifikant erhöhte sNfL-Werte im Serum von Patientinnen und Patienten gemessen werden, welche anamnestisch bereits mindestens eine OHE-Episode aufwiesen. Dies könnte dafür sprechen, dass trotz der potenziell reversiblen neurokognitiven Symptomatik einer OHE-Episode eine irreversible neuro-axonale Schädigung vorliegt. Dies steht im Gegensatz zur lange Zeit angenommenen Reversibilität der neuro-axonalen Schädigung bei HE-Episoden (sowohl OHE als auch MHE) und unterstreicht die Relevanz einer zuverlässigen Diagnostik einer HE bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose (Bajaj et al., 2010). Wie lange nach einer Episode von OHE die sNfL-Werte signifikant erhöht sind, ob sie in Relation zur Schwere der neuro-axonalen Schädigung stehen und in welchem zeitlichen Abstand zum Abklingen der neurologischen Symptomatik sie sich wieder normalisieren sollte Gegenstand von weitergehenden Studien werden.

#### **5.5 sNfL und Alkohol**

Alkoholabusus stellt in Europa nach wie vor die häufigste Ursache einer Leberzirrhose dar (Zhou et al., 2014, Riemann, 2008). Alkohol ist erwiesenermaßen neurotoxisch und kann so zum Beispiel zu Polyneuropathien und Hirnfunktionsstörungen führen (Hammoud and Jimenez-Shahed, 2019, Harper, 2009). Dementsprechend könnte die Vermutung naheliegen, dass ein anamnestischer Alkoholabusus allein, ohne das Vorliegen einer HE, die sNfL-Konzentration erhöhen könnte. Dies scheint aber zumindest in unserer Kohorte nicht der Fall gewesen zu sein.

Die sNfL-Werte von Patientinnen und Patienten mit MHE und einer Anamnese von Alkoholabusus unterschieden sich nicht in relevantem Maße von denjenigen, welche

eine Leberzirrhose anderer Genese vorwiesen. Auch unter den Patientinnen und Patienten ohne MHE waren die sNfL-Werte nicht in Abhängigkeit der Anamnese von Alkoholabusus zu unterscheiden. Ein übermäßiger Verzehr von Alkohol scheint also nicht allein die sNfL-Konzentration in signifikantem Maße bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose zu erhöhen. Der genaue Einfluss von Alkohol als Neurotoikum auf die Konzentration von sNfL könnte in zukünftigen Studien in größeren Kohorten weiter untersucht werden. Zudem muss der Einfluss von fortgesetztem Alkoholkonsum auf die sNfL-Konzentration kritisch geprüft werden.

## **5.6 sNfL bei Patientinnen und Patienten mit neurologischen Erkrankungen**

Beim Vergleich der sNfL-Werte der Testkohorte mit denen der neurologisch vorerkrankten Patientinnen und Patienten fiel auf, dass die sNfL-Konzentration bei Patientinnen und Patienten mit MHE erheblich höher gemessen wurde als bei Patientinnen und Patienten nach einem Schlaganfall oder einer TIA. Eine MHE in Kombination mit einer Leberzirrhose scheint in höherem Maße zur Freisetzung von NfL ins periphere Blut zu führen als diese Hirngewebsschädigungen. Unsere Ergebnisse zeigen jedoch auch, dass sNfL kein spezifischer Biomarker für eine MHE sind. Verschiedenste Studien konnten zeigen, dass multiple neurologische Erkrankungen zu Erhöhung von sNfL im Blut beitragen können und diese müssen daher stets bei der Interpretation erhöhter Werte in Betracht gezogen werden (Disanto et al., 2017).

## **5.7 Limitationen und Ausblicke**

Es muss eingeräumt werden, dass die aktuelle Studie durch ihr Querschnittsdesign begrenzt ist und daher die Kausalität zwischen höherem sNfL und dem Vorhandensein einer MHE nicht abschließend bewiesen werden kann. Als Querschnittsstudie kann keine definitive Aussage über die prognostische Potenz der sNfL als Biomarker für das Vorliegen einer MHE getroffen werden. Dies sollte in zukünftigen Studien weiter untersucht werden, vor allem vor dem Hintergrund der vergleichsweise teuren Messmethode.

Darüber hinaus wurden die Studienpatientinnen und -patienten nicht nach einem vorgegebenen Protokoll auf andere Auslöser erhöhter sNfL, wie zerebrale Mikroangiopathie, beginnende Demenz oder Polyneuropathien untersucht. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die sNfL bei Patientinnen und Patienten mit HE stärker erhöht waren als bei Patientinnen und Patienten nach einem Schlaganfall oder einer TIA. Der Einfluss von anderen neuronalen und neurodegenerativen Erkrankungen oder Verletzungen sollte noch untersucht werden.

Da ein Großteil der Studienkohorte eine ethyltoxische Genese der Leberzirrhose vorweist, liegt es zudem nahe, dass zumindest manche der Patientinnen und Patienten an ethyltoxische Polyneuropathien leiden. Ob diese ebenfalls einen Einfluss auf die sNfL-Konzentration haben, konnte bei der Größe der Studienpopulation der vorliegenden Studie nicht beurteilt werden.

Longitudinale Studiendaten über die Entwicklung der sNfL-Konzentration im Verlauf und nach Abklingen einer HE-Episode wären sehr interessant. So könnte z.B. eine Halbwertszeit der erhöhten sNfL-Werte eruiert werden. Zusätzlich könnte der Einfluss der therapeutischen Maßnahmen, wie z.B. mittels Lactulose oder schwer resorbierbaren Antibiotika beobachtet und genauer untersucht werden.

Einen Cut-Off-Wert der sNfL-Konzentration zu validieren, ab dem eine MHE diagnostiziert werden könnte, war bei der relativ kleinen Studienpopulation und den heterogenen sNfL-Werten in der vorliegenden Studie nicht möglich. Zudem wäre der Vergleich von sNfL-Konzentrationen zwischen verschiedenen Patientinnen- und Patientengruppen wichtig, um einen Cut-Off-Wert bzw. unterschiedliche Cut-Off-Werte für unterschiedliche Patientinnen- und Patientengruppen etablieren zu können. Inwieweit Geschlecht, ethnische Herkunft, Genese der Leberzirrhose oder Begleiterkrankungen Einfluss auf die sNfL nehmen wäre hierfür eine sinnvolle Fragestellung.

Nicht zuletzt wäre auch die Untersuchung der sNfL bei Patientinnen und Patienten nach TIPS-Implantation wünschenswert. Durch einen TIPS kann eine portale Hypertension akut therapiert werden, indem ein Großteil des portalen Blutvolumens unter Umgehung des Leberkreislaufs direkt in die V. cava geleitet wird. Da die Leber jedoch maßgeblich an der Entgiftung von Ammoniak beteiligt ist, führt diese Intervention zwangsläufig zu einer erheblichen Erhöhung der Ammoniakkonzentration im Blutserum. Das Risiko, eine HE-Episode zu erleiden, ist nach Implantation eines

TIPS auf 54,5% erhöht im Vergleich zu Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose und ohne TIPS (ca. 33% Risiko einer HE) (Gairing et al., 2022b, Liu and Chen, 2022). Eine Untersuchung der sNfL-Konzentration nach TIPS-Implantation könnte die Hypothese stützen, dass Ammoniak den Haupttrigger einer sNfL-Erhöhung und damit einer HE-Entstehung darstellt.

Zusammenfassend kann in der vorgelegten Studie nachgewiesen werden, dass sNfL-Konzentrationen ein potenzieller Biomarker für die Detektion einer MHE bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose darstellen. Dies deutet indirekt darauf hin, dass bereits bei subklinischen kognitiven Alterationen ein neuro-axonaler Schaden vorliegen könnte, welcher ggf. nicht mehr reversibel sein könnte. Diese Ergebnisse sind als hypothesenbildend anzusehen und sollte durch zukünftige Forschung erweitert und validiert werden.

## **6 Zusammenfassung**

Die HE ist eine potenziell reversible und häufig vorkommende Komplikation bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose. Sie wird je nach klinischem Schweregrad anhand der West-Haven-Klassifikation eingeteilt, wobei Patientinnen und Patienten mit einer HE im Stadium 0 und I (MHE) per Definition keine offensichtlichen klinischen Symptome zeigen. Zur Diagnosestellung der HE existiert bisher kein Goldstandard und die CHE kann nur durch vergleichsweise aufwendige Tests detektiert werden (PES-Test, CFF, CRT, ICT, RBANS). Aufgrund dessen wird die MHE in deutschen Kliniken häufig nicht diagnostiziert und adäquat behandelt. Auch die klinisch milderen Stadien einer HE haben für Patientinnen und Patienten gravierende Konsequenzen. Erwiesenermaßen kann eine HE auch in klinisch unauffälligen Stadien zu Schlafstörungen, Tagesmüdigkeit, eingeschränkter Lebensqualität, Sturzneigung und einer allgemein verschlechterten Prognose führen. Eine sichere und frühzeitige Diagnosestellung und Therapie sind also essenziell.

Ziel der vorliegenden Studie war es, einen möglichen Biomarker für das Vorliegen einer MHE bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose zu untersuchen und mit



dem bisherigen „Goldstandard“, dem PSE-Test hinsichtlich seiner diagnostischen Potenz zu vergleichen. Untersucht wurden NfL im Blutserum der Patientinnen und Patienten, da diese bereits in anderen Studien als möglicher Marker einer axonalen Schädigung beschrieben wurden. Als Querschnittsstudie ist die Studie als hypothesenbildend anzusehen. In dieser Studienkohorte zeigte sich die Messung der sNfL jedoch als vielversprechende Möglichkeit, um bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose nach einer MHE zu screenen. Die Messung ist untersucherunabhängig, nimmt wenig Zeit in Anspruch und ist außerdem nicht vom Bildungsgrad oder der Compliance der Patientinnen und Patienten abhängig.

Die Diskriminierungsfähigkeit konnte als hervorragend bewertet werden. Auch im Vergleich zu neurologischen Patientinnen und Patienten zeigten sich die sNfL-Werte bei Patientinnen und Patienten mit MHE signifikant stärker erhöht.

Nach weiterer Forschung könnte die Messung der sNfL bei Patientinnen und Patienten mit Leberzirrhose zu einem Teil des Diagnosealgorithmus einer HE werden, um eine MHE leichter zu detektieren und Patientinnen und Patienten eine zielgerichtete Therapie zukommen zu lassen. Dies könnte sowohl die Prognose als auch die Lebenssituation dieser chronisch erkrankten Menschen verbessern.

## 7 Literaturverzeichnis

- AASLD, A. A. F. T. S. O. L. D. 2014. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 practice guideline by the European Association for the Study of the Liver and the American Association for the Study of Liver Diseases. *J Hepatol*, 61, 642-59.
- ANGELI, P., GARCIA-TSAO, G., NADIM, M. K. & PARIKH, C. R. 2019. News in pathophysiology, definition and classification of hepatorenal syndrome: A step beyond the International Club of Ascites (ICA) consensus document. *J Hepatol*, 71, 811-822.
- BACIOGLU, M., MAIA, L. F., PREISCHE, O., SCHELLE, J., APEL, A., KAESER, S. A., SCHWEIGHAUSER, M., ENINGER, T., LAMBERT, M., PILOTTO, A., SHIMSHEK, D. R., NEUMANN, U., KAHLE, P. J., STAUFENBIEL, M., NEUMANN, M., MAETZLER, W., KUHLE, J. & JUCKER, M. 2016. Neurofilament Light Chain in Blood and CSF as Marker of Disease Progression in Mouse Models and in Neurodegenerative Diseases. *Neuron*, 91, 56-66.
- BAJAJ, J. S., DUARTE-ROJO, A., XIE, J. J., ACHARYA, C., WADE, J., ROBLES, C., THACKER, L. R., FLUD, C., FAGAN, A., GARCIA-SAENZ-DE-SICILIA, M., WHITE, M. B., KELLY, M., NGUYEN, V., GAVIS, E. A. & VARGAS, H. E. 2020. Minimal Hepatic Encephalopathy and Mild Cognitive Impairment Worsen Quality of Life in Elderly Patients with Cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*.
- BAJAJ, J. S., ETEMADIAN, A., HAFEEZULLAH, M. & SAEIAN, K. 2007. Testing for minimal hepatic encephalopathy in the United States: An AASLD survey. *Hepatology*, 45, 833-4.
- BAJAJ, J. S., SCHUBERT, C. M., HEUMAN, D. M., WADE, J. B., GIBSON, D. P., TOPAZ, A., SAEIAN, K., HAFEEZULLAH, M., BELL, D. E., STERLING, R. K., STRAVITZ, R. T., LUKETIC, V., WHITE, M. B. & SANYAL, A. J. 2010. Persistence of cognitive impairment after resolution of overt hepatic encephalopathy. *Gastroenterology*, 138, 2332-40.
- BALZANO, T., FORTEZA, J., MOLINA, P., GINER, J., MONZÓ, A., SANCHO-JIMÉNEZ, J., URIOS, A., MONTOLIU, C. & FELIPO, V. 2018. The Cerebellum of Patients with Steatohepatitis Shows Lymphocyte Infiltration, Microglial Activation and Loss of Purkinje and Granular Neurons. *Sci Rep*, 8, 3004.
- BASS, N. M., MULLEN, K. D., SANYAL, A., POORDAD, F., NEFF, G., LEEVY, C. B., SIGAL, S., SHEIKH, M. Y., BEAVERS, K., FREDERICK, T., TEPERMAN, L., HILLEBRAND, D., HUANG, S.,

- MERCHANT, K., SHAW, A., BORTEY, E. & FORBES, W. P. 2010. Rifaximin treatment in hepatic encephalopathy. *N Engl J Med*, 362, 1071-81.
- BERNARDI, M., GITTO, S. & BISELLI, M. 2011. The MELD score in patients awaiting liver transplant: strengths and weaknesses. *J Hepatol*, 54, 1297-306.
- BLEIBEL, W. & AL-OSAIMI, A. M. 2012. Hepatic encephalopathy. *Saudi J Gastroenterol*, 18, 301-9.
- BRENNER, B. 2018. Physiologie. In: PAPE, H.-C., SILBERNAGL, S. & KURTZ, A. (eds.) 8. unveränderte Auflage ed. Stuttgart.
- BUSTAMANTE, J., RIMOLA, A., VENTURA, P. J., NAVASA, M., CIRERA, I., REGGIARDO, V. & RODÉS, J. 1999. Prognostic significance of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *J Hepatol*, 30, 890-5.
- BUTTERWORTH, R. F. 2019. Hepatic Encephalopathy in Cirrhosis: Pathology and Pathophysiology. *Drugs*, 79, 17-21.
- CABRERA-PASTOR, A., LLANSOLA, M., MONTOLIU, C., MALAGUARNERA, M., BALZANO, T., TAORO-GONZALEZ, L., GARCÍA-GARCÍA, R., MANGAS-LOSADA, A., IZQUIERDO-ALTAREJOS, P., ARENAS, Y. M., LEONE, P. & FELIPO, V. 2019. Peripheral inflammation induces neuroinflammation that alters neurotransmission and cognitive and motor function in hepatic encephalopathy: Underlying mechanisms and therapeutic implications. *Acta Physiol (Oxf)*, 226, e13270.
- CAI, Z., ZHU, X., ZHANG, G., WU, F., LIN, H. & TAN, M. 2019. Ammonia induces calpain-dependent cleavage of CRMP-2 during neurite degeneration in primary cultured neurons. *Aging (Albany NY)*, 11, 4354-4366.
- CĂRUNTU, F. A. & BENEĂ, L. 2006. Spontaneous bacterial peritonitis: pathogenesis, diagnosis, treatment. *J Gastrointestin Liver Dis*, 15, 51-6.
- DAS, A., DHIMAN, R. K., SARASWAT, V. A., VERMA, M. & NAIK, S. R. 2001. Prevalence and natural history of subclinical hepatic encephalopathy in cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol*, 16, 531-5.
- DHIMAN, R. K., KURMI, R., THUMBURU, K. K., VENKATARAMARAO, S. H., AGARWAL, R., DUSEJA, A. & CHAWLA, Y. 2010. Diagnosis and prognostic significance of minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis of liver. *Dig Dis Sci*, 55, 2381-90.
- DISANTO, G., BARRO, C., BENKERT, P., NAEGELIN, Y., SCHÄDELIN, S., GIARDIELLO, A., ZECCA, C., BLENNOW, K., ZETTERBERG, H., LEPPERT, D., KAPPOS, L., GOBBI, C. & KUHLE, J. 2017. Serum Neurofilament light: A biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. *Ann Neurol*, 81, 857-870.

- DUARTE-ROJO, A., ESTRADAS, J., HERNÁNDEZ-RAMOS, R., PONCE-DE-LEÓN, S., CÓRDOBA, J. & TORRE, A. 2011. Validation of the psychometric hepatic encephalopathy score (PHES) for identifying patients with minimal hepatic encephalopathy. *Dig Dis Sci*, 56, 3014-23.
- EASL, E. A. F. T. S. O. T. L. 2010. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol*, 53, 397-417.
- FACCIOLI, J., NARDELLI, S., GIOIA, S., RIGGIO, O. & RIDOLA, L. 2022. Minimal Hepatic Encephalopathy Affects Daily Life of Cirrhotic Patients: A Viewpoint on Clinical Consequences and Therapeutic Opportunities. *J Clin Med*, 11.
- FLUD, C. R. & DUARTE-ROJO, A. 2019. Prognostic Implications of Minimal/Covert Hepatic Encephalopathy: Large-scale Validation Cohort Studies. *J Clin Exp Hepatol*, 9, 112-116.
- GAETANI, L., BLENNOW, K., CALABRESI, P., DI FILIPPO, M., PARNETTI, L. & ZETTERBERG, H. 2019. Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 90, 870-881.
- GAIRING, S. J., ANDERS, J., KAPS, L., NAGEL, M., MICHEL, M., KREMER, W. M., HILSCHER, M., GALLE, P. R., SCHATTENBERG, J. M., WÖRNS, M. A. & LABENZ, C. 2022a. Evaluation of IL-6 for Stepwise Diagnosis of Minimal Hepatic Encephalopathy in Patients With Liver Cirrhosis. *Hepatol Commun*, 6, 1113-1122.
- GAIRING, S. J., MÜLLER, L., KLOECKNER, R., GALLE, P. R. & LABENZ, C. 2022b. Review article: post-TIPSS hepatic encephalopathy-current knowledge and future perspectives. *Aliment Pharmacol Ther*, 55, 1265-1276.
- GARCÍA-LEZANA, T., ORIA, M., ROMERO-GIMÉNEZ, J., BOVÉ, J., VILA, M., GENESCÀ, J., CHAVARRIA, L. & CORDOBA, J. 2017. Cerebellar neurodegeneration in a new rat model of episodic hepatic encephalopathy. *J Cereb Blood Flow Metab*, 37, 927-937.
- GARCIA-TSAO, G. & BOSCH, J. 2010. Management of varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *N Engl J Med*, 362, 823-32.
- GBE-BUND. 07.11.2020. *Chronische Leberkrankheit und -zirrhose, Kapitel 5.22 [Gesundheitsbericht für Deutschland, 1998]* [Online]. Available: [http://www.gbe-bund.de/gbe10/abrechnung.prc\\_abr\\_test\\_logon?p\\_uid=gast&p\\_aid=0&p\\_knoten=FID&p\\_sprache=D&p\\_suchstring=937](http://www.gbe-bund.de/gbe10/abrechnung.prc_abr_test_logon?p_uid=gast&p_aid=0&p_knoten=FID&p_sprache=D&p_suchstring=937) [Accessed].
- GERBES, A. L., LABENZ, J., APPENRODT, B., DOLLINGER, M., GUNDLING, F., GÜLBERG, V., HOLSTEGE, A., LYNEN-JANSEN, P., STEIB, C. J., TREBICKA, J., WIEST, R. & ZIPPRICH, A. 2019.

- [Updated S2k-Guideline "Complications of liver cirrhosis". German Society of Gastroenterology (DGVS)]. *Z Gastroenterol*, 57, 611-680.
- GEROK, W. 2007. *Die Innere Medizin: Referenzwerk für den Facharzt*, Schattauer.
- GINÈS, P., CÁRDENAS, A., ARROYO, V. & RODÉS, J. 2004. Management of Cirrhosis and Ascites. *New England Journal of Medicine*, 350, 1646-1654.
- GUNDLING, F., ZELIHIC, E., SEIDL, H., HALLER, B., UMGELTER, A., SCHEPP, W. & DODT, C. 2013. How to diagnose hepatic encephalopathy in the emergency department. *Ann Hepatol*, 12, 108-14.
- HAMMOUD, N. & JIMENEZ-SHAHED, J. 2019. Chronic Neurologic Effects of Alcohol. *Clin Liver Dis*, 23, 141-155.
- HARPER, C. 2009. The neuropathology of alcohol-related brain damage. *Alcohol Alcohol*, 44, 136-40.
- HARRISON, T. R., LONGO, D. L. & DIETEL, M. 2012. *Harrisons Innere Medizin : 2. Kapitel 119 - 276*. London.
- HEINRICH, P. C., MÜLLER, MATTHIAS, GRAEVE, LUTZ 2014. Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie. *In: HEINRICH, P. C., MÜLLER, M. & GRAEVE, L. (eds.) Springer-Lehrbuch*. 9th ed. 2014 ed. Berlin, Heidelberg.
- HEROLD, G. 2023. *Innere Medizin 2020*. Berlin.
- IWAKIRI, Y. 2014. Pathophysiology of portal hypertension. *Clin Liver Dis*, 18, 281-91.
- JANANI, K., JAIN, M., VARGESE, J., SRINIVASAN, V., HARIKA, K., MICHAEL, T. & VENKATARAMAN, J. 2018. Health-related quality of life in liver cirrhosis patients using SF-36 and CLDQ questionnaires. *Clin Exp Hepatol*, 4, 232-239.
- KHALIL, M., TEUNISSEN, C. E., OTTO, M., PIEHL, F., SORMANI, M. P., GATTRINGER, T., BARRO, C., KAPPOS, L., COMABELLA, M., FAZEKAS, F., PETZOLD, A., BLENNOW, K., ZETTERBERG, H. & KUHLE, J. 2018. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat Rev Neurol*, 14, 577-589.
- KIRCHEIS, G., KNOCHE, A., HILGER, N., MANHART, F., SCHNITZLER, A., SCHULZE, H. & HÄUSSINGER, D. 2009. Hepatic encephalopathy and fitness to drive. *Gastroenterology*, 137, 1706-15.e1-9.
- KIRCHEIS, G., WETTSTEIN, M., TIMMERMANN, L., SCHNITZLER, A. & HÄUSSINGER, D. 2002. Critical flicker frequency for quantification of low-grade hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 35, 357-66.
- KLEJMAN, A., WEGRZYNOWICZ, M., SZATMARI, E. M., MIODUSZEWSKA, B., HETMAN, M. & ALBRECHT, J. 2005.

- Mechanisms of ammonia-induced cell death in rat cortical neurons: roles of NMDA receptors and glutathione. *Neurochem Int*, 47, 51-7.
- KORNERUP, L. S., GLUUD, L. L., VILSTRUP, H. & DAM, G. 2018. Update on the Therapeutic Management of Hepatic Encephalopathy. *Curr Gastroenterol Rep*, 20, 21.
- KUHLE, J., BARRO, C., ANDREASSON, U., DERFUSS, T., LINDBERG, R., SANDELIUS, Å., LIMAN, V., NORNGREN, N., BLENNOW, K. & ZETTERBERG, H. 2016. Comparison of three analytical platforms for quantification of the neurofilament light chain in blood samples: ELISA, electrochemiluminescence immunoassay and Simoa. *Clin Chem Lab Med*, 54, 1655-61.
- LABENZ, C., ADARKWAH, C. C., WÖRNS, M. A., MIEHLKE, S., HOFMANN, W. P., BUGGISCH, P., GALLE, P. R., FRIELING, T. & LABENZ, J. 2020. Management of hepatic encephalopathy in Germany: a survey among physicians. *Z Gastroenterol*, 58, 49-56.
- LABENZ, C., BARON, J. S., TOENGES, G., SCHATTENBERG, J. M., NAGEL, M., SPRINZL, M. F., NGUYEN-TAT, M., ZIMMERMANN, T., HUBER, Y., MARQUARDT, J. U., GALLE, P. R. & WÖRNS, M. A. 2018. Prospective evaluation of the impact of covert hepatic encephalopathy on quality of life and sleep in cirrhotic patients. *Aliment Pharmacol Ther*, 48, 313-321.
- LABENZ, C., NAGEL, M., KÄMPER, P., ENGEL, S., BITTNER, S., KAPS, L., GALLE, P. R., SCHATTENBERG, J. M., WÖRNS, M. A. & LÜSSI, F. 2021. Association Between Serum Levels of Neurofilament Light Chains and Minimal Hepatic Encephalopathy in Patients With Liver Cirrhosis. *Clin Transl Gastroenterol*, 12, e00419.
- LABENZ, C., TOENGES, G., HUBER, Y., NAGEL, M., MARQUARDT, J. U., SCHATTENBERG, J. M., GALLE, P. R., LABENZ, J. & WÖRNS, M. A. 2019a. Raised serum Interleukin-6 identifies patients with liver cirrhosis at high risk for overt hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther*, 50, 1112-1119.
- LABENZ, C., TOENGES, G., SCHATTENBERG, J. M., NAGEL, M., SPRINZL, M. F., NGUYEN-TAT, M., ZIMMERMANN, T., HUBER, Y., MARQUARDT, J. U., GALLE, P. R. & WÖRNS, M. A. 2019b. Clinical Predictors for Poor Quality of Life in Patients With Covert Hepatic Encephalopathy. *J Clin Gastroenterol*, 53, e303-e307.
- LABENZ, C., TOENGES, G., SCHATTENBERG, J. M., NAGEL, M., SPRINZL, M. F., NGUYEN-TAT, M., ZIMMERMANN, T., HUBER, Y., MARQUARDT, J. U., GALLE, P. R. & WÖRNS, M. A. 2019c. Clinical Predictors for Poor Quality of Life in Patients With Covert Hepatic Encephalopathy. *J Clin Gastroenterol*, 53, e303-e307.
- LABENZ, C., WÖRNS, M. A., SCHATTENBERG, J. M., HUBER, Y., GALLE, P. R. & LABENZ, J. 2017a. Epidemiology of hepatic

- encephalopathy in german hospitals - the EpHE study. *Z Gastroenterol*, 55, 741-747.
- LABENZ, C., WÖRNS, M. A., SCHATTENBERG, J. M., HUBER, Y., GALLE, P. R. & LABENZ, J. 2017b. Epidemiology of hepatic encephalopathy in german hospitals - the EpHE study. *Z Gastroenterol*, 55, 741-747.
- LABENZ, C., WÖRNS, M. A., SCHATTENBERG, J. M., HUBER, Y., GALLE, P. R., LABENZ, J. & GROUP, A. S. 2017c. Epidemiology of hepatic encephalopathy in german hospitals - the EpHE study. *Z Gastroenterol*, 55, 741-747.
- LIU, Y. B. & CHEN, M. K. 2022. Epidemiology of liver cirrhosis and associated complications: Current knowledge and future directions. *World J Gastroenterol*, 28, 5910-5930.
- LUDWIG, M. 2020. Repetitorium Facharztprüfung Innere Medizin. In: LUDWIG, M. (ed.) 3. Auflage ed. München.
- MOLLENHAUER, B., DAKNA, M., KRUSE, N., GALASKO, D., FOROUD, T., ZETTERBERG, H., SCHADE, S., GERA, R. G., WANG, W., GAO, F., FRASIER, M., CHAHINE, L. M., COFFEY, C. S., SINGLETON, A. B., SIMUNI, T., WEINTRAUB, D., SEIBYL, J., TOGA, A. W., TANNER, C. M., KIEBURTZ, K., MAREK, K., SIDEROWF, A., CEDARBAUM, J. M., HUTTEN, S. J., TRENKWALDER, C. & GRAHAM, D. 2020. Validation of Serum Neurofilament Light Chain as a Biomarker of Parkinson's Disease Progression. *Mov Disord*, 35, 1999-2008.
- MONTAGNESE, S., BIANCARDI, A., SCHIFF, S., CARRARO, P., CARLÀ, V., MANNAIONI, G., MORONI, F., TONO, N., ANGELI, P., GATTA, A. & AMODIO, P. 2011. Different biochemical correlates for different neuropsychiatric abnormalities in patients with cirrhosis. *Hepatology*, 53, 558-66.
- MONTAGNESE, S., JACKSON, C. & MORGAN, M. Y. 2007. Spatio-temporal decomposition of the electroencephalogram in patients with cirrhosis. *J Hepatol*, 46, 447-58.
- MORONI, F., CARPENEDO, R., VENTURINI, I., BARALDI, M. & ZENEROLI, M. L. 1998. Oxindole in pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Lancet*, 351, 1861.
- OTT, P. & LARSEN, F. S. 2004. Blood-brain barrier permeability to ammonia in liver failure: a critical reappraisal. *Neurochem Int*, 44, 185-98.
- PANTHAM, G., POST, A., VENKAT, D., EINSTADTER, D. & MULLEN, K. D. 2017. A New Look at Precipitants of Overt Hepatic Encephalopathy in Cirrhosis. *Dig Dis Sci*, 62, 2166-2173.

- PATIDAR, K. R. & BAJAJ, J. S. 2015. Covert and Overt Hepatic Encephalopathy: Diagnosis and Management. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 13, 2048-61.
- PENG, Y., QI, X. & GUO, X. 2016. Child-Pugh Versus MELD Score for the Assessment of Prognosis in Liver Cirrhosis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Medicine (Baltimore)*, 95, e2877.
- RAI, R., SARASWAT, V. A. & DHIMAN, R. K. 2015. Gut microbiota: its role in hepatic encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol*, 5, S29-36.
- RIDOLA, L., NARDELLI, S., GIOIA, S. & RIGGIO, O. 2018. Quality of life in patients with minimal hepatic encephalopathy. *World J Gastroenterol*, 24, 5446-5453.
- RIEMANN, J. F. E. A. 2008. Ätiologie und Risikofaktoren. *Gastroenterologie in Klinik und Praxis*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- RIGGIO, O., MANNAIONI, G., RIDOLA, L., ANGELONI, S., MERLI, M., CARLÀ, V., SALVATORI, F. M. & MORONI, F. 2010. Peripheral and splanchnic indole and oxindole levels in cirrhotic patients: a study on the pathophysiology of hepatic encephalopathy. *Am J Gastroenterol*, 105, 1374-81.
- ROMÁN, E., CÓRDOBA, J., TORRENS, M., TORRAS, X., VILLANUEVA, C., VARGAS, V., GUARNER, C. & SORIANO, G. 2011. Minimal hepatic encephalopathy is associated with falls. *Am J Gastroenterol*, 106, 476-82.
- ROMERO-GÓMEZ, M., MONTAGNESE, S. & JALAN, R. 2015. Hepatic encephalopathy in patients with acute decompensation of cirrhosis and acute-on-chronic liver failure. *J Hepatol*, 62, 437-47.
- SCHMIDT, R. F. H., LANG, FLORIAN (HERAUSGEBER), BRANDES, RALF (HERAUSGEBER) 2019. Physiologie des Menschen : mit Pathophysiologie. In: SCHMIDT, R. F., LANG, F. & BRANDES, R. (eds.) *Springer-Lehrbuch*. Berlin.
- SCHÜNKE, M., SCHULTE, E. & SCHUMACHER, U. 2018. Innere Organe. *Prometheus : LernAtlas der Anatomie / Michael Schünke ; Erik Schulte ; Udo Schumacher. Ill. von Markus Voll ... 5., vollständig überarbeitete Auflage* ed. Stuttgart.
- SCHUPPAN, D. & AFDHAL, N. H. 2008. Liver cirrhosis. *Lancet*, 371, 838-51.
- SEO, Y. S. 2018. Prevention and management of gastroesophageal varices. *Clin Mol Hepatol*, 24, 20-42.
- SHARMA, B. C., SHARMA, P., AGRAWAL, A. & SARIN, S. K. 2009. Secondary prophylaxis of hepatic encephalopathy: an open-label randomized controlled trial of lactulose versus placebo. *Gastroenterology*, 137, 885-91, 891.e1.



- THEBAULT, S., BOOTH, R. A. & FREEDMAN, M. S. 2020. Blood Neurofilament Light Chain: The Neurologist's Troponin? *Biomedicines*, 8.
- VARHAUG, K. N., TORKILDSEN, O., MYHR, K. M. & VEDELER, C. A. 2019. Neurofilament Light Chain as a Biomarker in Multiple Sclerosis. *Front Neurol*, 10, 338.
- VILSTRUP, H., AMODIO, P., BAJAJ, J., CORDOBA, J., FERENCI, P., MULLEN, K. D., WEISSENBORN, K. & WONG, P. 2014. 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. *Hepatology*, 60, 715-35.
- WEISSENBORN, K. 2015. Diagnosis of minimal hepatic encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol*, 5, S54-9.
- WEISSENBORN, K. 2019. Hepatic Encephalopathy: Definition, Clinical Grading and Diagnostic Principles. *Drugs*, 79, 5-9.
- WEISSENBORN, K., ENNEN, J. C., SCHOMERUS, H., RÜCKERT, N. & HECKER, H. 2001. Neuropsychological characterization of hepatic encephalopathy. *J Hepatol*, 34, 768-73.
- WEISSENBORN, K., SCHOLZ, M., HINRICHS, H., WILTFANG, J., SCHMIDT, F. W. & KÜNKEL, H. 1990. Neurophysiological assessment of early hepatic encephalopathy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 75, 289-95.
- WITTENBURG, H., TENNERT, U. & BERG, T. 2011. [Complications of liver cirrhosis]. *Internist (Berl)*, 52, 1061-70; quiz 1071-2.
- ZETTERBERG, H. 2016. Neurofilament Light: A Dynamic Cross-Disease Fluid Biomarker for Neurodegeneration. *Neuron*, 91, 1-3.
- ZHOU, W. C., ZHANG, Q. B. & QIAO, L. 2014. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World J Gastroenterol*, 20, 7312-24.

## 8 Danksagung

Besonders Danken möchte ich im Folgenden den Personen, die mich bei der Erarbeitung meiner Dissertation und im Rahmen des Studiums unterstützt haben.

Zuerst bedanke ich mich bei meinem wissenschaftlichen Betreuer für das spannende Thema, die hervorragende Betreuung und tatkräftige Unterstützung bei dieser Arbeit. Seiner mitreißenden Art verdanke ich außerdem eine hoffentlich nie nachlassende Begeisterung für die Innere Medizin und Gastroenterologie.

Außerdem danke ich meinen Eltern für Ermutigung, Motivation, liebevolle Worte und uneingeschränkte Unterstützung.

Meinen Kommilitoninnen danke ich für unermesslichen und vielseitigen Beistand.

Nicht zuletzt danke ich meinem Partner für Geduld, Aufmunterung und wertvolle Ratschläge.

## 9 Lebenslauf

Paula Kämper

Geboren am 01.03.1994 in Aachen

**06.07.2013** Allgemeine Hochschulreife am Couven-Gymnasium in Aachen

**2013–2014** Bundesfreiwilligendienst im Alexianer Krankenhaus Aachen

**2014–2016** Ausbildung zur Rettungsassistentin (Malteser-Rettungsdienstschule Aachen und DRK Aachen)

**2016–2021** Studium der Humanmedizin an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**2016–2022** Nebentätigkeit als Rettungsassistentin beim DRK Aachen und im Medical Emergency Team der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**2021–2022** Praktisches Jahr

1. Terial im Institut für Rechtsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
2. Terial in den Kliniken für Innere Medizin, Gastroenterologie, Kardiologie und Pneumologie des Marienhospitals Aachen
3. Terial in den Kliniken für Allgemein-, Viszeral- und Minimalinvasive Chirurgie, sowie im Zentrum für Orthopädie und Unfallchirurgie im Rhein-Maas-Klinikum Würselen

**08.11. 2022** Dritte ärztliche Prüfung an der JGU Mainz

**05.12.2022** Erhalt der ärztlichen Approbation

**Ab März 2023** Assistenzärztin in der Klinik für Innere Medizin im Marienhospital Aachen