

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

Erkrankungsaktivität bei NAFLD als Einflussfaktor für die Leberfunktion –LiMAX®
NASH Studie

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

Vorgelegt von

Marie Christin Breitkopf
aus Arnsberg

Mainz, 2022

Wissenschaftlicher Vorstand:

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion:

06. Dezember 2022

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	VI
1 Einleitung und Ziel der Dissertation	1
2 Literaturdiskussion	3
2.1 Nicht-alkoholische Fettlebererkrankung	3
2.1.1 Definition NAFLD	3
2.1.2 Definition NASH	3
2.2 Epidemiologie	4
2.2.1 Prävalenz NAFLD	4
2.2.2 Prävalenz NASH	5
2.3 Ätiologie und Risikofaktoren	5
2.3.1 Metabolisches Syndrom	5
2.3.1.1 Definition	6
2.3.1.2 Prävalenz	6
2.3.1.2.1 Prävalenz bei NAFLD	6
2.3.2 Genetische Faktoren	7
2.3.3 Mikrobiom des Darms	8
2.4 Pathogenese	8
2.5 Diagnostik	10
2.5.1 Leberbiopsie	10
2.5.1.1 Histologische Einteilung	11
2.5.1.1.1 SAF-Score	11
2.5.1.1.2 NAS-Score	13
2.5.2 Sonografie	14
2.5.3 MRT und CT	15

2.5.4	Elastografie	15
2.5.5	Laborscores	16
2.5.5.1	Fib-4 Score	16
2.5.5.2	NAFLD-fibrosis Score	16
2.5.5.3	APRI-Score	17
2.5.6	Diagnostischer Algorithmus	18
2.6	Therapie	19
2.6.1	Lebensstilmodifikation	20
2.6.2	Bariatrisch-chirurgische Therapie	21
2.6.3	Medikamentöse Therapie	21
2.6.3.1	Antidiabetika	22
2.6.3.1.1	Metformin	22
2.6.3.1.2	Glitazone	23
2.6.3.1.3	Liraglutid	23
2.6.3.1.4	Empagliflozin	23
2.6.3.2	Vitamin-E	24
2.6.3.3	Statine	24
2.7	Prognose	25
3	Material und Methoden	27
3.1	PatientInnen	27
3.1.1	Rekrutierung	27
3.2	Ein- und Ausschlusskriterien	27
3.2.1	Anwendung der Kriterien	28
3.3	Studienbeschreibung	28
3.3.1	Aufklärung und Einwilligung	28
3.3.2	Untersuchungsablauf	28
3.3.3	Laborparameter	29
3.3.4	Auswertung	30

3.4	Methoden	31
3.4.1	Messung der Leberfunktion	31
3.4.1.1	LiMAx-Test	31
3.4.1.2	Durchführung der Messung	32
3.4.1.3	Referenzwerte	33
3.4.2	Histologische Bewertung der Leberbiopsie	33
3.4.2.1	Definition der Erkrankungsaktivität	34
3.4.3	Statistische Auswertung	34
4	Ergebnisse	36
4.1	Darstellung der Kollektive	36
4.1.1	Übersicht	36
4.1.1.1	Alter und Geschlecht	37
4.1.1.2	Komorbiditäten und Risikofaktoren	38
4.1.1.3	Klinisches Stadium nach SAF und FLIP-Algorithmus	38
4.1.1.4	LiMAx-Messwerte	38
4.1.1.5	Histologische Bewertung	39
4.1.1.6	Laborscores	40
4.2	Korrelationen der Krankheitsaktivität mit der Leberfunktionskapazität	40
4.2.1	Korrelation zwischen Fibrorestadium nach SAF und der Leberfunktionskapazität	40
4.2.2	Korrelation zwischen „Activity“ nach SAF und der Leberfunktionskapazität	42
4.2.3	Korrelation zwischen Steatose nach SAF und der Leberfunktionskapazität	43
4.2.4	Korrelation zwischen dem klinischen Aktivitätsstadium nach SAF und FLIP-Algorithmus und der Leberfunktionskapazität	43
4.2.5	Korrelation zwischen NAFLD-fibrosis Score und der Leberfunktionskapazität	44

4.2.6	Korrelation zwischen APRI-Score und der Leberfunktionskapazität	45
4.2.7	Korrelation zwischen FIB-4-Score und der Leberfunktionskapazität	46
4.3	ROC-Kurve zur Bewertung und Optimierung der Grenzwerte der LiMAx-Messwerte zum Erkrankungsstadium	47
4.3.1	Grenzwertoptimierung des LiMAx-Messwerts im Bezug zum histologischen Fibroestadium	47
4.4	Multiple lineare Regression	48
5	Diskussion	48
5.1	Prävalenzen	49
5.2	Zusammenhang des Fibroestadiums, der Steatose und der Entzündungsaktivität mit der Leberfunktionskapazität	50
5.3	Zusammenhang des Erkrankungsstadiums der NAFLD mit der Leberfunktionskapazität im LiMAx	53
5.4	Zusammenhang der Laborscores mit der Leberfunktionskapazität im LiMAx	53
5.5	Ausblick	54
6	Zusammenfassung	55
7	Literaturverzeichnis	58

Abkürzungsverzeichnis

AASLD	American Association for the Study of Liver Diseases
AFLD	Alcoholic-fatty-liver-disease
ALT	Alaninaminotransferase
AST	Aspartataminotransferase
ASH	Alkoholinduzierte-Steatohepatitis
BMI	Body-mass-Index
CT	Computertomografie
DNL	De-novo-Lipogenese
DGVS	Deutsche Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten
DVGS	Deutscher Verband für Gesundheitssport und Sporttherapie
EASD	European Association for the Study of Diabetes
EASL	Europäische Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber
EASO	European Association for the Study of Obesity
ER	Endoplasmatische Retikulum
FLIP	fatty liver inhibition of progression
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
GLP1	Glucagon-like Peptid 1
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HDL	high-density Lipoprotein
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
HSD17B13	17- β hydroxysteroid dehydrogenase 13

IDF	International Diabetes Federation
INR	International Normalized Ratio
(c)JNK	c-Jun-N-terminale Kinasen
LDL	low-density Lipoprotein
LiMAx	maximum liver functions capacity
LTX	Lebertransplantation
MELD	Model of End Stage Liver Disease
MRI-PDFF	magnetic resonance imaging – derives proton density fat fraction
MRT	Magnet-Resonanz-Tomografie
NAFL	Nicht-alkoholische Fettleber
NAFLD	non-alcoholic fatty liver disease (Nicht-alkoholische Fettleber Erkrankung)
NAS	NAFLD-activity-Score
NASH	nicht-alkoholische Steatohepatitis
NDIRS	nichtdispersiver isotopenselektiver Infrarotspektroskopie
NFS	NAFLD-fibrosis Score
PNPLA3	Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3
PPAR- γ	Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptor gamma
ROC	receiver operating characteristic
SAF	steatosis, activity, and fibrosis Score
SGLT2	Natrium/Glucose-Cotransporter 2
TM6SF2	Transmembrane 6 superfamily 2

VCTE	Vibration-Controlled Transient Elastography
VLDL	Very low density lipoprotein
ZO1	Zonula occludens-1

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung der verschiedenen Grade der Steatose, A) Steatose Grad 1 mit ~30% Lipidtröpfchen in den Hepatozyten, B) Steatose Grad 2 mit 60% Lipidtröpfchen in den Hepatozyten und C) Steatose Grad 3 mit >80% Lipidtröpfchenanteil (38)	12
Abbildung 2: Darstellung der hepatozytären Ballonierung und Inflammation D) Grad 1 der Ballonierung, E) Grad 2 der Ballonierung, F) Lobuläre Entzündung des 1. Grades mit zwei kleinen Entzündungsherden, G) Grad 2 der lobulären Entzündung mit größeren Herden (38)	12
Abbildung 3: Diagnostischer Algorithmus der NAFLD und NASH – FLIP Algorithmus (38)	13
Abbildung 4: Diagnostischer Algorithmus bei NAFLD aus der S2k-Leitlinie NAFLD (51)	19
Abbildung 5: Schematische Darstellung der Durchführung des LiMAX-Tests sowie Angabe der Referenzwerte (Quelle der Abbildung: Humedics, „Warum LiMAX“ https://www.humedics.eu/de/warum-limax.html 11/2021)	32
Abbildung 6: Abbildung 5: LiMAX- Messkurven mit Normwertebereichen der Leberfunktion (Quelle der Abbildung: Humedics, "Warum LiMAX", https://www.humedics.eu/de/warum-limax.html)	32
Abbildung 7 (73) : Formel zur Berechnung des LiMAX-Werts	33
Abbildung 8: Grafische Darstellung der Verteilung der LiMAX-Messwerte in µg/kg/h zu den Fibrosegruppen des SAF-Scores F0-4.....	41
Abbildung 9: Grafische Darstellung der Verteilung der LiMAX-Messwerte in µg/kg/h zu den Fibrosegruppen des SAF Scores, aufgeteilt in binäre Kategorien: F0-2 leichte Fibrose und F3-4 fortgeschrittene Fibrose	41
Abbildung 10: Darstellung der Verteilung der LiMAX-Messwerte der verschiedenen Aktivitätsstadien bei NAFLD-PatientInnen.....	42
Abbildung 11: Darstellung der Verteilung der LiMAX-Messwerte der verschiedenen Steatoseausprägungen bei NAFLD PatientInnen	43
Abbildung 12: Darstellung der verschiedenen klinischen Stadien der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD, NASH, Zirrhose) nach SAF-Score und Flip-Algorithmus und Verteilung der LiMAX-Messwerte in µg/kg/h	44

Abbildung 13: Darstellung der Verteilung der LiMAx-Messwerte der verschiedenen NAFLD-fibrose Score Stadien bei n=44	45
Abbildung 14: Darstellung der Verteilung der LiMax-Messwerte der verschiedenen APRI-Scores (>2 Zirrhose, 1,5-2: signifikante Fibrose, 1-1,5 keine zuverlässige Aussage, 0,5-1 Zirrhose unwahrscheinlich, <0,5 Fibrose unwahrscheinlich) bei n=44.....	46
Abbildung 15: Darstellung der Verteilung der LiMAx-Messwerte auf die Fib-4 Stadien.....	47
Abbildung 16: ROC-Kurve zur Bewertung und Optimierung des LiMAx-Messwertes, Fläche unter der Kurve: 0,723, Standardfehler 0,081, Asymptotische Signifikanz 0,014, Asymptotisches 95% Konfidenzintervall: Untergrenze 0,564 und Obergrenze 0,881	48

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien des Kollektivs	27
Tabelle 2: Laborparameter, die bei allen StudienteilnehmerInnen bestimmt wurden	30
Tabelle 3: Klinische und demographische Eigenschaften des untersuchten Kollektivs: Angaben stetiger Größen als Mittelwert mit \pm SD, kategoriale Größen als Anzahl (relativer Anteil %)	36
Tabelle 4: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAX-Messwerten und Fibrosestadium des SAF-Scores	40
Tabelle 5: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAX-Messwerten und dem Aktivitätsstadium des SAF-Scores	42
Tabelle 6: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAX-Messwerten und dem Steatosegrad des SAF-Scores	43
Tabelle 7: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAX-Messwerten und dem klinischen Aktivitätsstadium nach SAF und Flip-Algorithmus	44
Tabelle 8: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAX-Messwerten und dem NAFLD-fibrosis Score	45
Tabelle 9: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAX-Messwerten und dem APRI-Score	46
Tabelle 10: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAX-Messwerten und dem Fib-4 Score	46
Tabelle 11: Darstellung der multiplen linearen Regression zwischen Steatose, Acitivity und Fibrose mit den LiMAX-Messwerten als abhängige Variable	48

1 Einleitung und Ziel der Dissertation

Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) ist weltweit die meist verbreitete Ursache einer chronischen Lebererkrankung (1). Die Prävalenz der NAFLD ist in den vergangenen Jahren deutlich angestiegen. Am Beispiel der Vereinigten Staaten zeigte sich zwischen 1988-1994 eine Prävalenz von 5,5%, zwischen 1999-2004 eine Prävalenz von 9,8% und zwischen 2005-2008 bereits eine Prävalenz von 11% (2). Laut einer Modellstudie sollen die Prävalenzzahlen der NAFLD bis 2030 um 18% zunehmen (3). In den USA ist sie schon jetzt eine der Hauptursache einer Leberzirrhose bei Erwachsenen und der zweit häufigste Grund einer Lebertransplantation (LTX) (4, 5). Im Jahr 2018 war die chronische Lebererkrankung und Leberzirrhose mit 1,5% eine häufige Todesursache in den USA (6). Dies ist im Vergleich zum Vorjahr ein Anstieg um 1,8% (7). Die Diagnosestellung ist nicht immer einfach. Es gibt verschiedene Methoden um eine Steatose der Leber zu beurteilen, dennoch stellt die Leberbiopsie den Goldstandard dar, um nicht nur die Diagnose zu sichern, sondern auch um den Fortschritt der Erkrankung und somit die Differenzierung von einer Lebersteatose ohne Entzündungszeichen, zu einer nicht-alkoholischen Steatohepatitis (NASH) sicher beurteilen zu können (8). Andere Verfahren, wie beispielsweise die Sonografie, die Computertomografie (CT) oder auch die Kernspintomografie (MRT) können die genaue Differenzierung der NAFLD und NASH nicht gewährleisten, bringen Strahlenbelastungen mit sich oder sind sehr teure und aufwändige Verfahren. Die Leberbiopsie bringt als ein invasives Verfahren Risiken mit sich, die von Schmerzen, Blutungen und Infektionen, über Gallelecks und Schäden an anderen Organen reichen. Das Mortalitätsrisiko der Leberbiopsie beläuft sich auf <0,01% (3). Um diesen Risiken und hohen Kosten auszuweichen, ist es sinnvoll andere Verfahren zu etablieren. Des Weiteren wäre eine generelle biopsische Abklärung bei solch hohen Prävalenzzahlen klinisch nicht durchführbar. Neben verschiedenen Tests, die unter anderem auch mittels Ultraschalltechnik durchgeführt werden können, wie zum Beispiel die Elastografie, wird in dieser Studie der „maximum liver functions capacity“ Test verwendet. Der „maximum liver functions capacity“ Test, kurz LiMAx, ist ein

Einleitung und Ziel der Dissertation

dynamischer, nicht-invasiver Leberfunktionstest, welcher als Bedsidetest durchgeführt werden kann. Dieser Test findet bereits in der Leberchirurgie, Transplantation, Hepatologie und Onkologie seine Verwendung.

In dieser Studie soll untersucht werden, ob die verschiedenen Stadien der Erkrankungsaktivität der NAFLD, NASH und Zirrhose die maximale Leberfunktionskapazität, gemessen mit dem LiMAx-Test, beeinflussen und inwieweit daraus Rückschlüsse auf die Differenzierung des Erkrankungsstadiums einer NAFLD über NASH und Zirrhose gezogen werden können. Der LiMAx könnte eine nicht-invasive Alternativdiagnostik im Rahmen der NAFLD/NASH bieten.

2 Literaturdiskussion

2.1 Nicht-alkoholische Fettlebererkrankung

2.1.1 Definition NAFLD

Die „nicht-alkoholische Fettlebererkrankung“ („non-alcoholic fatty liver disease“, NAFLD) bezeichnet eine Steatose, also eine vermehrte Fettspeicherung in der Leber, die durch eine Anreicherung von Adipozyten im Leberparenchym mit einem gesamten Fettanteil von >5% der Hepatozyten charakterisiert ist (1). Diese Steatose darf nicht durch eine andere Ätiologie, wie zum Beispiel durch eine chronische Virushepatitis, medikamentenassoziiert im Rahmen der Einnahme von beispielsweise Amiodaron oder Tamoxifen, durch Autoimmunprozesse, Hämochromatose oder Morbus Wilson verursacht worden sein (1). Wichtig ist außerdem die Abgrenzung zur alkoholisch bedingten Fettlebererkrankung (AFLD), dessen Ursache in einem erhöhten Alkoholkonsum liegt. Die Grenze des signifikanten Alkoholkonsums liegt nach Angaben der Guidelines AASLD bei >21 Standardgetränken pro Woche bei Männern und >14 Standardgetränken pro Woche bei Frauen über einen Zeitraum von 2 Jahren (9). Ein Standardgetränk enthält ca. 14g reinen Alkohol, dies entspricht in etwa einem 0,25L Glas gefüllt mit 5 Vol.-% Bier. Der genauen Anamnese der PatientInnen sollte zur Differenzierung der AFLD und NAFLD bereits im Vorfeld erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt werden. Die Definitionen des signifikanten Alkoholkonsums variieren allerdings in verschiedenen Literaturangaben.

2.1.2 Definition NASH

Als fortgeschrittenes Stadium der NAFLD ist die „nicht-alkoholische Steatohepatitis“ (NASH) zu erwähnen. Die Abgrenzung der NAFLD von der NASH ist lediglich histologisch genau zu beurteilen (10). Die NASH ist durch eine Steatosis hepatis mit lobulärer Entzündungsreaktion im Leberparenchym und ballonierte Hepatozyten charakterisiert. Entscheidend zur Differenzierung ist somit die vorhandene Entzündung im Leberparenchym. Dies kann mit oder ohne Fibrosezeichen einhergehen (11). Eine progressive Fibrose stellt jedoch häufig den mortalitätsentscheidenden Faktor der Erkrankung dar (10). Bei

PatientInnen mit diagnostizierter NASH nimmt die Fibrose in einem Zeitraum von 7 Jahren im Schnitt um ein Fibrorestadium zu. Bei der NAFLD schreitet sie dem entgegen nur halb so schnell fort (8). Aus der fortschreitenden Leberfibrose entwickelt sich häufig eine fettleberbedingte Leberzirrhose. Auf Basis einer Leberfibrose kommt es häufig zur Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms (HCC) (1). Das Risiko zur Ausbildung eines HCCs ist sowohl bei PatientInnen mit einer nicht zirrhotischen NAFLD als auch auf Grundlage einer NASH gegenüber der Normalbevölkerung deutlich erhöht. Bei der NASH liegt das Risiko zur Entwicklung eines HCCs 12-mal höher als bei Lebergesunden (3, 12).

2.2 Epidemiologie

Die NAFLD ist eine weltweit verbreitete Erkrankung, die starke Variationen der Prävalenzen zwischen einzelnen Ländern und Ethnien aufweist (3).

2.2.1 Prävalenz NAFLD

Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) stellt weltweit eine der Hauptursachen für chronische Lebererkrankungen dar. Sie wird mit einer globalen Prävalenz von ca. 25% geschätzt (1), diese entspricht in etwa auch der Prävalenz in Europa, die mit ca. 24% angegeben wird (11).

Die höchste Prävalenz wird im mittleren Osten von Amerika mit 31% und Südamerika mit 30% verzeichnet, die niedrigste Prävalenz in Afrika mit 13% (11). Die Prävalenzangaben variieren allerdings je nach Methode der Diagnosestellung (13-15). In den meisten Studien wurden nicht-invasive Diagnostikmethoden verwendet, da der Goldstandard Leberbiopsie in populationsbasierten Studien aus verschiedenen Gründen, zum Beispiel aufgrund des Aufwands der Durchführung der Biopsie oder des ethischen Gesichtspunkts bei invasiven Verfahren, nicht angewendet werden kann.

Die Prävalenzen variieren darüber hinaus mit der Ethnizität. In den USA wurden hohe Prävalenzen, vor allem bei der lateinamerikanischen Bevölkerung mit 45% festgestellt. Darauf folgt die kaukasische Bevölkerung mit 33% und die afroamerikanische mit einer Prävalenz von 11% (16). Diese Prävalenzen werden durch die gleichzeitig höheren Prävalenzen der Risikofaktoren für eine

NAFLD/NASH in der jeweiligen Bevölkerung begründet (16). Die Prävalenzen der Risikofaktoren sind in den letzten Jahren stetig gewachsen, sodass auch die Prävalenz der NAFLD und NASH gestiegen sind und auch weiter steigen werden. Laut Estes et al. steigt die Prävalenz der NAFLD in Deutschland von 22,9% (2016) auf 26,4% (2030) und die Prävalenz der NASH von 4,1% (2016) auf 6,0% (2030) (17).

2.2.2 Prävalenz NASH

Die genaue Prävalenz der NASH ist schwer abzuschätzen, da für die Differenzierung der Diagnose zwischen NAFLD und NASH eine Leberbiopsie erforderlich ist (10). Die histologische Differenzierung wird in vorliegenden Studien jedoch häufig aufgrund der Invasivität nicht durchgeführt. Die Prävalenz der NASH bewegt sich in einem Bereich zwischen 3-20% der PatientInnen mit NAFLD (starke Differenzen in den verschiedenen Quellen) (11, 12, 17, 18).

2.3 Ätiologie und Risikofaktoren

In der Vergangenheit wurden viele Risikofaktoren, die eine Fettlebererkrankung begünstigen, etabliert. Die NAFLD ist stark mit dem so genannten metabolischen Syndrom assoziiert (11). Dieses stellt den größten Risikofaktor für die Entwicklung einer nicht alkoholischen Steatose dar.

Darüber hinaus zeigten sich in den letzten Jahren weitere Einflussfaktoren, die die Entwicklung einer NAFLD begünstigen. Unter anderen sind hier genetische Faktoren, das Geschlecht, das Mikrobiom des Darms, Umweltfaktoren, Ethnizität und weitere Faktoren zu erwähnen (8). Im Folgenden werde ich mich auf das metabolische Syndrom, die genetische Prädisposition und das Darmmikrobiom als wichtige Risikofaktoren beziehen.

2.3.1 Metabolisches Syndrom

Das metabolische Syndrom ist eine Volkskrankheit in Deutschland und anderen modernen Industrienationen. Immer mehr Menschen leiden darunter (19). Das metabolische Syndrom stellt eine Kombination aus verschiedenen Krankheitsbildern, wie der arteriellen Hypertonie, Adipositas,

Hypertriglyceridämie und Diabetes mellitus Typ II dar und ist als wichtiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen zu berücksichtigen (20). Auch bei der Entwicklung einer NAFLD/NASH stellt das metabolische Syndrom einen entscheidenden Risikofaktor dar (11).

2.3.1.1 Definition

Nach der Definition der „International Diabetes Federation“ (IDF) aus dem Jahr 2005 steht die zentrale Adipositas im Fokus des Metabolischen Syndroms. Die zentrale Adipositas wird durch einen Taillenumfang von ≥ 80 cm bei europäischen Frauen und ≥ 94 cm bei europäischen Männern oder einem BMI von >30 kg/m² definiert. Um die Diagnose des Metabolischen Syndroms zu stellen, müssen zwei oder mehr zusätzliche Merkmale erfüllt werden. Zu den weiteren Merkmalen zählen: erhöhte Triglyceride von ≥ 150 mg/dl, verminderte Konzentration des HDL Cholesterins von <50 mg/dl bei Frauen und <40 mg/dl bei Männern, arterielle Hypertonie systolisch ≥ 130 mmHg oder diastolisch ≥ 85 mmHg und eine bestehende Insulinresistenz mit Nüchternblutzuckerwerten von ≥ 100 mg/dl oder bereits diagnostiziertem Diabetes mellitus Typ 2. Bei allen aufgeführten Faktoren zählt ebenfalls eine schon bereits eingeleitete medikamentöse Therapie als erfülltes Merkmal (20).

2.3.1.2 Prävalenz

Nach der oben genannten Definition des Metabolischen Syndroms der IDF liegt die geschätzte weltweite Prävalenz des Metabolischen Syndroms bei 44,6%. Hierbei sind Frauen mit einem Anteil von 53,2% häufiger betroffen als Männer, die lediglich einen Anteil von 31,9% aufweisen (19).

2.3.1.2.1 Prävalenz bei NAFLD

Viele der PatientInnen, die an einer NAFLD oder NASH erkrankt sind, leiden auch an Begleiterkrankungen, die der NAFLD oder NASH meistens vorausgehen. Die NAFLD wird auch als hepatische Manifestation des metabolischen Syndroms angesehen (21).

69-100% der PatientInnen mit NASH sind adipös, 34-75% haben einen Diabetes mellitus Typ II und 20-81% leiden unter Hyperlipidämie (22). Die Prävalenzen der Begleiterkrankungen, die gleichzeitig Risikofaktoren für die

Entwicklung einer NAFLD darstellen, sind in den letzten Jahren stark angestiegen (11, 17). Somit liegt nahe, dass auch die Prävalenzzahlen der NAFLD, wie oben erwähnt, stark gestiegen sind und auch weiter steigen werden.

2.3.2 Genetische Faktoren

Zusätzlich wurden genetische Faktoren, die eine Entstehung der NAFLD begünstigen, identifiziert.

In mehreren Studien wurde ein Polymorphismus im patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) Gen untersucht. Dieses Gen ist ein wichtiger multifunktionseller Regulator im Lipidstoffwechsel in den Hepatozyten und Sternzellen. Es konnte ein deutlicher Zusammenhang einer PNPLA3 Allelvariante mit einer fortgeschrittenen NAFLD/NASH und auch mit einer fortgeschrittenen Fibrose festgestellt werden (23).

Des Weiteren konnte in einer Studie herausgefunden werden, dass ein Polymorphismus im Transmembrane 6 Superfamily Member 2 (TM6SF2) Gen die Entwicklung einer NAFLD begünstigt. PatientInnen mit dieser Genvariante stellten häufiger einen schwereren Phänotyp in Bezug auf eine fortgeschrittene Fibrose dar (23). Das TM6SF2-Gen ist ein wichtiger Regulator im Leberfettstoffwechsel, welches die Triglyzeridsekretion und den hepatischen Lipidtröpfchengehalt beeinflusst. Die oben erwähnte Genvariante führt zu einer gestörten Produktion von Lipoproteinen des „Very-low-density lipoprotein“ Typs (VLDL). VLDL wird immer dann in der Leber synthetisiert, wenn mehr Fette und Kohlenhydrate mit der Nahrung aufgenommen werden, als in der Leber verstoffwechselt werden können. Mit Hilfe von VLDL werden die überschüssigen Lipide an das Blut abgegeben und zum peripheren Gewebe transportiert, um dort als Energielieferant zu dienen.

Eine Allelvariante von 17- β hydroxysteroid dehydrogenase 13 (HSD17B13) TA/- Allele konnte mit einem milderem Phänotyp einer NAFLD assoziiert werden (24, 25). In Studien zeigte sich, dass die Genvariante vom HSD17B13 eine starke protektive Wirkung auf Leberschäden, Entzündungen, Fibrose, Zirrhose und sogar auf die Entwicklung eines HCC hat (23-25). Zusammenfassend konnte in Studien gezeigt werden, dass es eine Art Risikoallele gibt. Eine Kombination aus mehreren Risikoallelen stellt ein erhöhtes Risiko für eine fortgeschrittenere

NAFLD/NASH zum Zeitpunkt der Diagnosestellung dar. Außerdem zeichnet die Kombination aus genetischer Prädisposition und den bekannten Risikofaktoren, wie beispielsweise dem Diabetes mellitus Typ II, ein erhöhtes Risikoprofil für die Schwere der Erkrankung auf (23). Bisher findet die genetische Testung im klinischen Alltag jedoch keine Anwendung.

2.3.3 Mikrobiom des Darms

In anderen Studien wurde die Zusammensetzung des Darmmikrobioms bei NAFLD untersucht. Hierbei konnten Zusammenhänge zwischen NAFLD und einer Störung des Darmmikrobioms festgestellt werden (26). Es gibt Hinweise auf einen direkten Einfluss des Mikrobioms auf den metabolischen Phänotyp der PatientInnen. Bei PatientInnen mit NAFLD wichen die Gram-negative Bakterien mit bis zu 20% erhöhten Bacteroides und 24% reduzierten Firmicutes Stämmen im Vergleich zu gesunden, nicht adipösen Erwachsenen ab (26).

Adipöse PatientInnen weisen zudem durch die bakteriellen Veränderungen im Darm Abweichungen der Darmpermeabilität auf. Fast 50% der PatientInnen mit einer NASH wiesen eine erhöhte Darmpermeabilität auf. Diese ist unter anderem durch eine verminderte Expression von Tight junctions (ZO1) begründet. Durch die veränderten Bakterienstämme im Darm und die erhöhte Darmpermeabilität gelangen Endotoxine, Bakterien und deren Bestandteile in die Blutlaufbahn und ins periphere Gewebe. Unter ständiger Interaktion mit dem Immunsystem lösen sie dort gewebespezifische proinflammatorische Reaktionen aus. Auch in der Leber wird die Entzündungsaktivität durch Zytokine gefördert, welche die Krankheitsprogression der NAFLD deutlich begünstigt (26-28).

2.4 Pathogenese

Die NAFLD ist, wie anfangs erwähnt, durch einen erhöhten Adipozytenanteil in der Leber definiert. Dieser hohe Anteil der Adipozyten im Leberparenchym entsteht durch ein massives Überangebot von freien Fettsäuren (8). Freie Fettsäuren werden über das Blut zur Leber transportiert und anschließend von ihr aufgenommen. Ein Überangebot führt zu einer Imbalance zwischen Lipidaufnahme, Verstoffwechslung von Fettsäuren in der Leber und

Literaturdiskussion

Lipidabgabe aus der Leber in die Peripherie. Durch eine übermäßige Zufuhr von Energie in Form von Fettsäuren und Kohlenhydraten aus der Nahrung kann die Leberkapazität überschritten werden (8). Auch eine gestörte Verarbeitung der Fettsäuren durch Fehler in der Fettsäureoxidation, sowie eine veränderte Formation der Very-low-Density-Lipoproteine (VLDL), welche einen starken Einfluss auf die Abgabe der Fettsäuren aus der Leber hat, unterstützen die Imbalance von Fettsäureimport und Export (29). Folglich akkumulieren lipotoxische Spezies in der Leber. Diese lösen einen hepatozellulären Stress aus, welcher wiederum über Inflammation zu einer Zellzerstörung und zum Zelltod führt (27, 30-33). Der hepatozelluläre Stress, die Zellzerstörung und der daraus resultierende Zelltod führen folglich zu einem Gewebeumbau in der Leber, einer Leberfibrosierung. Zusätzlich kommt es zu einer genomischen Instabilität (8). Diese Faktoren wiederum begünstigen den Fortschritt zur Leberzirrhose und die Ausbildung eines hepatozellulären Karzinoms (8).

Doch nicht nur eine übermäßige Zufuhr von Fettsäuren, sondern auch andere Faktoren begünstigen den oben beschriebenen Verlauf.

Der Metabolismus der Fettsäuren ist stark durch das Insulin reguliert. Eine Insulinresistenz, wie sie bei einem Diabetes mellitus Typ II besteht, führt zu einer fehlgesteuerten Signalgebung (34). Normalerweise wirkt Insulin antilipolytisch. Bei einer Insulinresistenz ist die Signalgebung fehlgesteuert, wodurch dann eine gesteigerte Lipolyse induziert wird. Dies führt wiederum zu einer erhöhten Freisetzung von Fettsäuren, die dann über das Blut zur Leber gelangen und dort aufgenommen und eingelagert werden (34). Sowohl durch den so entstehenden zellulären Stress, der auch als ER- (Endoplasmatisches Retikulum-)Stress bekannt ist, als auch durch hohe Spiegel von proinflammatorischen Zytokinen im Blut, welche auch bei Adipositas erhöht sind, werden c-Jun N-terminale Kinasen (JNKs) durch Phosphorylierung aktiviert (8, 32). Diese Aktivierung beeinflusst zusätzlich den Insulin-Rezeptor-Signalweg (35), sodass die Lipolyse gesteigert wird. Inflammation, zellulärer Stress und fehlgesteuerte Signalgebungen fördern also die Ausbildung einer Fettlebererkrankung.

Als zweite Ursache für ein Überangebot von Fettsäuren im Blut ist die de-novo Lipogenese (DNL) zu erwähnen. Bei der DNL werden aus Kohlenhydraten, die dem Organismus beispielsweise in Form von Glucose oder Fructose zugeführt

werden, Fettsäuren synthetisiert. Die Glucoseaufnahme in die Leber ist streng durch den Insulinmechanismus reguliert, wohingegen Fructose nahezu vollständig und unkontrolliert aus dem Pfortaderblut in die Leber aufgenommen und der DNL zugeführt wird. Fettsäuren werden synthetisiert und in der Leber eingelagert. Zusätzlich wird der Fettsäureabbau über die beta-Oxidation gehemmt. Eine drastisch erhöhte Zufuhr von Fructose führt so zu einer gesteigerten Fettsäureproduktion und Akkumulation der Fettsäuren in der Leber. Wie bereits beschrieben, führt dies zu zellulärem Stress, Zellzerstörung und Zelltod. Eine NASH wird durch diese Mechanismen sehr stark begünstigt (36).

2.5 Diagnostik

Um eine NAFLD/NASH zu diagnostizieren, gibt es verschiedene Verfahren. Als Goldstandard gilt die Leberbiopsie. Zudem gibt es verschiedene Fibrosetests und Scores, die auf der Grundlage von Laborparametern und klinischen Parametern, wie z.B. Alter, Geschlecht, BMI Aussagen über die Erkrankung treffen können. Auch konventionelle bildgebende Verfahren, wie beispielsweise das CT, MRT oder die Sonografie, finden ihre Anwendung in der Diagnosestellung der NAFLD/NASH.

Zur Differenzierung zwischen alkoholischer und nicht-alkoholisch bedingter Steatosis hepatis sollte jedoch eine genaue Anamnese durchgeführt werden. Eine alkoholische Genese gilt es im Vorfeld auszuschließen.

2.5.1 Leberbiopsie

Wie oben bereits erwähnt, stellt die Leberbiopsie den Goldstandard der Diagnosestellung der NAFLD bzw. NASH dar. Nur die histologische Beurteilung kann definitive Aussagen über die Erkrankung, den Erkrankungsfortschritt, sowie die Differenzierung zwischen NAFLD und NASH treffen (10). Zur anschließenden histologischen Beurteilung werden verschiedene Scores angewendet.

2.5.1.1 Histologische Einteilung

Für die histologische Bewertung der NAFLD/NASH werden einzelne Faktoren getrennt voneinander beurteilt. Es wird vor allem die Steatose, die hepatozytäre Ballonierung und Inflammation, sowie die Fibrose begutachtet. Die einzelnen Faktoren werden in verschiedenen Scores zusammengefasst. Im weiteren Verlauf werde ich auf den SAF- und den NAS-Score genauer eingehen.

2.5.1.1.1 SAF-Score

Der SAF-Score ist ein histologischer Score, der von Bedossa et al. zur histologischen Diagnostik der NASH entwickelt wurde (37, 38). Er beinhaltet, wie bereits erwähnt, die Bewertung der Steatose der Leber, die Entzündungsaktivität und den Fibrosegrad.

Die Steatose (S) umfasst die Grade 0-3. Die Einteilung wird anhand des Anteils der makro- und/oder mediovesikulären Lipidtröpfchen im histologischen Schnitt vorgenommen. Die normale Leber (Grad 0) enthält in weniger als 5% der Hepatozyten Lipide. Grad 1 beschreibt einen Lipidanteil von <33% der Hepatozyten, Grad 2 <66% und Grad 3 >67%.

Der Aktivitätsgrad (A) umfasst die Grade 0-4. Bewertet wird die Aktivität anhand der Summe des Grades der hepatozytären Ballonierung (0-2) und der lobulären Inflammation (0-2). Addiert ergeben sich die Grade 0-4. Der SAF-Score berücksichtigt hierbei vor allem die Größe der ballonierten Zellen. Grad 0 verzeichnet keine Aktivität, Grad 1 milde, Grad 2 moderate und Grad 3 und 4 schwere Aktivität.

Literaturdiskussion

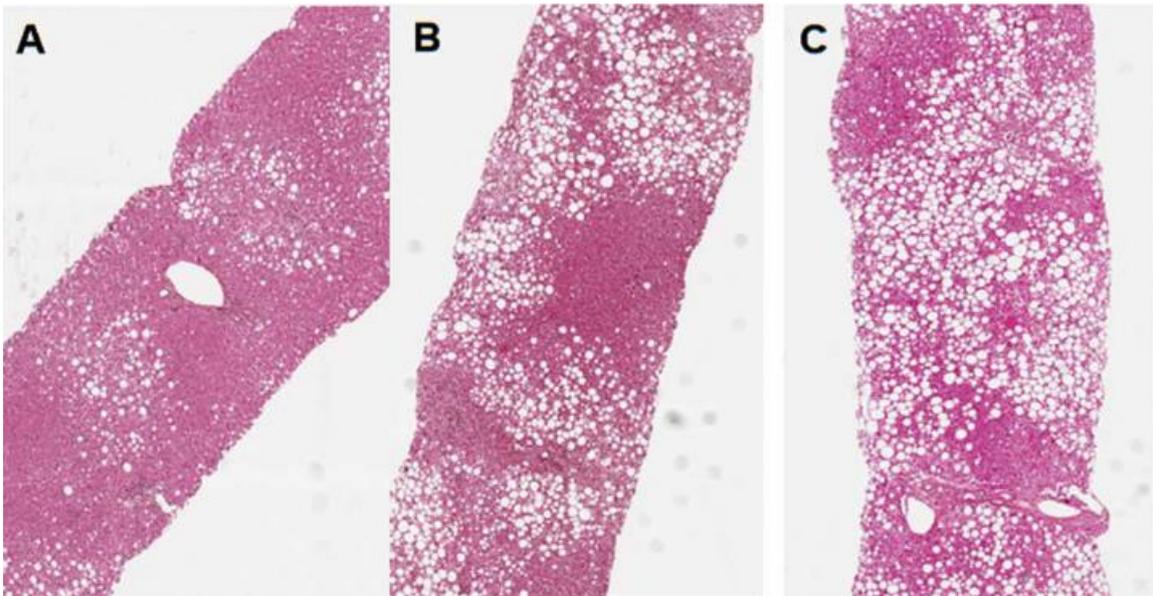


Abbildung 1: Darstellung der verschiedenen Grade der Steatose, A) Steatose Grad 1 mit ~30% Lipidtropfen in den Hepatozyten, B) Steatose Grad 2 mit 60% Lipidtröpfchen in den Hepatozyten und C) Steatose Grad 3 mit >80% Lipidtröpfchenanteil (38)

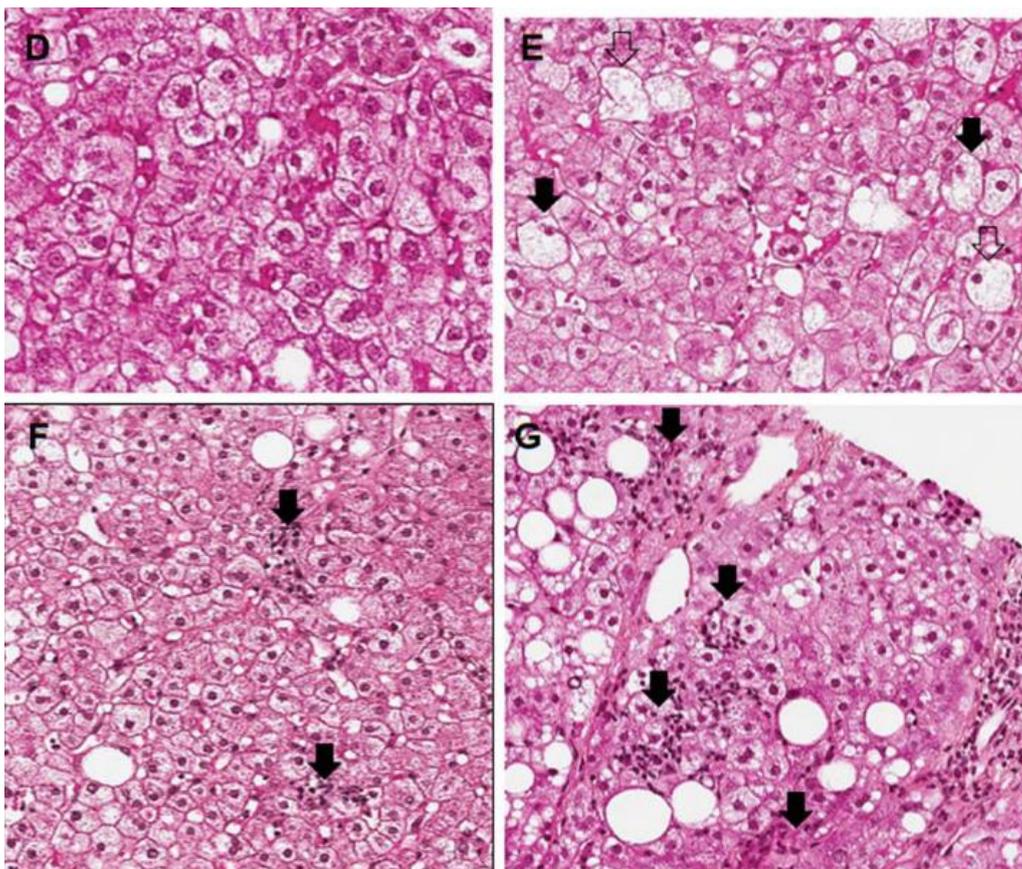


Abbildung 2: Darstellung der hepatozytären Ballonierung und Inflammation D) Grad 1 der Ballonierung, E) Grad 2 der Ballonierung, F) Lobuläre Entzündung des 1. Grades mit zwei kleinen Entzündungsherden, G) Grad 2 der lobulären Entzündung mit größeren Herden (38)

Der Fibrosegrad (F) umfasst Grad 0-4. Liegt keine Fibrose vor, so wird dies als Grad 0 bewertet. Der Grad 1, der nochmals in 1a, b und c unterteilt wird,

beschreibt eine perisinusoidale Fibrose in Zone 3 (1a und b) oder eine portale Fibrose (1c). Grad 2 beschreibt perisinusoidale und periportale Fibrose ohne Überbrückungsfibrose. Liegt eine brückenbildende Fibrose vor, wird dies als Grad 3 beurteilt. Der Grad 4 beschreibt die Zirrhose.

Anhand des FLIP-Algorithmus kann nun die Einteilung in NAFLD, NASH und Zirrhose erfolgen. Der Algorithmus beruht auf den drei essenziellen Merkmalen des SAF-Scores, der Steatose, der hepatozytären Ballonierung und Inflammation und der Fibrose. Dabei bilden, wie oben erwähnt, die hepatozytäre Ballonierung und Inflammation den Score der Aktivität.

Eine NAFLD liegt vor, wenn der Steatosegrad >0 liegt. Wenn hingegen ein Aktivitätsgrad von >2 zu verzeichnen ist, liegt bereits eine NASH vor. Eine Zirrhose können wir dann beschreiben, wenn der Fibrosegrad 4 erreicht wurde (37).

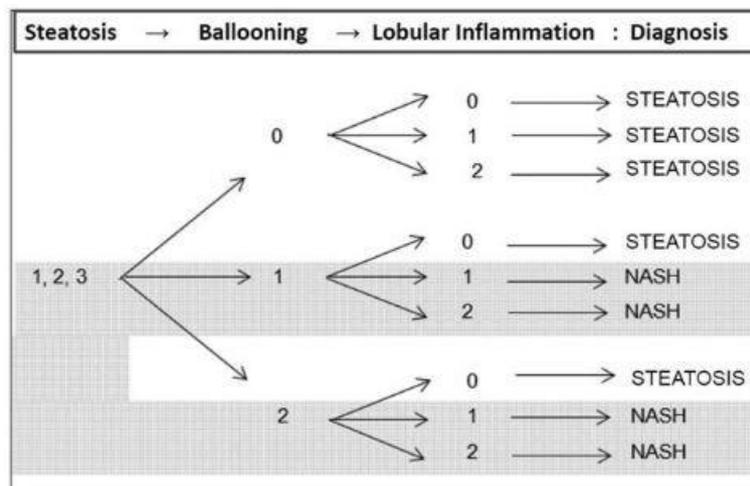


Abbildung 3: Diagnostischer Algorithmus der NAFLD und NASH – FLIP Algorithmus (38)

2.5.1.1.2 NAS-Score

Der NAS-Score (NAFLD-activity-Score) beschreibt eine Summe aus den drei Beurteilungsparametern (39) und wurde zur Beurteilung von Veränderungen der NAFLD in therapeutischen Studien entwickelt. Der Score umfasst die Grade 0-8 und beinhaltet im Gegensatz zum SAF-Score lediglich den Steatosegrad, die hepatozytäre Ballonierung und die lobuläre Inflammation.

Der Fibrosegrad wird in diesem Score gesondert beurteilt. Die Beurteilung der Steatose erfolgt unter den gleichen Kriterien wie die des SAF-Scores (0= <5%, 1= 5-33%, 2= 34-66%, 3= >66%). Die hepatozytäre Ballonierung beschreibt

Literaturdiskussion

den Prozess der Degeneration der Hepatozyten, denn während dieses Prozesses schwellen die Hepatozyten an und zeigen sich unterm Mikroskop ballonartig. Die hepatozytäre Ballonierung wird in Grad 0-2 eingeteilt. Während bei Grad 0 keine ballonartigen Hepatozyten im Biopsat gesehen werden, beschreibt man sie bei Grad 1 als wenig vorhanden und bei Grad 2 als zahlreich vorhanden.

Die lobuläre Entzündung beschreibt histologische Bereiche, die aus entzündlichen Zelleninfiltraten, wie z.B. Lymphozyten, Neutrophile, Eosinophile und Kupfferzellen bestehen können. Diese Infiltrate erscheinen unter dem Mikroskop in kleinen Gruppen, welche auf einem 20-fach vergrößerten Feld gezählt werden können. Im Score können die Grade 0-3 erreicht werden. Werden keine Infiltrate gezählt, ist dies Grad 0. Bei Grad 1 werden <2 Foci pro 20-faches Feld gezählt, bei Grad 2 sind es 2-4 Foci und bei Grad 3 >4 Foci pro 20-faches Feld.

Der Referenzbereich für die Diagnose beträgt 0-2 für keine NASH und 5-8 für die Diagnose NASH. Der Bereich zwischen 3-4 umfasst einen Graubereich, in dem keine definitive Aussage über die Diagnosestellung NASH oder keine NASH getroffen werden kann (39, 40).

Das Fibrosestadium sollte entsprechend der Einteilung nach Kleiner et al. zusätzlich bewertet werden (40). Diese Einteilung umfasst die Fibrosegrade 0-4. Hierbei beschreibt Grad 0, dass keine Fibrose vorliegt. Grad 1, aufgeteilt in 1a-c, beschreibt bei Grad 1a eine leichte zentrale perisinusoidale Fibrose in Zone 3, 1b moderate perisinusoidale Fibrose in Zone 3 und 1c die portale Fibrose. Fibrosegrad 2 beschreibt eine portale und zentrale Fibrose, Grad 3 eine brückenbildende Fibrose und Grad 4 die Leberzirrhose.

2.5.2 Sonografie

Die Ultraschalluntersuchung stellt ein wichtiges Instrument der Diagnosestellung einer Fettleber dar. Sie ist eine kostengünstige, strahlenfreie und schnell verfügbare Methode der Bildgebung. Allerdings findet die Sonografie bei stark adipösen PatientInnen ihre Grenzen (41), sodass keine gute Bildgebung erfassbar ist. Die Sonografie kann eine mittelschwere bis schwere Steatose der Leber mit einer Sensitivität von ca. 85% und einer Spezifität von ca. 94% relativ sicher diagnostizieren (42) und stellt insgesamt

ein gutes Screeninginstrument der Fettleber im klinischen Alltag und Bevölkerungsstudien dar.

2.5.3 MRT und CT

Die Magnetresonanztomografie (MRT) und auch die Computertomografie (CT) können eine Steatose der Leber oder eine Leberzirrhose ebenfalls diagnostizieren. Allerdings finden beide Verfahren wenig Verwendung. Das MRT ist zwar mit einer Sensitivität von 92-100% und einer Spezifität von 92-97% ein sehr genaues Verfahren zur Beurteilung der Lebersteatose (3), ist aber gleichzeitig ein sehr kostenaufwändiges Verfahren und ist zudem nicht in jeder Klinik verfügbar. Darüber hinaus ist auch das MRT bei stark adipösen PatientInnen nur limitiert einsetzbar, da oft nur MRT-Spiralen mit kleinem Durchmesser vorhanden sind. Zudem stellen Metallimplantate oder die Klaustrophobie eine Kontraindikation dar (43). Das CT wiederum ist ein schnelles und oft verfügbares Verfahren, wobei die hohe Strahlenbelastung gegen die Verwendung als Screeninginstrument bei NAFLD/NASH spricht. Außerdem kann keine Bildgebung, weder der Ultraschall noch das MTR oder das CT die Differenzierung zwischen NAFLD und NASH gewährleisten (10).

2.5.4 Elastografie

Die Elastografie stellt ein Verfahren der Messung der Lebersteifigkeit dar. Sie dient als indirekter Parameter für die Leberfibrose. Hierbei ist die vibrationskontrollierte transiente Elastografie (VCTE) zu erwähnen. Die VCTE ist ein Ultraschallverfahren zur Messung der Lebersteifigkeit. Über eine transkutan interkostal aufgesetzte Sonde werden niederfrequente Vibrationen in das Leberparenchym abgegeben. Über die Geschwindigkeit der reflektierten Wellen wird dann die Lebersteifigkeit in kPa abgeleitet. Bei ausgeprägter Adipositas oder bei zu engen Interkostalräumen liefert die VCTE allerdings oft keine validen Ergebnisse oder kann erst gar nicht durchgeführt werden (41). Abhängig von der Grunderkrankung werden verschiedene Grenzwerte für die Einstufung der Lebersteifigkeit in die unterschiedlichen Fibrotestadien angegeben. In einer Studie mit 373 ProbandInnen wurden für den VCTE folgende Grenzwerte etabliert (44):

Literaturdiskussion

- 8,2 kPa für F \geq 2 (Sens. 71%, Spez. 70%)
- 9,7 kPa für F \geq 3 (Sens. 71%, Spez. 75%)
- 13,6 kPa für F4 (Sens. 85%, Spez. 79%) / 10,9 kPa für F4 Cut-off bei 90% Sensitivität

Ein VCTE-Cut-Off von <8kPa wird auch in der aktuellen europäischen Leitlinie mit einem negativen prädiktiven Wert von >90% für den Ausschluss einer fortgeschrittenen Fibrose bei NAFLD empfohlen (45).

2.5.5 Laborscores

Als weitere Einschätzung des Fortschritts der NAFLD/NASH wurden verschiedene Laborscores etabliert. Aus verschiedenen Parametern, wie beispielsweise Transaminasewerte, Thrombozytenzahl, Alter, Geschlecht, können Aussagen über den Fibrosefortschritt in der Leber getroffen werden.

2.5.5.1 Fib-4 Score

Der Fib-4 Score ist ein Score zur Beurteilung des Fibrosefortschritts bei NAFLD PatientInnen. Hierbei fließt das Alter (in Jahren), sowie die Aspartataminotransferase (AST) (in U/l), die Thrombozytenzahl (in $10^9/l$) und die Alaninaminotransferase (ALT) mit in den Score ein. Liegt der Fib-4 Score <1,45 kann eine fortgeschrittene Fibrose zu 90% ausgeschlossen werden. Ein Wert von >3,25 hingegen hat eine Spezifität von 97% bei einem positiven prädiktiven Wert von 65% für eine fortgeschrittene Fibrose (46).

$$Fib4 = \frac{\text{Alter (in Jahren)} \times AST \left(\frac{U}{l}\right)}{\text{Thrombozytenzahl} \left(\frac{10^9}{l}\right) \times \sqrt{ALT \left(\frac{U}{l}\right)}}$$

2.5.5.2 NAFLD-fibrosis Score

Der NAFLD-fibrosis Score (NFS) wurde von Angulo et al. in einer Kohortenstudie entwickelt. Dieser Score basiert auf dem Alter (in Jahren), Hyperglykämie, Body Mass Index (in kg/m^2), Thrombozytenzahl ($10^9/l$), Albumin-Serumkonzentration (g/dl) und AST-ALT-Ratio. Mithilfe des NFS

können PatientInnen mit einer fortgeschrittenen Fibrose (F3-4) von PatientInnen ohne fortgeschrittene Fibrose differenziert werden. Bei einem Wert von $< -1,455$ kann eine fortgeschrittene Fibrose bei einem negativen prädiktiven Wert von 88-93%, relativ sicher ausgeschlossen werden. Liegt der Wert jedoch $> 0,675$, kann eine fortgeschrittene Fibrose bei einem positiven prädiktiven Wert von 82-90% relativ sicher angenommen werden (47). In einer Studie von Nakano et al. aus dem Jahr 2012 konnte der NFS mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 83%, einem positiven prädiktiven Wert von 63% und einem negativen prädiktiven Wert von 100% bewertet werden (48). Zudem konnte gezeigt werden, dass der NFS mit der Gesamtmortalität signifikant assoziiert ist. Je höher der NFS, desto höher war auch die Gesamtmortalität bei PatientInnen mit NAFLD (49).

NAFLD fibrosis score

$$\begin{aligned}
 &= -1,675 + 0,037 \times \text{age (years)} + 0,094 \times \text{BMI} \left(\frac{\text{kg}}{\text{m}^2} \right) \\
 &+ 1,13 \times \frac{\text{IFG}}{\text{diabetes}} (\text{yes} = 1, \quad \text{no} = 0) + 0,99 \times \frac{\text{AST}}{\text{ALT}} \text{ratio} \\
 &- 0,013 \times \text{platelet} \left(\times \frac{10^9}{\text{l}} \right) - 0,66 \times \text{albumin} \left(\frac{\text{g}}{\text{dl}} \right)
 \end{aligned}$$

2.5.5.3 APRI-Score

Der APRI-Score (aspartate aminotransferase to platelet ratio index) berechnet sich aus der Thrombozytenzahl ($10^9/\text{l}$) und dem AST (U/l) abhängig vom Geschlecht. Auch dieser Score dient der Beurteilung des Fibrosefortschritts, wurde allerdings nur bei PatientInnen mit einer Virushepatitis validiert. Bei Werten $<0,5$ ist eine Leberfibrose eher unwahrscheinlich (negativer prädiktiver Wert 86%), werden Werte von $>1,5$ erreicht, sollte von einer Fibrose ausgegangen werden (positiver prädiktiver Wert von 88%). Eine Leberzirrhose kann ab einem Wert von >2 angenommen werden (positiver prädiktiver Wert von 57%), wohingegen sie bei Werten von <1 ausgeschlossen werden sollte (negativer prädiktiver Wert von 98%)(50).

$$APRI = \frac{\left(\frac{AST \text{ gemessen } \left[\frac{U}{L} \right]}{\text{oberer } AST - \text{Referenzwert } \left[\frac{U}{L} \right]} \right)}{\text{Thrombozytenzahl } (10^9/L)} \times 100$$

2.5.6 Diagnostischer Algorithmus

Auf Grundlage der oben erwähnten Möglichkeiten der invasiven und nicht invasiven Diagnostik der NAFLD wurde durch die Deutsche Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) ein Algorithmus zur Diagnostik der NAFLD entwickelt. Dieser wird in der S2k-Leitlinie zur nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung dargestellt (51). Wenn in der primären Diagnostik, beispielsweise im Ultraschall eine Steatose der Leber nachgewiesen werden konnte oder durch erhöhte Leberwerte in der klinischen Chemie ein Verdacht auf eine NAFLD erhärtet werden konnte, sollten weitere diagnostische Schritte durchgeführt werden. Zunächst sollte laut Leitlinie auf nicht-invasive Laborscores, wie Fib-4 oder der NFS zurückgegriffen werden. Diese zeigen, wie auch bereits dargelegt, hohe negative Prädiktive Werte, wodurch eine fortgeschrittene Fibrose mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden kann (47, 52). PatientInnen mit niedrigem Fibroserisiko sollten zunächst im Verlauf weiter mittels Laborparametern und Scores beurteilt werden. Bei höherem oder grenzwertigem Risiko wird als ergänzende Diagnostik die Elastografie mittels VCTE empfohlen. Wird durch diese diagnostischen Verfahren ein mittleres Risiko für eine fortgeschrittene Fibrose ermittelt, sollte die Durchführung einer Leberbiopsie in Erwägung gezogen werden (51).

Literaturdiskussion

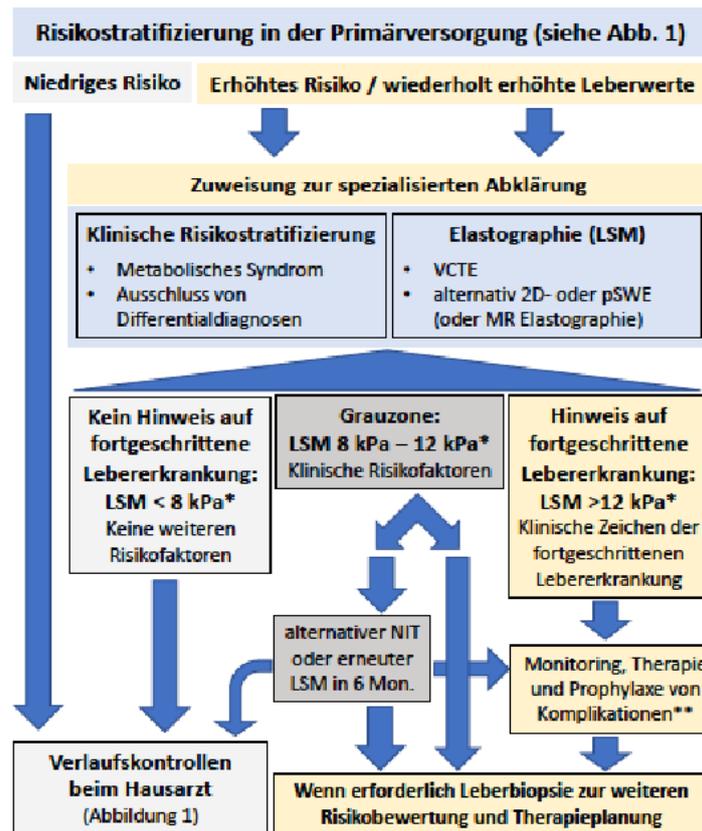


Abbildung 4: Diagnostischer Algorithmus bei NAFLD aus der S2k-Leitlinie NAFLD (51)

LSM: Leber-Steifigkeitsmessung;

VCTE: Vibration Controlled Transiente Elastography;

2D-SWE: 2D-Scherwellen-Elastographie;

pSWE: Point-Shearwave Elastography;

NIT: Nicht-Invasiver (Fibrose) Test;

*Die diagnostischen Grenzwerte beziehen sich auf die VCTE

2.6 Therapie

In den letzten Jahren sind einige Zusammenhänge im Bezug zur Pathogenese der NAFLD/NASH besser verstanden worden, dennoch gibt es derzeit keine zugelassene Therapie (3). Bei allen angewandten Therapieformen handelt es sich um so genannte off-Label Therapien. Trotzdem stehen verschiedene Therapieansätze zur Behandlung der NAFLD/NASH zur Verfügung. Im Mittelpunkt der Behandlungsmethoden steht die Lebensstilmodifikation, neben der verbesserten Einstellung der Risikofaktoren, wie beispielsweise des Diabetes mellitus, der arteriellen Hypertonie oder der Hypercholesterinämie, die auch als metabolisches Syndrom zusammengefasst werden können (53).

2.6.1 Lebensstilmodifikation

Die Lebensstilmodifikation ist ein zentraler Bestandteil der therapeutischen Möglichkeiten der NAFLD/NASH. Der Fokus der Modifikation liegt primär auf einer Ernährungsumstellung und einer Steigerung der körperlichen Betätigung im Alltag, wodurch eine Gewichtsreduktion erreicht werden sollte (3). Im Rahmen der Ernährungsumstellung sollten kalorienreduzierte Mahlzeiten, ein Alkoholverzicht, sowie eine Reduzierung des Fructosegehalts in der Nahrung angestrebt werden. Fructose befindet sich besonders in Fruchtsäften. Wie weiter oben bereits erwähnt, wird die aufgenommene Fructose weitestgehend unreguliert von der Leber aufgenommen und der De-novo-Synthese von freien Fettsäuren zugefügt (36). Diese freien Fettsäuren werden eingelagert und lösen im weiteren Verlauf einen oxidativen Stress aus, der letztendlich zur Zellschädigung führt. Außerdem sollte eine allgemeine Reduktion der Kalorienzufuhr angestrebt werden. Bei geregelten Mahlzeiten und einer ausgewogenen mediterranen Ernährung, reicht laut Studien eine tägliche Kalorienreduktion von ca. 500-1000 kcal aus, um dem Fortschritt der NAFLD/NASH entgegenzuwirken (15). Zusätzlich sollte eine moderate sportliche Betätigung angestrebt werden, um so verbesserte Ergebnisse der Gewichtsreduktion zu bekommen (15). Laut der S2k-Leitlinie NAFLD 2022 der DVGS, sollten PatientInnen mit NAFLD und einem erhöhten BMI, eine körperliche Aktivität von mindestens 150-300min/Woche aerobe körperliche Aktivität mittlerer Intensität oder 75-150min/Woche aerobe körperliche Aktivität mit starker Intensität ausführen (51). Die körperliche Betätigung reduziert die Insulinresistenz, verringert den Leberfettgehalt und modifiziert die Neusynthese freier Fettsäuren in der Leber (54). All dies wirkt einer NAFLD/NASH entgegen. Laut einer Studie führt ein Gewichtsverlust von >10% des Ausgangsgewichtes zu einer Reduktion des NAFLD-Aktivitätsscores (NAS) und bei mehr als 80% der ProbandInnen zu einer deutlichen Fibroseregression, sowie bei 100% der ProbandInnen zu einer deutlichen Verbesserung der Steatose der Leber (3, 55). Ein geringerer Gewichtsverlust von 5% scheint zumindest eine Progression der Fibrose zu verhindern (53).

Zudem sollte gänzlich auf Alkohol verzichtet werden, denn dieser schädigt die Leber neben der hochkalorischen Belastung des Alkohols mit 7 kcal bei reinem Alkohol zusätzlich. Zusammenfassend verzeichnet ein Gewichtsverlust den

wichtigsten Faktor in der Therapie der NAFLD/NASH. Je größer der Gewichtsverlust, desto besser und signifikanter sind die Veränderungen und Verbesserungen der Histologie der Leber (53).

2.6.2 Bariatrisch-chirurgische Therapie

Der Gewichtsverlust ist der wichtigste Ansatzpunkt der Therapie der NAFLD/NASH, dies hat sich bereits in einigen Studien gezeigt. Viele PatientInnen schaffen es dennoch nicht, einen ausreichenden Gewichtsverlust durch eine Lebensstilmodifikation zu erreichen oder dann das Gewicht zu halten (3, 53). In einer Studie konnten lediglich 10% der ProbandInnen die angestrebte Gewichtsreduktion erzielen (55). Die bariatrische Chirurgie stellt möglicherweise eine gute und effektive therapeutische Option dar, eine Gewichtsreduktion bei NAFLD/NASH PatientInnen zu bewirken und die dadurch erzielte Gewichtsreduktion aufrecht zu halten (56). Sie kann bei Patientinnen und Patienten ab einem BMI von $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ in Erwägung gezogen werden. Allerdings sind im Vorfeld weitere Kriterien, wie beispielsweise eine bereits bestehende Betreuung durch eine Ernährungsfachkraft, Adipositas seit mindestens 5 Jahren und die Bereitschaft zur dauerhaften Lebensstiländerung zu berücksichtigen. Diese Kriterien können im Begutachtungsfaden „Bariatrische Chirurgie (Adipositaschirurgie) bei Erwachsenen“, der vom „Medizinischen Dienst des Spitzenverbandes Bund der Krankenkassen“ veröffentlicht wurde, eingesehen werden. In einer Studie zeigte sich, dass bei 85% der Patientinnen und Patienten, die sich einer bariatrischen Chirurgie ausgesetzt haben, ein Jahr nach dem Eingriff histologisch keine NASH mehr nachweisbar war. 33% zeigten in der Leberbiopsie einen Rückgang der Fibrose (3).

2.6.3 Medikamentöse Therapie

Auch eine pharmazeutische Therapie stellt einen wichtigen Grundpfeiler in der Behandlung der NAFLD/NASH dar. Mit Hilfe der verschiedenen Medikamente können Risikofaktoren beeinflusst werden und so die Progression der NAFLD/NASH verhindert oder verlangsamt werden. Derzeit geht es bei der medikamentösen Therapie vor allem um die Prävention einer

Fettlebererkrankung und die Minimierung der Risikofaktoren. Hierbei gibt es verschiedene Ansatzpunkte, wie beispielsweise die optimale Einstellung eines Diabetes mellitus, der arteriellen Hypertonie und Hypercholesterinämie oder auch die Beeinflussung der Fettsäureaufnahme im Darm. Da die Fettlebererkrankungen einen signifikanten Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen darstellen, sollten Medikamente, die einen positiven Effekt auf kardiovaskuläre Ereignisse darstellen, bevorzugt werden (3, 11). In aktuellen Forschungen werden Medikamente erprobt, die durch verschiedene Angriffspunkte im Organismus direkten Einfluss auf die Fettlebererkrankung haben. Hier ist beispielsweise die Obeticholsäure, das Cenicriviroc und das Selosertib zu erwähnen. Bisher ist jedoch kein Medikament für die Therapie zugelassen.

2.6.3.1 Antidiabetika

Zur Behandlung des Diabetes mellitus Typ 2 stehen mittlerweile verschiedene Ansatzpunkte im Stoffwechsel zur Verfügung. Auch im Zusammenhang mit Fettlebererkrankungen wurden einige Pharmazeutika in verschiedenen Studien zu ihren Effekten auf die NAFLD/NASH untersucht.

2.6.3.1.1 Metformin

Metformin gehört zu der Gruppe der Biguanide und wird in der Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 als orales Antidiabetikum eingesetzt. Metformin hemmt die Gluconeogenese in der Leber und verzögert zusätzlich die Glucoseaufnahme im Darm. Außerdem steigert es die Insulinsensitivität und führt so zur Verbesserung der Glucoseaufnahme in die Zellen, sodass insgesamt eine blutzuckersenkende Wirkung zu verzeichnen ist (57).

In einer Studie konnte die Einnahme von Metformin bei Patientinnen und Patienten mit NAFLD/NASH eine Verbesserung der Serumaminotransferasen (AST, ALT und γ GT), sowie eine Verbesserung der Insulinresistenz erzielt werden. Eine signifikante Verbesserung des histologischen Ergebnisses der Leberbiopsie konnte jedoch nicht festgestellt werden (15).

Literaturdiskussion

2.6.3.1.2 Glitazone

Die Glitazone wirken als Agonist am nukleären Rezeptor PPAR- γ . Durch diesen Agonismus erhöhen sie die Insulinsensitivität an den Zellen und Insulin kann wieder verstärkt wirken. Dies führt zu einer verbesserten Glucoseaufnahme in die Zellen und zur Blutzuckersenkung (58). Besonders das Pioglitazon wurde in einigen Studien im Zusammenhang mit NAFLD untersucht. Hier konnte bei Patientinnen und Patienten, die eine NAFLD/NASH aufweisen, unter medikamentöser Therapie mit Pioglitazon, eine signifikante Verbesserung des histologischen NAS verzeichnet werden (59); sowohl Rosiglitazon als auch Pioglitazon führten zu einem deutlichen Rückgang der Leberfibrose (60). Somit stellen die Glitazone eine mögliche Behandlungsoption in der Therapie der NAFLD dar.

2.6.3.1.3 Liraglutid

Liraglutid ist ein Antidiabetikum aus der Gruppe der GLP1-Rezeptor- Agonisten. Über diesen Rezeptoragonismus erhöht Liraglutid die Insulinfreisetzung aus den β -Zellen des Pankreas und vermindert zusätzlich die Glukagonfreisetzung. Darüber hinaus wird die Insulinsensitivität erhöht, die Magenentleerung verzögert und somit das Sättigungsgefühl verstärkt (61). Bisher ist Liraglutid zur Behandlung des Diabetes mellitus Typ 2 und bei Adipositas zugelassen. Eine Studie zeigt eine Remission der NASH bei ProbandInnen, die mit Liraglutid behandelt wurden. Die medikamentöse Therapie bei täglicher Einmalgabe über 48 Wochen zeigte in der Studie eine Auflösung der Steatohepatitis und eine verlangsamte Progression der Fibrose (15). Allerdings sollte die geringe Fallzahl in der Studie und die starke Gewichtsreduktion durch Liraglutid als Confounder beachtet werden. Weitere Studien erscheinen sinnvoll.

2.6.3.1.4 Empagliflozin

Empagliflozin gehört zur Gruppe der SGLT2-Inhibitoren, ein Natrium-Glucose-Cotransporter, der sich im proximalen Tubulus der Niere befindet. Wird der Cotransporter gehemmt, führt dies zu einer vermehrten Ausscheidung von Natrium und Glucose über den Urin. Dieser Mechanismus geht daher sowohl mit einer blutzucker- als auch mit einer blutdrucksenkenden Wirkung einher

(62). In der so genannten E-LIFT Studie führte Empagliflozin, bei Patientinnen und Patienten mit NAFLD zu einem signifikanten Rückgang der Steatose. Außerdem zeigten sich die ALT-Werte im Serum deutlich rückläufig und auch eine starke Gewichtsreduktion konnte verzeichnet werden. Durch den blutdrucksenkenden Effekt haben die SGLT2-Inhibitoren eine zusätzliche kardioprotektive Wirkung, die auch bei NAFLD/NASH Patientinnen und Patienten positiv zu werten ist (63). Insgesamt könnten die SGLT2-Inhibitoren, auch aufgrund der guten Verträglichkeit und ausgeprägten kardioprotektiven Wirkung, einen wichtigen Angriffspunkt bei der Therapie einer NAFLD/NASH darstellen. Allerdings sollte berücksichtigt werden, dass in der dargestellten Studie der Rückgang der Steatose lediglich mit einer MRI-PDFF (magnetic resonance imaging – derives proton density fat fraction) bestimmt wurde und nicht mit dem Goldstandard Leberbiopsie. Daher liegt keine histologische Bewertung der Effekte von Empagliflozin vor.

2.6.3.2 Vitamin-E

Das Vitamin-E hat eine antioxidative Wirkung. In dem Pathomechanismus der NAFLD/NASH spielt, wie weiter oben erwähnt, der oxidative Stress der Zellen eine primäre Rolle. In einer Studie wurden ProbandInnen mit NAFLD mit Vitamin-E 800 I.U./ über 96 Wochen behandelt. Hierbei zeigte sich eine deutliche Verbesserung der Leberhistologie, beurteilt am NAS. Sowohl bei der Steatose als auch bei der Entzündungsaktivität und dem Ballooning konnten signifikante Rückgänge diagnostiziert werden. Außerdem waren die laborchemisch bestimmten Parameter der Aminotransferasen beim Erwachsenen unter der Therapie rückläufig (3). Allerdings zeigte sich in den Studien unter der Vitamin-E Substitution ein erhöhtes Risiko für Prostatakrebs und hämorrhagische Schlaganfälle (3, 64, 65), weshalb bei der Behandlung der NAFLD mit Vitamin-E die Risiko-Nutzen-Analyse besondere Beachtung finden sollte.

2.6.3.3 Statine

Die Statine, oder auch HMG-CoA-Reduktasehemmer werden zur Behandlung der Hypercholesterinämie eingesetzt. Sie senken das kardiovaskuläre Risiko bei Hochrisikopatienten, unter die auch die Patientinnen und Patienten mit

einer NAFLD/NASH fallen. In Studien konnte eine präventive Wirkung auf die Fibrose der Leber und auf die Entwicklung eines HCC festgestellt werden (3). Insgesamt reduzieren die Statine den Risikofaktor der Hypercholesterinämie, welcher sowohl ein Risiko für die Entwicklung einer NAFLD als auch für kardiovaskuläre Erkrankungen darstellt (51). Statine können in Kombination mit anderen therapeutischen Optionen eine wichtige Stellung in der Behandlung und Prävention einer NAFLD einnehmen und sind bereits in die Leitlinie der NAFLD mit aufgenommen.

2.7 Prognose

Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung ist insgesamt eine langsam fortschreitende Erkrankung. Die Prognose des Einzelnen ist sehr individuell (66). Insgesamt entwickeln etwa 20% der PatientInnen, die an einer NAFLD erkrankt sind, eine NASH (3), bei etwa 20% der NASH-PatientInnen geht diese in ein höhergradiges Fibroestadium über, <5% entwickeln im Verlauf eine Leberzirrhose (3, 67). Die fettleberbedingte Leberzirrhose begünstigt die Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms (HCC), denn das Risiko zur Ausbildung eines HCCs auf Grundlage einer NASH ist gegenüber der Normalbevölkerung 12-fach erhöht und ist auch bereits bei nicht zirrhotischen NAFLD-Erkrankten angehoben (3, 12). Jährlich entwickeln etwa 2% der Patienten mit NASH auf Grundlage einer Leberzirrhose im Verlauf ein HCC (18). Doch nicht nur die Progression der Erkrankung ist ein wichtiger Faktor. In Studien konnte eine erhöhte allgemeine Sterblichkeit bei PatientInnen mit NAFLD festgestellt werden (68). Zudem konnte neben einer erhöhten leberspezifischen Sterblichkeit ein deutlicher Zusammenhang zwischen NAFLD und kardiovaskulären Erkrankungen, vor allem mit der koronaren Herzerkrankung beobachtet werden (3). Hier sollten allerdings die Risikofaktoren, die eine NAFLD begünstigen, berücksichtigt werden, denn allein ein Diabetes mellitus, eine arterielle Hypertonie oder die Hypertriglyceridämie stellen ein erhebliches kardiovaskuläres Risiko dar (19). Somit liegt nahe, dass auch eine NAFLD, welche auch als hepatische Komponente des metabolischen Syndroms beschrieben wird, ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen zeigt. Zur Prognoseabschätzung der NAFLD ist das Vorhandensein einer Leberfibrose besonders relevant, denn das

Literaturdiskussion

Fibrosestadium ist ein entscheidender Faktor zur Einschätzung der leberspezifischen Mortalität (66). Je weiter fortgeschritten die Fibrose ist, desto höher ist die allgemeine Sterblichkeit der Erkrankten. In den Fibrosestadien F0-2 zeigte sich eine Sterblichkeit von 0,32 pro 100 Personen pro Jahr, über 0,89 pro 100 Personen pro Jahr bei F3 und 1,76 Todesfälle pro 100 Personen pro Jahr im Stadium F4 (68). Zudem bestätigte sich der Zusammenhang der Fibrosestadien und der leberspezifischen Sterblichkeit. Je höher der Fibrosegrad, desto höher zeigte sich die spezifische Sterblichkeit (68).

Auf Grundlage dieser Erkenntnisse sollte ein Fortschreiten der NAFLD möglichst frühzeitig verhindert werden, denn so ist es möglich, das erhöhte Sterblichkeitsrisiko zu senken. Prinzipiell ist eine Fettlebererkrankung reversibel und ein Fortschreiten oder sogar eine Regression der Erkrankung könnte durch therapeutische Maßnahmen erreicht werden. Besonders eine Reduktion des Fibrosegrades scheint den größten klinischen Nutzen für PatientInnen mit NASH zu zeigen (69).

3 Material und Methoden

3.1 PatientInnen

3.1.1 Rekrutierung

In der Studie wurden 49 PatientInnen der Leberambulanz der I. Medizinischen Klinik der Universitätsmedizin Mainz, die im Zeitraum zwischen Mai 2019 und April 2021 im Rahmen ihrer Sprechstundentermine in der Leberambulanz rekrutiert wurden, aufgenommen. Bei diesen PatientInnen sollte bei dringendem Verdacht auf eine Lebersteatose mit oder ohne Fibrose oder sogar Zirrhose, zur Einstufung des Erkrankungsfortschritts, sowie zur weiteren Therapieplanung elektiv eine Leberstanzbiopsie erfolgen. Durch die stationäre Aufnahme zur Biopsie konnte neben einem einheitlichen Untersuchungsablauf auch das Einhalten der notwendigen Nüchtern-Periode von mindestens 6 Stunden sichergestellt werden.

3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Als Ein- bzw. Ausschlusskriterien wurden folgende Punkte festgelegt:

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien des Kollektivs

PatientInnen	
Einschlusskriterien	<ul style="list-style-type: none">• Alter 18-80• Diagnose einer NAFLD/NASH in der Leberbiopsie nach Kriterien des SAF/Flip-Scores• Einwilligung in die Studienteilnahme• Anamnestisch ausgeschlossener signifikanter Alkoholkonsum, sowie andere Ursachen, die die Steatose oder Fibrose begründen könnten (siehe Definition der NAFLD/NASH)
Ausschlusskriterien	<ul style="list-style-type: none">• Fehlende Einwilligungsfähigkeit• Anamnestisch signifikanter Alkoholkonsum in der Vergangenheit• Schwangerschaft zum Untersuchungszeitpunkt• Schwere akute Gesundheitsstörungen, die eine Messung mittels ¹³C-Methacetin Atemtest unmöglich machen• Nicht Nüchternheit

- | | |
|--|--|
| | <ul style="list-style-type: none">• Anderweitige Ursache der Steatose/Fibrose/Zirrhose der Leber |
|--|--|

3.2.1 Anwendung der Kriterien

Auf Grundlage dieser Kriterien mussten insgesamt sieben PatientInnen aus der Studie ausgeschlossen werden. Hierbei handelt es sich um PatientInnen, bei denen in der Leberbiopsie nach histologischen Kriterien keine NAFLD/NASH nachgewiesen werden konnte (n=2), bei denen das histologische Ergebnis nicht eindeutig war (n=2) oder bei denen die LiMAX-Messung aus verschiedenen Gründen abgebrochen werden musste (n=3). Abbruchgründe waren technische Fehlermeldungen am Messgerät (n=1), Paravasatbildung bei der intravenösen Methacetinjektion (n=1) oder compliancebedingte Abbruchgründe (n=1). Für die ausgeschlossenen PatientInnen wurden keine neuen PatientInnen in die Studie aufgenommen, sodass schließlich 42 auswertbare Ergebnisse mit in die Studie einfließen konnten.

3.3 Studienbeschreibung

3.3.1 Aufklärung und Einwilligung

Alle PatientInnen wurden zunächst über die Ziele der Studie, die Freiwilligkeit der Teilnahme, die Untersuchung, die Risiken der Studienteilnahme, die Möglichkeit des Widerrufs der Einwilligung sowie den Datenschutz und die Pseudonymisierung der Daten aufgeklärt und konnten dann in die Studienteilnahme einwilligen. Ein positives Ethikvotum zur Durchführung der Studie lag von Seiten der Ethikkommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz vor. Die Untersuchungen wurden nur nach schriftlicher Einwilligung der PatientInnen bzw. KontrollprobandInnen durchgeführt.

3.3.2 Untersuchungsablauf

Im Anschluss an die Aufklärung und Einwilligung führten wir eine strukturierte Anamnese mit Hilfe eines Anamnesebogens durch. Die ProbandInnen wurden zu folgenden Einflussgrößen befragt:

- Körpermaßangaben (Körpergröße, Gewicht, Taillenweite)
- Vorerkrankungen (z.B. Diabetes mellitus Typ II, arterielle Hypertonie)

Material und Methoden

- Ernährungsgewohnheiten
- Regelmäßige Medikamenteneinnahme
- Genussmittelkonsum wie Alkohol und Rauchen
- Sportgewohnheiten

Hierbei stand vor allem die Alkoholanamnese, zur Differenzierung einer ASH von einer NASH, im Mittelpunkt. Zudem wurden auf diese Weise Informationen über mögliche anderweitige Ursachen einer Fettlebererkrankung erschlossen. Weitere Informationen zu Vordiagnosen oder Voruntersuchungen wurden aus Angaben in Arztbriefen, sowie dem klinikinternen Patientenorganisationsprogramm entnommen. Nach der Anamnese und erfolgter Einwilligung erfolgte am Tag nach der Leberbiopsie zunächst eine venöse Blutentnahme im nüchternen Zustand und anschließend die Messung der Leberfunktion mittels LiMAX-Tests (Humedics, Berlin, Germany). Zudem wurde von uns der Taillenumfang der PatientInnen mit Hilfe eines Maßbandes vermessen. Aus den Parametern der Körpergröße und des Körpergewichts berechneten wir den BMI.

$$BMI = \frac{\text{Körpergewicht (kg)}}{\text{Körpergröße (m)}^2}$$

Die Bewertung des histologischen Ergebnisses der Leberbiopsie erfolgte durch die Pathologie der Universitätsmedizin Mainz.

3.3.3 Laborparameter

Aus den am Untersuchungstermin gewonnenen Blutproben wurden bei allen Teilnehmern im Zentrallabor der Universitätsmedizin Mainz, die in Tabelle 2 aufgeführten Werte bestimmt.

Parameter	Bedeutung
Albumin	Abschätzung der Leberfunktion
Quick, INR	Abschätzung der Leberfunktion
Thrombozyten	Abschätzung der Leberfunktion, notwendiger Parameter der Laborscores

Material und Methoden

ALT, AST, GGT, Bilirubin	Abschätzung der Leberfunktion, notwendige Parameter der Laborscores
Gesamtcholesterin, HDL, LDL, Triglyceride	Beurteilung der Dyslipidämie, Parameter zur Definition des metabolischen Syndroms

Tabelle 2: Laborparameter, die bei allen StudienteilnehmerInnen bestimmt wurden

Auf Grundlage der Laborparameter konnten wir den APRI-Score, den Fib-4, sowie den NAFLD-Fibrose Score berechnen.

3.3.4 Auswertung

Die Ergebnisse des LiMAx-Tests sowie die Anamneseerhebung wurden auf den Datenblättern dokumentiert, histologische Ergebnisse zusammengefasst, Laborwerte erhoben und insgesamt in Form einer Microsoft Excel-Tabelle pseudonymisiert und digitalisiert. Zur Einteilung der histologischen Ergebnisse im SAF-Score wurde der Flip-Algorithmus angewandt. Anhand dessen konnten wir die PatientInnen in die klinischen Gruppen: Gesund, NAFLD, NASH und Leberzirrhose einteilen.

Mittels BMI wurde von uns der Adipositasgrad bestimmt.

Hierbei wurden folgende Grenzwerte festgelegt:

- Grad I: BMI 30-34,9 kg/m²
- Grad II: BMI 35-39,9 kg/m²
- Grad III: BMI 40-44,9 kg/m²
- Grad IV: BMI >45 kg/m²

Im Rahmen der Digitalisierung der Ergebnisse fand eine Pseudonymisierung der personenbezogenen Daten statt, in dem jedem Patient eine LN-Nummer zugeordnet wurde. Die Entschlüsselung der Daten kann nur mit Hilfe der Datenblätter oder der digitalen Zuordnungsliste erfolgen. Beides verblieb nach Abschluss der Studie bei dem Studienleiter Herr Prof. Dr. J. Schattenberg.

3.4 Methoden

3.4.1 Messung der Leberfunktion

Die Leberfunktion kann durch verschiedene Methoden bestimmt werden. Neben den bekannten Laborparametern, wie beispielsweise die ALT oder AST oder die Thrombozytenzahl, die Gerinnung oder Albumin im Blut wurde der sogenannte LiMAx-Test, ein ^{13}C -Methacetin Atemtest, in unserer Studie angewandt.

3.4.1.1 LiMAx-Test

Der LiMAx[®]-Test (Humedics, Berlin, Germany) ist eine nicht-invasive Methode der Bestimmung der maximalen Leberfunktionskapazität. Bei diesem Test handelt es sich um einen Atemtest, dessen Ergebnisse mit der metabolischen Leistungsfähigkeit der Leber in Korrelation stehen. Zunächst wird intravenös eine ^{13}C -Methacetin-Lösung verabreicht, welche dann in der Leber über den leberspezifischen Cytochrom-P450 1A2-Metabolismus zu Acetaminophen (Paracetamol) und $^{13}\text{CO}_2$ verstoffwechselt wird (70, 71). Das $^{13}\text{CO}_2$ wird über das venöse System zur Lunge transportiert und dort über die Atemluft ausgeschieden. Über eine Nasen-Mund-Atemmaske und die FLIP[®]-Detektionseinheit im Messgerät, welche mittels nichtdispersiver isotopenselektiver Infrarotspektroskopie (NDIRS) kontinuierlich das $^{13}\text{CO}_2$ in der Atemluft erfassen kann, wird dann die maximale Veränderung des $^{13}\text{CO}_2$ / $^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses im Vergleich zur Ausgangslage ermittelt. Der LiMAx-Test gibt somit die maximal mögliche Umsatzrate des CYP1A2-Enzyms wieder, welche repräsentativ für die aktuelle Gesamtleberfunktion gelten kann. Je höher die Stoffwechselleistung der Leber ist, desto höher ist auch der Anteil des $^{13}\text{CO}_2$ in der expiratorischen Luft.

Material und Methoden

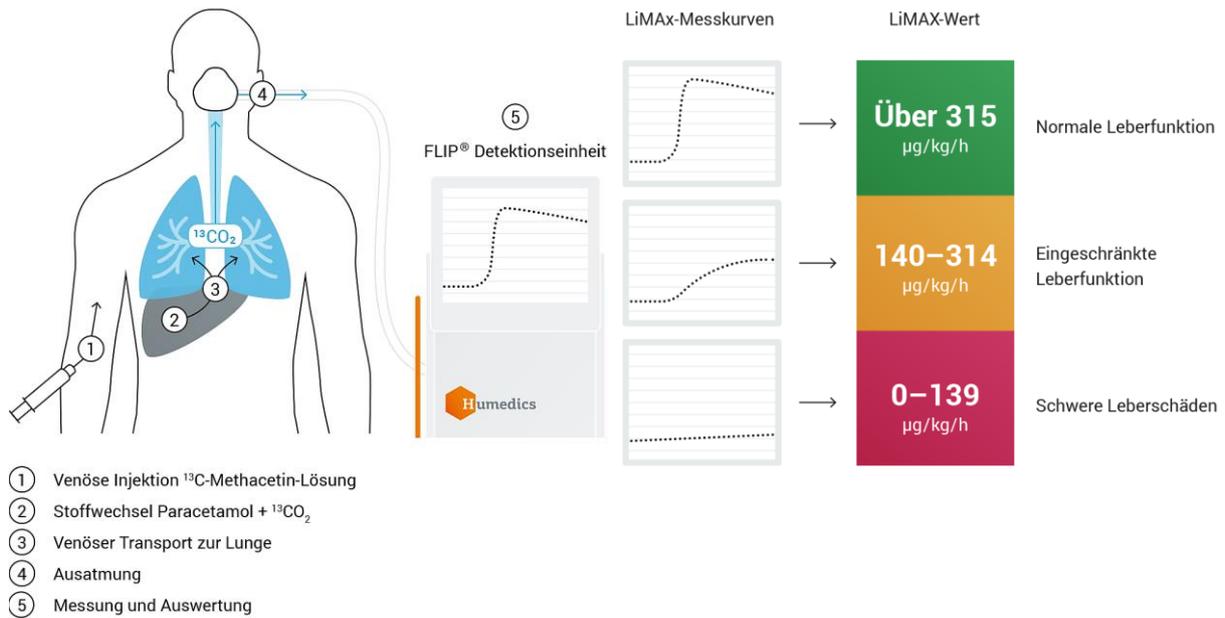


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Durchführung des LiMAX-Tests sowie Angabe der Referenzwerte (Quelle der Abbildung: Humedics, „Warum LiMAX“ <https://www.humedics.eu/de/warum-limax.html> 11/2021)

Abbildung 6: LiMAX- Messkurven mit Normwertebereichen der Leberfunktion (Quelle der Abbildung: Humedics, "Warum LiMAX", <https://www.humedics.eu/de/warum-limax.html>)

3.4.1.2 Durchführung der Messung

Zur Vorbereitung der PatientInnen auf den LiMAX-Test ist es wichtig, dass diese eine mindestens dreistündige Nahrungskarenz und eine ebenso lange Rauchabstinenzzeit einhalten, denn eine vorherige Nahrungsaufnahme oder auch das Rauchen beeinflussen das Messergebnis signifikant. Rauchen führt zu einer Induktion des CYP1A2 Metabolismus, die Grundlage des LiMAX-Tests (72). Zu Beginn des Tests bekommt der Patient/die Patientin eine Atemmaske aufgesetzt, die Mund und Nase umschließt. Diese Maske ist über einen Schlauch am Gerät angeschlossen. Sie beinhaltet ein Ventil, welches die Ein- von der Ausatemluft trennt, um sicherzustellen, dass die gesamte Ausatemluft zum Messgerät geleitet wird. Anschließend wird der Test gestartet und zunächst eine Baseline-Messung durchgeführt. Hier wird das individuelle Verhältnis von $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ in der expiratorischen Luft vor Applikation der Testsubstanz gemessen. Anhand der Größe und des Gewichts der PatientInnen (2mg/kg Körpergewicht) wird die jeweilig zu verabreichende Menge ^{13}C -Methacethin-Injektionslösung mit einer Konzentration von 4mg/ml vom Gerät berechnet und angegeben. Diese wird dann in einer Perfusorspritze

Material und Methoden

vorbereitet. Sobald die Messung der Baseline abgeschlossen ist, kann die intravenöse Injektion des Methacetins im Bolus über maximal 60 Sekunden erfolgen. Nach der Bolus-Injektion erfolgt eine Spülung der Venenverweilkanüle mit 20ml Natriumchloridlösung 0,9%. Schließlich steigt das Verhältnis von $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ in der Ausatemluft, welches kontinuierlich von der FLIP-Detektionseinheit erfasst wird, entsprechend an. Dieses Verhältnis wird vom Gerät in einem Punktediagramm dargestellt. Die Messung erfolgt kontinuierlich über maximal 60 Minuten. Nach Bestimmung der maximalen Veränderung des $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses im Vergleich zum Basalwert am Ende der Messung, wird der LiMAX-Wert berechnet und ausgegeben. Das Maximum, gemessen in $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ stellt die maximale Kapazität des Umsatzes des ^{13}C -Methacetin über den CYP1A2 Metabolismus in der Leber dar und kann somit als globale Leberfunktionskapazität gedeutet werden (73).

$$\text{LiMAX} [\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}] = \frac{\text{DOBmax} \times \text{PDBr} \times P \times M}{\text{KG}}$$

Abbildung 7 (73) : Formel zur Berechnung des LiMAX-Werts

DOBmax= maximaler delta over baseline Wert

PDBr= Pee Dee Belemnite standard $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Ratio ratio: 1,1237%

P= CO₂-Produktionsrate (mmol/h), (300mmol/h//m²x Körperoberfläche m²)

M= Molare Masse von ^{13}C -Methacetin (g/mol)

KG= Körpergewicht (kg)

3.4.1.3 Referenzwerte

Die Referenzwerte der LiMAX-Messung werden durch die Firma Humedics vorgegeben und wurden von uns übernommen. Diese wurden in einer Kohorte von 86 lebergesunden ProbandInnen ermittelt. Hierbei besteht ab einem LiMAX-Wert von $>315\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ eine normale Leberleistung (74). Bei einem Wert zwischen $314-140\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ist die Leberleistung als eingeschränkt zu bewerten. Werte $<140\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ lassen auf eine schwere Leberschädigung schließen.

3.4.2 Histologische Bewertung der Leberbiopsie

Die histologische Aufarbeitung erfolgte durch die Pathologie der Universitätsmedizin Mainz. Die Leberbiopsie wurde nach Kriterien des SAF-Scores und des NAS-Scores beurteilt, zudem wurde der FLIP-Algorithmus angewandt, sodass anhand dieser Kriterien die Erkrankungsaktivität (Keine,

Material und Methoden

NAFLD, NASH, Zirrhose) bestimmt werden konnte. Diese Scores wurden in dieser Arbeit bereits in der Literatordiskussion aufgegriffen und ausführlich erörtert. Das histologische Ergebnis erfassten wir über das klinikinterne Patientenorganisationssystem.

3.4.2.1 Definition der Erkrankungsaktivität

Die Erkrankungsaktivität bei NAFLD wird anhand der histologischen Ergebnisse bewertet. Hier werden die Einzelfaktoren des SAF-Scores (Steatose, Aktivität und Fibrose) als auch der Gesamtscore des NAS ermittelt. Unter Anwendung des FLIP-Algorithmus wird die Erkrankungsaktivität in die Kategorien: Gesund, NAFLD, NASH und Leberzirrhose eingeteilt.

3.4.3 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse erfolgte in Zusammenarbeit mit dem IMBEI der Universität Mainz. Die erhobenen Daten wurden mittels Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) digitalisiert. Für die statistische Auswertung wurde SPSS 27.0 (IBM, Armonk, USA) verwendet.

Die Daten wurden zunächst deskriptiv ausgewertet. Für stetige Merkmale wurden Mittelwert und Standardabweichung berechnet. Die Darstellung kategorialer Merkmale erfolgte mit absoluten und relativen Häufigkeiten.

Eine Normalverteilung von Daten wurde mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Test beurteilt, wobei für $p > 0,05$ eine Normalverteilung angenommen wurde. Sowohl für die LiMax-Messwerte als auch für das Alter der PatientInnen und auch für den BMI wurde eine Normalverteilung angenommen.

Die Werte aller Größen wurden so gerundet, wie sie im klinischen Alltag standardmäßig angegeben werden, beispielsweise der Blutdruck, das Alter und der LiMax-Messwert ohne Nachkommastelle oder Laborparameter und Scores auf zwei Nachkommastellen gerundet. Korrelationskoeffizienten wurden ebenfalls auf drei Nachkommastellen gerundet. Darüber hinaus wurden verschiedene stetige Merkmale in kategoriale Merkmale zusammengefasst, beispielsweise wurde der berechnete BMI in die Grade der Adipositas aufgeteilt. Das Vorhandensein eines metabolischen Syndroms wurde in die Kategorien ja=1 und nein=0 aufgeteilt. Ebenso kategorisierten wir die Laborscores mit den jeweiligen Grenzen in Gruppen.

Material und Methoden

Für die Untersuchung von Zusammenhängen zweier Variablen wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman verwendet.

Der Spearman Korrelationskoeffizient berechnet Zusammenhänge zwischen Variablen, die zuvor in Ränge sortiert wurden, also sowohl kardinal- als auch ordinalskalierte Datensätze verarbeiten kann. Darüber hinaus ist dieser Korrelationskoeffizient nicht anfällig für Ausreißer. Da in unserer Datenreihe die Variablen zunächst in Kategorien sortiert wurden, beispielsweise nach Fibrosestadien oder klinischen Stadien der Erkrankung und zusätzlich einige Ausreißer in der Datenreihe eingeschlossen sind, verwendeten wir in der Auswertung den Spearman Korrelationskoeffizient.

Es wurden Zusammenhänge zwischen der Leberfunktionskapazität und den Einzelfaktoren des SAF-Scores, sowie zwischen Leberfunktionskapazität und dem klinischen Erkrankungsstadium und zwischen Leberfunktionskapazität und Laborscores bewertet. Dabei wurde die Leberfunktionskapazität durch den LiMax-Test bestimmt. Das klinische Erkrankungsstadium wurde auf Grundlage des SAF-Scores und Anwendung des FLIP-Algorithmus ermittelt.

Eine signifikante Korrelation lag bei einem zweiseitigen $p < 0,05$ für die jeweilige Korrelation vor.

Zusätzlich wurde eine standardisierte multiple lineare Regression durchgeführt, die die Einzelkomponenten des SAF-Scores beinhaltet, um die partielle Korrelation der Covariablen zu bewerten und die höchste Korrelation ausfindig zu machen.

Zur Validierung des LiMax-Tests und der Bestimmung der Sensitivität und Spezifität bei verschiedenen Cut-off-Werten wurde bei binärer Antwortvariable (Fibrosestadium F0-2 und F3-4) eine Grenzwertoptimierungskurve (ROC-Kurve) eingesetzt. Zusätzlich wurde der Youden-Index zur Beurteilung des optimalen Schwellenwertes bestimmt.

Ergebnisse

4 Ergebnisse

4.1 Darstellung der Kollektive

4.1.1 Übersicht

Die Tabelle 3 zeigt die Eigenschaften des Gesamtkollektivs der PatientInnen bezüglich der von uns untersuchten Variablen.

Tabelle 3: Klinische und demographische Eigenschaften des untersuchten Kollektivs: Angaben stetiger Größen als Mittelwert mit \pm SD, kategoriale Größen als Anzahl (relativer Anteil %)

Klinische und demographische Eigenschaften des untersuchten Kollektivs (n=42)	
Alter [Jahre] (SD)	56 (10,98)
Geschlecht (%)	
<i>Männlich</i>	24 (57,1%)
<i>Weiblich</i>	18 (42,9%)
<i>Divers</i>	0
BMI [kg/m²] (SD)	34,24 (5,42)
<i>Adipositas Grad I</i>	6 (14,3%)
<i>Adipositas Grad II</i>	19 (45,2%)
<i>Adipositas Grad III</i>	10 (23,8%)
<i>Adipositas Grad IV</i>	6 (14,3%)
Komorbiditäten (%)	
<i>Diabetes mellitus Typ II</i>	26 (61,9%)
<i>Hypertonie</i>	33 (78,6%)
<i>Dyslipidämie</i>	26 (61,9%)
<i>Metabolisches Syndrom</i>	33 (78,6%)
MELD-Score (%)	
<6	17 (40,47%)
6-14	25 (59,52%)
>14	0
LiMAX-Messwerte [µg/kg/h] (SD)	315 (106,96)
<i>Minimum</i>	110
<i>Maximum</i>	541
<i>normale Leberleistung >315</i>	21 (50,00%)
<i>eingeschränkte Leberfunktion 314-140</i>	18 (42,86%)
<i>schwere Leberschäden <140</i>	3 (7,14%)
Histologische Befunde	
Klinisches Stadium (nach SAF und Flip-Algorithmus)	
<i>Stadium 0 = keine Veränderungen</i>	1 (2,4%)
<i>Stadium 1 = NAFLD</i>	22 (52,4%)
<i>Stadium 2 = NASH</i>	11 (26,2%)

Ergebnisse

Stadium 3 = Zirrhose	8 (19%)
NAFLD activity Score [NAS]	
NAS 0-2	6 (14,29%)
NAS 3-4	21 (50%)
NAS 5-8	15 (35,71%)
SAF Score	
S - Steatose	
0	1 (2,4%)
1	15 (35,7%)
2	22 (52,4%)
3	4 (9,5%)
A - Activity	
0	4 (9,5%)
1	4 (9,5%)
2	18 (42,9%)
3	14 (33,3%)
4	2 (4,8%)
F – Fibrosegrad	
0	1 (2,4%)
1a/b/c	7 (16,7%)
2	14 (33,3%)
3	11 (26,2%)
4	9 (21,4%)
Laborscores	
APRI-Score	
<0,5 Fibrose unwahrscheinlich	10 (23,8%)
0,5-1 Zirrhose unwahrscheinlich	24 (57,1%)
1-1,5 keine zuverlässige Aussage	6 (14,3%)
1,5-2 signifikante Fibrose	2 (4,8%)
>2 Zirrhose	0
NAFLD-fibrosis Score	
<-1,455 keine Fibrose (F0-2)	11 (26,2%)
-1,455-0,675 keine zuverlässige Aussage	19 (45,2%)
>0,675 signifikante Fibrose (F3-4)	12 (28,6%)
Fib-4	
<1,45 keine Fibrose	10 (23,8%)
1,45-3,25 keine zuverlässige Aussage	23 (54,8%)
>3,25 fortgeschrittene Fibrose	9 (21,4%)

4.1.1.1 Alter und Geschlecht

Das analysierte Patientenkollektiv wies einen Altersdurchschnitt von 56 Jahren auf. Der jüngste Proband befand sich im Alter von 27 Jahren, wobei der Älteste

Ergebnisse

75 Jahre alt war. Insgesamt wurden im Kollektiv 24 männliche sowie 18 weibliche ProbandInnen eingeschlossen.

4.1.1.2 Komorbiditäten und Risikofaktoren

Im Hinblick auf die Komorbiditäten und Risikofaktoren einer NAFLD wurden besonders die arterielle Hypertonie, der Diabetes mellitus Typ II sowie die Adipositas, als Risikofaktoren einer NAFLD näher fokussiert. Im untersuchten Patientenkollektiv wurde bei 61,9% (n=26) ein Diabetes mellitus Typ II, bei 78,6% (n=33) eine arterielle Hypertonie und bei 97,6% (n=41) anhand des BMIs eine Adipositas festgestellt. Von diesen konnten 45,2% (n=19) dem Adipositas Grad II und >38% (n=16) dem Adipositas Grad III oder IV zugeteilt werden. Zudem wiesen insgesamt 61,9% (n=26) der untersuchten ProbandInnen eine Dyslipidämie auf, definiert durch bereits vorhandenes Statin in der Medikation oder Hypercholesterinämie oder Hypertriglyceridämie im klinischen Labor. Insgesamt wurde bei 78,6% (n=33) der Teilnehmenden ein metabolisches Syndrom diagnostiziert.

4.1.1.3 Klinisches Stadium nach SAF und FLIP-Algorithmus

In der Bewertung der histologischen Befunde der Leberbiopsie nach SAF und Flip erwiesen 19% (n=8) der PatientInnen eine Leberzirrhose, 26,2% (n=11) hatten eine NASH, 52,4% (n=22) eine NAFLD und bei 2,4% (n=1) der Teilnehmenden konnten keine Veränderungen der Leber festgestellt werden.

4.1.1.4 LiMAx-Messwerte

Der LiMAx-Messwert lag im Mittelwert bei 315 µg/kg/h, der Median bei 323 µg/kg/h. Die Spannweite der Messwerte reichte bei einem Minimum von 110 µg/kg/h bis zum maximalen Messwert von 541 µg/kg/h bei einer Standardabweichung von ±106,96 µg/h/kg.

Die Beurteilung der Leberfunktion erfolgte auf Grundlage der Grenzwertangaben des Herstellers „Humedics“ (73). Insgesamt zeigten 50% (n=21) der ProbandInnen eine normale Leberfunktion mit einer Leistung von >315 µg/kg/h. Bei 42,86% (n=18) wurden Messwerte bestimmt, die für eine eingeschränkte Leberfunktion sprechen und lediglich bei 7,14% (n=3) lagen

Ergebnisse

Hinweise für eine schwere Leberschädigung mit Messwerten von $<140 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ vor.

4.1.1.5 Histologische Bewertung

In der histologischen Bewertung anhand des NAFLD activity scores konnten 14,29% (n=6) dem NAS Stadium 0-2 zugeordnet werden. Im Stadium 0-2 kann keine NASH histologisch diagnostiziert werden. Im Graubereich, der das NAS Stadium 3-4 umfasst und keine genaue Aussage über das Vorliegen einer NASH getroffen werden kann, befanden sich 50% (n=21) der PatientInnen, wohingegen 35,71% (n=15) dem Stadium NAS 5-8 zugeordnet werden konnten und eine NASH hier histologisch somit bewiesen wurde. Allerdings, wie bereits oben erwähnt, wird im NAS Score die Fibrose im Gegensatz zum SAF Score gesondert bewertet. Demnach steht in unserer Analyse der SAF-Score im Vordergrund, sodass eine genauere Einzelanalyse der Parameter als Einflussfaktoren auf die Leberfunktionskapazität ermöglicht wird. Der SAF-Score setzt sich aus drei einzelnen Bewertungskriterien zusammen, dem Steatosegrad, dem Aktivitätsgrad und dem Fibrosestadium. In der Kategorie Steatose befanden sich nach histologischer Beurteilung 35,7% (n=15) in Stadium 1 und 52,4% (n=22) unserer ProbandInnen im Stadium 2. 9,5% (n=4) der teilnehmenden ProbandInnen konnten dem Stadium 3 zugeordnet werden. Bei 2,4% (n=1) konnten keine Auffälligkeiten im Hinblick auf eine Steatose festgestellt werden. Die „Activity“ unterteilt sich in 4 Stadien. Dem Stadium 2 und 3 konnten die meisten ProbandInnen, mit 42,9% (n=18) und 33,3% (n=14), eingeordnet werden. Jeweils 9,5% (n=4) wurden im Stadium 0 und 1 eingeteilt und 4,8% (n=2) im Stadium 4, welches auf eine deutlich fortgeschrittene entzündliche Aktivität hinweist. Im Stadium des Fibrosegrades, welcher von Stadium 0-4 aufgeteilt wird, konnte bei einem ProbandInnen keine Fibrose festgestellt werden. 16,7% (n=7) der ProbandInnen befanden sich im Stadium 1, wohingegen bei 33,3% (n=14) bereits eine fortgeschrittene Fibrose mit portaler und zentraler Fibrose (Stadium 2) in der Leber nachweisbar war. 26,2% (n=11) der PatientInnen konnten dem Stadium 3 zugeordnet werden. Eine Zirrhose, also Stadium 4 konnte bei insgesamt 21,4% (n=9) der ProbandInnen diagnostiziert werden.

Ergebnisse

4.1.1.6 Laborscores

Anhand des APRI-Scores wurde kein Patient dem Stadium „Zirrhose“ zugeteilt. 4,8% (n=2) konnten nach APRI-Score mit einer signifikanten Fibrose beurteilt werden. Sowohl im NAFLD-fibrosis Score (n=12) als auch im FIB-4 (n=9) erwiesen >20% der Teilnehmenden eine signifikante bzw. fortgeschrittene Fibrose.

4.2 Korrelationen der Krankheitsaktivität mit der Leberfunktionskapazität

4.2.1 Korrelation zwischen Fibrorestadium nach SAF und der Leberfunktionskapazität

Die bivariate Analyse nach Spearman zeigte eine signifikante Assoziation des Fibrorestadiums, histologisch bewertet als Einzelfaktor des SAF-Scores, mit der Leberfunktionskapazität gemessen mittels LiMAx. Der Spearman-Korrelationskoeffizient belief sich auf $\rho=-0,485$ bei $p\text{-Wert}=0,001$ (n=42, $p<0,05$).

		LiMAx	Fibrose
Spearman-Rho	LiMAx	Korrelationskoeffizient	1,000
		Sig. (2-seitig)	.
		N	42
	Fibrose	Korrelationskoeffizient	-,485**
		Sig. (2-seitig)	,001
		N	42

** . Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

Tabelle 4: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAx-Messwerten und Fibrorestadium des SAF-Scores

Ergebnisse

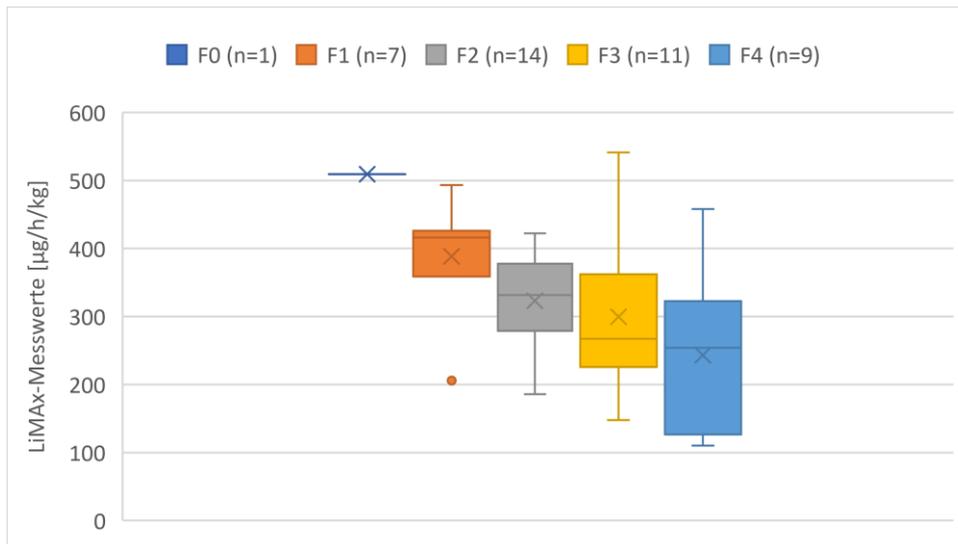


Abbildung 8: Grafische Darstellung der Verteilung der LiMAX-Messwerte in $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ zu den Fibrosegruppen des SAF-Scores F0-4

Die Spannweite der Messwerte beträgt im Fibrorestadium F0 bei nur einem Messwert von $509 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$. Im Stadium F1 wurden Messwerte von $206\text{-}493 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ bei einem Mittelwert von $388 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ mit einer Standardabweichung von $\pm 83,05 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ und Median von $416 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ erreicht. Das Stadium F2 umfasste Messwerte von $186\text{-}422 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ bei einem Mittelwert von $323 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ (Standardabweichung $\pm 69,80 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$) und einem Median von $332 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$. Im Stadium F3 wurden Messwerte von $148\text{-}541 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ erhoben. Der Mittelwert betrug hier $300 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ (Standardabweichung $\pm 71,72 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$) und der Median $267 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$. Das Stadium F4 umfasste LiMAX-Messwerte von $110\text{-}458 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ mit einem Mittelwert von $243 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ (Standardabweichung $\pm 116,81 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$) und einem Median von $254 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$.

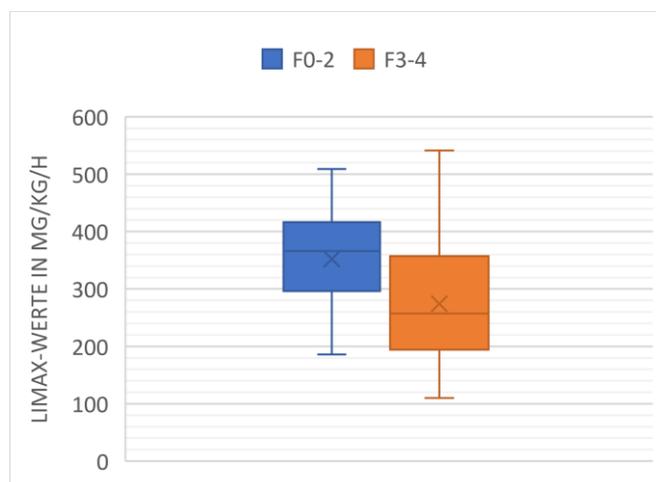


Abbildung 9: Grafische Darstellung der Verteilung der LiMAX-Messwerte in $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ zu den Fibrosegruppen des SAF Scores, aufgeteilt in binäre Kategorien: F0-2 leichte Fibrose und F3-4 fortgeschrittene Fibrose

Ergebnisse

4.2.2 Korrelation zwischen „Activity“ nach SAF und der Leberfunktionskapazität

Der Spearman-Korrelationskoeffizient zwischen dem Aktivitätsstadium des SAF und der gemessenen Leberfunktionskapazität, gemessen mittels LiMAx belief sich auf $\rho = -0,153$ p-Wert=0,332 (n=42, $p > 0,05$). Insgesamt zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen der histologisch bewerteten entzündlichen Aktivität in der Leber und der Leberfunktionskapazität.

		LiMAx	Activity
Spearman-Rho	LiMAx	Korrelationskoeffizient	1,000
		Sig. (2-seitig)	.
		N	42
Activity	Activity	Korrelationskoeffizient	-,153
		Sig. (2-seitig)	,332
		N	42

Tabelle 5: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAx-Messwerten und dem Aktivitätsstadium des SAF-Scores

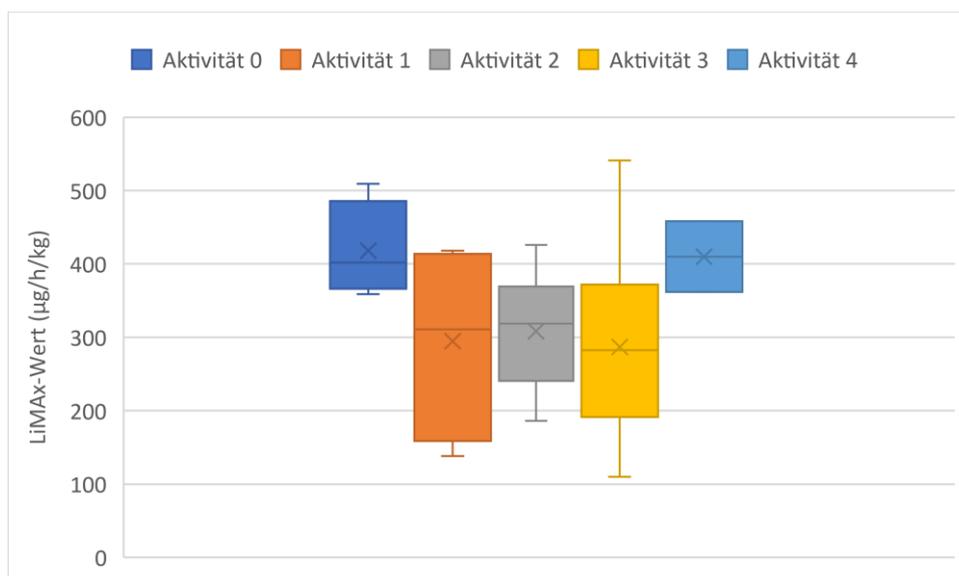


Abbildung 10: Darstellung der Verteilung der LiMAx-Messwerte der verschiedenen Aktivitätsstadien bei NAFLD-PatientInnen

Ergebnisse

4.2.3 Korrelation zwischen Steatose nach SAF und der Leberfunktionskapazität

Der Spearman-Korrelationskoeffizient zwischen dem Steatosegrad des SAF und der gemessenen Leberfunktionskapazität, gemessen mittels LiMAX belief sich auf $\rho = -0,131$ bei $p\text{-Wert} = 0,407$ ($n = 42$, $p > 0,05$). In der Gesamtschau zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen dem Grad der Steatose in der Leber und der Leberfunktionskapazität.

		LiMAX	Steatose
Spearman-Rho	LiMAX	Korrelationskoeffizient	1,000
		Sig. (2-seitig)	,407
		N	42
Steatose	LiMAX	Korrelationskoeffizient	-,131
		Sig. (2-seitig)	,407
		N	42

Tabelle 6: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAX-Messwerten und dem Steatosegrad des SAF-Scores



Abbildung 11: Darstellung der Verteilung der LiMAX-Messwerte der verschiedenen Steatoseausprägungen bei NAFLD PatientInnen

4.2.4 Korrelation zwischen dem klinischen Aktivitätsstadium nach SAF und FLIP-Algorithmus und der Leberfunktionskapazität

Die Untersuchung der Korrelation des klinischen Aktivitätsstadiums (keine Aktivität, NAFLD, NASH und Zirrhose) nach SAF und Anwendung des FLIP-Algorithmus und der Leberfunktionskapazität, gemessen mittels LiMAX ergab

Ergebnisse

einen Spearman-Korrelationskoeffizienten von $\rho=-0,518$ mit $p\text{-Wert}=0,002$ ($n=42$, $p<0,05$). Es konnte ein signifikanter Zusammenhang beobachtet werden. Zusammenfassend zeigte sich eine verminderte Leberfunktionskapazität bei NAFLD, NASH und vor allem ProbandInnen, denen histologisch eine Leberzirrhose nachgewiesen werden konnte.

		LiMAx	NAFLD Stadium
Spearman-Rho	LiMAx	Korrelationskoeffizient	1,000
		Sig. (2-seitig)	,002
		N	42
	NAFLD Stadium	Korrelationskoeffizient	-,518**
		Sig. (2-seitig)	,002
		N	34

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

Tabelle 7: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAx-Messwerten und dem klinischen Aktivitätsstadium nach SAF und Flip-Algorithmus

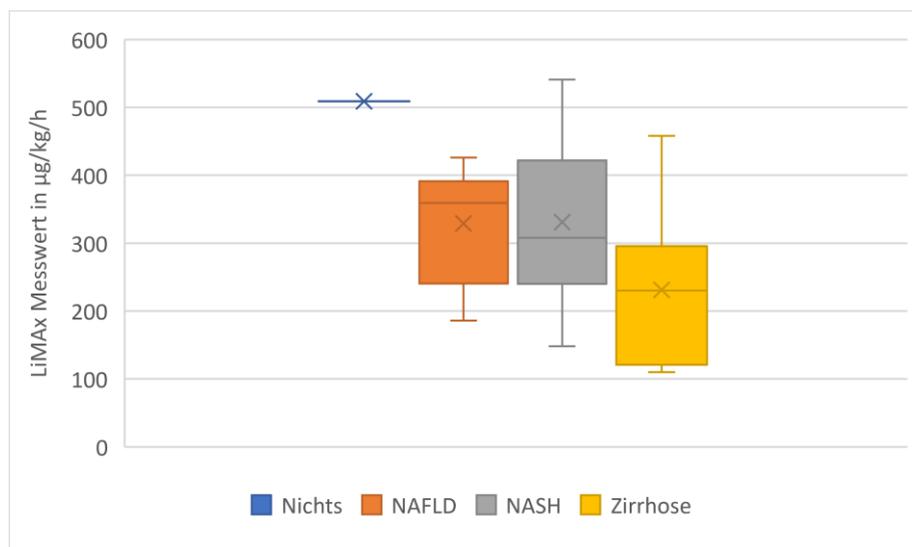


Abbildung 12: Darstellung der verschiedenen klinischen Stadien der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD, NASH, Zirrhose) nach SAF-Score und Flip-Algorithmus und Verteilung der LiMAx-Messwerte in $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$

4.2.5 Korrelation zwischen NAFLD-fibrosis Score und der Leberfunktionskapazität

Die Analyse der Korrelation des NAFLD-fibrosis Scores und der Leberfunktionskapazität, gemessen mittels LiMAx ergab einen Spearman-Korrelationskoeffizienten von $\rho=-0,514$ mit $p\text{-Wert}=0,000$ ($n=44$, $p<0,05$). Es

Ergebnisse

liegt somit eine signifikante Korrelation zwischen NAFLD-fibrosis Score und der Leberfunktionskapazität vor.

			LiMAx	NAFLD Fibrosis Score
Spearman-Rho	LiMAx	Korrelationskoeffizient	1,000	-,514**
		Sig. (2-seitig)	.	,000
		N	44	44
	NAFLD Fibrosis Score	Korrelationskoeffizient	-,514**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,000	.
		N	44	44

** . Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

Tabelle 8: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAx-Messwerten und dem NAFLD-fibrosis Score

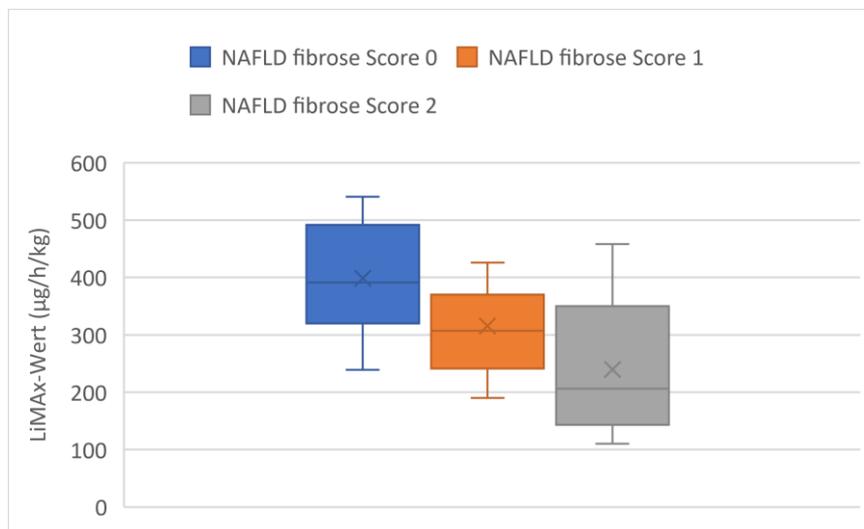


Abbildung 13: Darstellung der Verteilung der LiMAx-Messwerte der verschiedenen NAFLD-fibrose Score Stadien bei n=44

4.2.6 Korrelation zwischen APRI-Score und der Leberfunktionskapazität

Die Analyse der Korrelation des APRI-Scores und der Leberfunktionskapazität, gemessen mittels LiMAx ergab einen Spearman-Korrelationskoeffizienten von $\rho = -0,402$ mit $p\text{-Wert} = 0,007$ ($n = 44$, $p < 0,05$). Somit ergibt sich eine signifikante Korrelation zwischen APRI-Score und der Leberfunktionskapazität.

			LiMAx	APRI Score
Spearman-Rho	LiMAx	Korrelationskoeffizient	1,000	-,402**
		Sig. (2-seitig)	.	,007
		N	44	44

Ergebnisse

APRI Score	Korrelationskoeffizient	-,402**	1,000
	Sig. (2-seitig)	,007	.
	N	44	44

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

Tabelle 9: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAx-Messwerten und dem APRI-Score

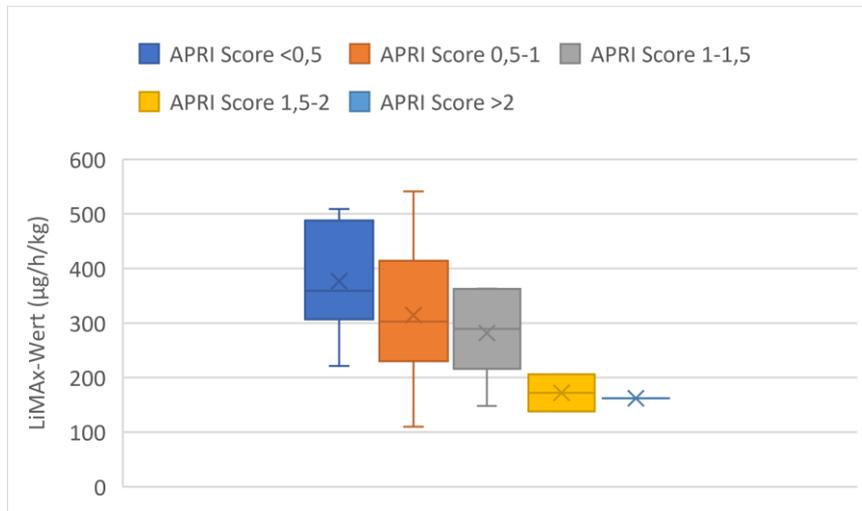


Abbildung 14: Darstellung der Verteilung der LiMAx-Messwerte der verschiedenen APRI-Scores (>2 Zirrhose, 1,5-2: signifikante Fibrose, 1-1,5 keine zuverlässige Aussage, 0,5-1 Zirrhose unwahrscheinlich, <0,5 Fibrose unwahrscheinlich) bei n=44

4.2.7 Korrelation zwischen FIB-4-Score und der Leberfunktionskapazität

Die Analyse der Korrelation des FIB-4-Scores und der Leberfunktionskapazität, gemessen mittels LiMAx ergab einen Spearman-Korrelationskoeffizienten von $\rho=-0,357$ mit $p\text{-Wert}=0,017$ ($n=44$, $p<0,05$).

		LiMAx		FIB-4
Spearman-Rho	LiMAx	Korrelationskoeffizient	1,000	-,357*
		Sig. (2-seitig)	.	,017
		N	44	44
FIB-4	FIB-4	Korrelationskoeffizient	-,357*	1,000
		Sig. (2-seitig)	,017	.
		N	44	44

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

Tabelle 10: Tabellarische Darstellung des Spearman-Korrelationskoeffizienten und der Signifikanz zwischen LiMAx-Messwerten und dem Fib-4 Score

Ergebnisse

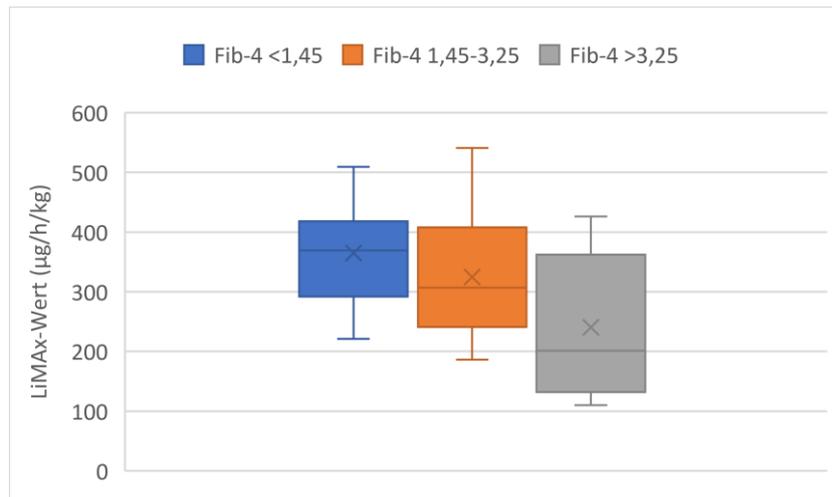


Abbildung 15: Darstellung der Verteilung der LiMAX-Messwerte auf die Fib-4 Stadien

4.3 ROC-Kurve zur Bewertung und Optimierung der Grenzwerte der LiMAX-Messwerte zum Erkrankungsstadium

4.3.1 Grenzwertoptimierung des LiMAX-Messwerts im Bezug zum histologischen Fibroestadium

Die Fläche unter der Kurve beträgt 0,723, sodass eine Klassifikation der Fibroestadien (F0-2 und F3-4) mithilfe der LiMAX-Messwerte möglich ist. Ein optimaler Schwellenwert, zur Differenzierung der Gruppen wurde mittels Youden-Index bestimmt. Hierbei wurde bei einem Youden-Index von 0,42 ein optimaler Schwellenwert im LiMAX-Messwert von 279,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ mit einer Sensitivität von 60% und einer Spezifität von 82% festgelegt. ProbandInnen, die einen Messwert $\leq 279,5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ erreichten, wurden zu den Fibroestadien F3-4 zugeteilt. ProbandInnen, die einen höheren Messwert erreichten, konnten dem Stadium F0-2 zugeordnet werden.

Diskussion

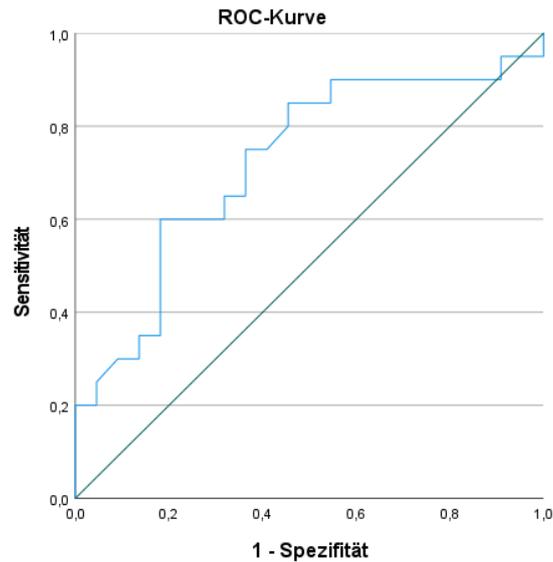


Abbildung 16: ROC-Kurve zur Bewertung und Optimierung des LiMAX-Messwertes, Fläche unter der Kurve: 0,723, Standardfehler 0,081, Asymptotische Signifikanz 0,014, Asymptotisches 95% Konfidenzintervall: Untergrenze 0,564 und Obergrenze 0,881

4.4 Multiple lineare Regression

	Standardisierte Koeffizienten	
	Beta	Sig.
(Konstante)		,000
Steatose	-,155	,296
Activity	,140	,407
Fibrose	-,519	,002

Tabelle 11: Darstellung der multiplen linearen Regression zwischen Steatose, Activity und Fibrose mit den LiMAX-Messwerten als abhängige Variable

Eine signifikante lineare Regression konnte nur für die Fibrose mit $p < 0,05$ und einem standardisierten Koeffizienten Beta von -0,519 gezeigt werden.

5 Diskussion

Durch die steigenden Prävalenzen der einzelnen Risikofaktoren der NAFLD, wie beispielsweise Adipositas, arterielle Hypertonie, Dyslipidämie, sowie auch die steigende Prävalenz des metabolischen Syndroms und die zunehmenden Fallzahlen der NAFLD-Erkrankten rückt die frühzeitige Diagnostik, sowie die Verlaufskontrolle der therapeutischen Behandlung der NAFLD/NASH immer

Diskussion

mehr in das Zentrum des Interesses. Je früher eine NAFDL erkannt wird, desto eher kann das Fortschreiten und die Entwicklung einer NASH oder Zirrhose verhindert und die Gesamtmortalität gesenkt werden (66, 68). Diese Diagnostik sollte möglichst kostengünstig und einfach durchzuführen sein. Der Goldstandard „Leberbiopsie“ ist aufgrund der Invasivität und des hohen klinischen Aufwandes nur begrenzt bei hohen Prävalenzzahlen durchführbar und daher nur bedingt für ein Screening oder Verlaufsbeobachtungen geeignet (75). Die Ultraschalluntersuchung ist eine einfache und kostengünstig durchführbare Untersuchung. Die weiteren bildgebenden Verfahren, wie Computertomografie und das MRT haben, wie oben erwähnt, andere deutliche Nachteile. Das CT geht mit einer Strahlenbelastung einher, wohingegen das MRT nicht immer und überall verfügbar ist. Vor allem bei adipösen PatientInnen weisen alle bildgebenden Verfahren Limitationen und eine geringe Aussagekraft auf (41). Zudem ist eine Differenzierung einer NAFLD von einer NASH lediglich mit Hilfe einer Biopsie und einer histologischen Beurteilung möglich (10).

Der LiMax-Test, als nichtinvasiver und einfach am Patientenbett durchführbarer Test, stellt eine Möglichkeit der Diagnostik und des Screenings im Bereich der NAFLD/NASH dar. In dieser Studie soll untersucht werden, ob die verschiedenen Stadien der Erkrankungsaktivität der NAFLD, aufgeteilt in NAFLD, NASH und Zirrhose die Leberfunktion, gemessen mit dem LiMax-Test, beeinflussen und inwieweit aus den Messwerten Rückschlüsse auf die Differenzierung des Erkrankungsstadiums gezogen werden können.

5.1 Prävalenzen

In dem vorliegenden Patientenkollektiv konnte bei 52,4% der ProbandInnen eine NAFLD durch histologische Bewertung nach SAF Score und Anwendung des Flip Algorithmus nachgewiesen werden. Bei 26,2% konnte eine NASH und bei 7,14% eine Leberzirrhose diagnostiziert werden. Die Prävalenz der NAFLD liegt global gesehen bei ca. 25% (1). Gesamt betrachtet liegt die Prävalenz der NAFLD in unserem Patientenkollektiv deutlich über den Angaben der weltweiten Prävalenz, was darauf zurückzuführen ist, dass die ProbandInnen, durch Teilnahme an der Sprechstunde der Leberambulanz in Mainz mit Verdacht auf NAFLD/NASH vorselektiert wurden. Die Prävalenz des

Diskussion

metabolischen Syndroms, welches in vielen Studien als Risikofaktor der Fettlebererkrankung bewertet wird (11, 13, 76) , wird in der Literatur mit 69-100% angegeben (22). 34-75% der NAFLD PatientInnen haben einen Diabetes mellitus Typ II und 20-81% leiden unter einer Hyperlipidämie (22). Diese Zahlen konnten auch in unserem Kollektiv bestätigt werden. Hier konnte bei 61,9% der PatientInnen ein Diabetes mellitus Typ II, sowie eine Dyslipidämie nachgewiesen werden. Ein metabolisches Syndrom konnte bei 78,6% der ProbandInnen der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Es handelt sich also insgesamt um eine vorselektierte, jedoch repräsentative Stichprobe einer NAFLD-Risikogruppe.

5.2 Zusammenhang des Fibrorestadiums, der Steatose und der Entzündungsaktivität mit der Leberfunktionskapazität

Durch die histologische Beurteilung konnte der Erkrankungsfortschritt im SAF-Score genau unterteilt werden. So war es möglich die einzelnen Komponenten der NAFLD/NASH zu differenzieren und den Steatosegrad, den Fibrosegad und die entzündliche Aktivität, sowie deren Einfluss auf die maximale Leberfunktionskapazität getrennt voneinander zu beurteilen. In der vorliegenden Studie konnte eine signifikante Korrelation zwischen dem Fibrorestadium und der Leberfunktionskapazität nachgewiesen werden. Hier konnte eine Korrelationskoeffizient von $\rho = -0,485$ bei zweiseitiger Signifikanz auf dem 0,01 Niveau gezeigt werden. Je höher das Fibrorestadium in der histologischen Beurteilung bewertet wurde, desto geringere Messwerte im LiMAx wurden erreicht. Dies spricht für eine verminderte enzymatische Leberfunktionskapazität des Cytochrom-P450-Systems, welches für die Verstoffwechslung des verabreichten ^{13}C -Methacetins verantwortlich ist. Auch andere Quellen zeigen deutlich den Zusammenhang zwischen der Leberfibrose und der Leberfunktion gemessen im LiMAx (75, 77). Hier konnte ein Korrelationskoeffizient nach Spearman von $\rho = -0,68$ bei einem $p < 0,0001$ gezeigt werden (75).

Bei Untersuchungen des CYP1A2-Metabolismus in fibrotischem Lebergewebe zeigte sich in vorherigen Studien eine deutlich verminderte Expression des

Diskussion

CYP1A2 Proteins. Im Vergleich zu gesundem Lebergewebe wurde eine signifikante Aktivitätsminderung des Metabolismus bei Leberfibrose nachgewiesen (78-81). Es konnte im Vergleich vom Fibrorestadium F1 zu F3 eine Aktivitätsminderung von ca. 50% gezeigt werden (79). Die Aktivitätsminderung des leberspezifischen Cytochrom-P450 CYP1A2 Metabolismus bei fortgeschrittener Leberfibrose und Leberzirrhose führt zu einer verminderten Leberfunktionskapazität, welche sich in niedrigen LiMAX-Messwerten widerspiegelt. Der Zusammenhang zwischen den LiMAX-Messwerten und dem Fibrorestadium wurde von uns weiter analysiert. Hierbei konnte eine Differenzierung einer leichten Fibrose (F0-2) von einer fortgeschrittenen Fibrose bis Zirrhose (F3-4) durch den LiMAX-Test bei einem Cut-off-Wert von 279,5 µg/kg/h, mit einer Sensitivität von 60% und einer Spezifität von 82% gezeigt werden. Auch in anderen Studien konnte bereits eine Abgrenzung der Fibrorestadien durch den LiMAX-Test vorgenommen werden (75, 77). Buechter et al. konnte bei einer Differenzierung der Fibrosegruppen in F1-2 und F3-4 bei einem Cut-off Wert von 322 µg/kg/h eine Sensitivität von 86,1% und eine Spezifität von 91,3% bei $p < 0,0001$ zeigen (82). Eine Kombination der Elastografie mit dem LiMAX zeigten mit einer Sensitivität von 88,9% und einer Spezifität von 84,6% die höchste diagnostische Genauigkeit bei der Erkennung einer Leberzirrhose (75). In den einzelnen Fibrorestadien (F0-4) gibt es jedoch große Streuungen und dadurch Überschneidungen der LiMAX-Messwerte, sodass eine fein differenzierte Klassifizierung der Fibrorestadien mit Hilfe des LiMAX-Tests allein womöglich nicht umsetzbar ist. Im Stadium F1 wurden Messwerte von 206-493 µg/kg/h erhoben. Das Stadium F2 umfasste Messwerte von 186-408 µg/kg/h und im Stadium F3 190-541 µg/kg/h. Allein in diesen Stadien gibt es deutliche Messwertüberschneidungen im Bereich von einer maximalen Leberfunktionskapazität von 186-408 µg/kg/h. Diese Überschneidungen konnten auch in der Studie von Buechter et al. im Jahr 2019 dargestellt werden (75). Hier wurden bei einer Probandenanzahl von $n=102$ für F0 eine Streuung von 381,0-592,5 µg/kg/h, für F1 343,0-547,0 µg/kg/h, für F2 250,0-394,0 µg/kg/h, für F3 262,0-364,0 µg/kg/h und für F4 130,0-256,5 µg/kg/h ermittelt. In der Gesamtschau zeigte sich sowohl in der vorliegenden Arbeit als auch in der

Diskussion

erwähnten Studie von Buechter et al., im arithmetischen Mittel als auch im Median ein deutlicher Abfall der Messwerte bei höheren Fibrosestadien.

Die Streuung und Überschneidung der Messwertbereiche sind möglicherweise durch „Sampling error/bias“ bedingt. Auch wenn die Leberbiopsie als Goldstandard in der Diagnostik der NAFLD angesehen wird, ist eine standardisierte Beschreibung in der Histologie, mit Angaben von validierten Scores nicht immer gewährleistet (40, 83). In der Histologie wird immer nur ein kleiner Ausschnitt der Leber betrachtet. So ist es beispielsweise möglich, dass eine eigentlich fortgeschrittene Fibrose auch als Fibrosegrad F2 oder eine frühe Zirrhose noch als F3 eingestuft wird. In den vorliegenden Daten könnte z.B. der LiMAx-Messwert von 186 µg/kg/h im Stadium F2 durch „sampling error/bias“ bedingt sein.

Eine fortschreitende Steatose der Leber und auch die entzündliche Aktivität bei der NASH scheint hingegen kaum Veränderungen im CYP1A2-Metabolismus zu bewirken. In der vorliegenden Arbeit konnte keine signifikante Korrelation der LiMAx-Messwerte zum Steatosegrad bzw. zur entzündlichen Aktivität gezeigt werden. Der Median der LiMAx-Messwerte bei Steatosegrad 3 ist im Vergleich zum Median bei weniger fortgeschrittener Steatose (S0-2) sichtlich vermindert. In einer Studie aus dem Jahr 2019 konnte in einer Kohorte mit stark übergewichtigen PatientInnen (BMI>35 kg/m²) die Differenzierung einer Steatohepatose von einer Steatohepatitis mittels LiMAx-Test gezeigt werden (84). Hier konnten sowohl signifikante Zusammenhänge zwischen dem Steatosegrad als auch der entzündlichen Aktivität mit der maximalen Leberfunktionskapazität gezeigt werden.

Die histologische Bewertung erfolgte bei Alizai et al. anhand des NAS. Die Kohorte in der vorliegenden Arbeit umfasst mit n=42 deutlich weniger ProbandInnen als in der vergleichbaren Studie (n=102). Darüber hinaus umfasst die Studie von Alizai et al. keine ProbandInnen im Fibrosestadium F4. Zudem handelt es sich bei der Vergleichsstudie um ein sehr stark vorselektiertes Kollektiv. Darüber hinaus sollte neben den einzelnen Korrelationen eine multivariable Analyse durchgeführt werden, denn PatientInnen mit einer stark ausgeprägten Steatose, könnten ebenso eine fortgeschrittene Fibrose zeigen, welche die Korrelation der Steatose und des LiMAx-Messwertes vortäuschen könnte. Die unterschiedlichen Ergebnisse sind

womöglich durch den Ausschluss der PatientInnen mit einer Leberzirrhose, das deutlich vorselektierte Patientenkollektiv und die fehlende multivariable Analyse zu begründen. Ein Einfluss des Steatosegrades auf den CYP1A2 Metabolismus und somit auf die maximale Leberfunktionskapazität wurde bisher nicht beschrieben.

5.3 Zusammenhang des Erkrankungsstadiums der NAFLD mit der Leberfunktionskapazität im LiMAx

Bei Anwendung des SAF-Scores und des Flip-Algorithmus haben wir das Stadium der Erkrankung ermittelt. Dieses wurde aufgeteilt in: Gesund, NAFLD, NASH und Leberzirrhose. Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Stadium und der maximalen Leberfunktionskapazität. Je weiter fortgeschritten die Erkrankung war, desto geringer waren die LiMAx-Messwerte. Jedoch ist hierbei zu berücksichtigen, dass der Fibrosegrad anteilig in den SAF-Score einfließt. Der Fibrosegrad zeigt in der vorliegenden Arbeit einen signifikanten Zusammenhang mit der maximalen Leberfunktionskapazität, wohingegen die Steatose und die Aktivität keine signifikante Korrelation zeigen konnten. Es ist davon auszugehen, dass die Fibrose die Kovariable des SAF-Scores darstellt, die für einen signifikanten Zusammenhang des Erkrankungsstadiums mit dem LiMAx sorgt.

In der multiplen linearen Regression zeigt die Fibrose im standardisierten Koeffizienten beta mit 0,519 einen deutlich größeren und einzig signifikanten Einfluss auf den LiMAx-Messwert. Die Steatose und auch die Aktivität zeigen keine signifikante Regression.

5.4 Zusammenhang der Laborscores mit der Leberfunktionskapazität im LiMAx

Die verschiedenen Laborscores zeigen einen signifikanten Zusammenhang zu den erhobenen LiMAx-Messwerten. Es zeigte sich ein negativer Korrelationskoeffizient zwischen dem APRI-Score und den LiMAx-Messwerten. Je wahrscheinlicher also eine Leberfibrose vorlag, desto eingeschränkter zeigte sich die Leberfunktionskapazität im LiMAx. Diese Beobachtung konnte ebenfalls für den NAFLD-Fibrose Score erfasst werden. Bei einem Score

Diskussion

>0,675, der eine fortgeschrittene Fibrose der Leber anzeigt, wurde im LiMAX eine verminderte maximale Leberfunktionskapazität festgestellt. Gleiches konnte für den Fib-4 Score festgestellt werden. PatientInnen mit einem Wert im Fib-4 Score, der mit hoher Wahrscheinlichkeit für eine fortgeschrittene Fibrose der Leber spricht, zeigten im LiMAX-Test eine eingeschränkte Leberfunktionskapazität. In vorangegangenen Studien zeigten sich ebenfalls signifikante Korrelationen zwischen den verschiedenen Laborscores und der Fibrose der Leber (52, 75, 85). Für den Fib-4 Score zeigten sich in den verschiedenen Studien die besten Ergebnisse für die Differenzierung zwischen einer milden Fibrose im Stadium F0-2 und einer fortgeschrittenen Fibrose im Stadium F3-4. Hier konnten AUROC-Werte von 0,82 (75) und 0,86 (85) erhoben werden. Folgend zeigten sich der NFS und der APRI-Score mit AUROC-Werten von 0,80 (86) und 0,81 (85) im NFS und im APRI-Score von 0,698 (75) und 0,67 (85). Insgesamt zeigte der AUROC-Wert zur Differenzierung zwischen F0-2 und F3-4 im LiMAX mit AUROC=0,841 in der Studie von Buechter et al. keine signifikanten Abweichungen gegenüber der Laborscores. Die nichtinvasiven Verfahren besitzen zur Differenzierung einer milden Fibrose und einer fortgeschrittenen Fibrose eine ähnliche Aussagekraft. Bei Differenzierung der Fibrosestadien F0-3 vs. F4 besitzt der LiMAX den höchsten AUROC-Wert mit AUROC=0,890 bei einem Cut-off von 249 µg/kg/h mit Sensitivität 75% und Spezifität von 89,02%. Gefolgt vom Fib-4 mit AUROC=0,859 und Sensitivität von 85% und Spezifität von 76,83% bei Cut-off von 2,83 (75). Zur Differenzierung zwischen leichter bis fortgeschrittener Fibrose und Zirrhose (F4) besitzt demnach der LiMAX-Test die höchste Aussagekraft.

5.5 Ausblick

In der Gesamtschau konnte in der vorliegenden Arbeit ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Leberfibrose und der Leberfunktionskapazität gezeigt werden. Diesen Zusammenhang konnten wir sowohl für den Goldstandard der Leberbiopsie als auch für die verschiedenen Laborscores bestätigen. Je fortgeschrittener die Fibrose, desto geringer zeigte sich die maximale Leberfunktionskapazität. Eine fortgeschrittene Fibrose ist der mortalitätsentscheidende Faktor (66) der NAFLD-Erkrankung. Ein deutlich fibrotisch umgebautes Lebergewebe geht mit einem erhöhten

Zusammenfassung

Dekompensationsrisiko und Sterblichkeit einher. Einzelne PatientInnen weisen auch mit einer Leberfibrose noch eine kompensierte gute Leberfunktionskapazität auf, andere haben im selben Fibrorestadium eine deutlich schlechtere Leistung des Lebermetabolismus. Da der LiMAX-Test die maximale Leberfunktionskapazität beurteilen und ebenfalls eine Differenzierung zwischen milder und fortgeschrittener Fibrose zeigen kann, kann möglicherweise auch eine Aussage zum Dekompensationsrisiko oder sogar des Mortalitätsrisikos des jeweiligen Patienten oder der Patientin getroffen werden. Im Zusammenhang mit PatientInnen mit Leberzirrhose zeigte sich in einer 90-tägigen Follow-up Studie eine höhere Sterblichkeit bei PatientInnen mit niedrigeren LiMAX-Messwerten (87). Die genauere Einschätzung des Dekompensationsrisikos anhand des LiMAX-Tests bei NAFLD sollte in weiteren Studien untersucht werden.

6 Zusammenfassung

Die nicht-alkoholische Fettleber ist eine der häufigsten chronischen Lebererkrankungen weltweit (1). Die Diagnose wird derzeit durch Laborscores, Elastografie und/oder Leberbiopsie ermittelt. Nur durch die Leberbiopsie kann man histologisch die NAFLD von der NASH unterscheiden. Bei den steigenden Prävalenzen ist die Leberbiopsie aufgrund ihrer Invasivität und des Aufwandes in der Durchführung nicht als Screeninginstrument geeignet. Auch andere klinische Diagnostika sind nur bedingt einsetzbar und haben einige limitierende Faktoren.

Ziel der vorliegenden Studie war es, einen Zusammenhang der Erkrankungsaktivität der NAFLD und der Leberfunktion zu untersuchen.

Im Rahmen der Studie wurden die Daten von 42 ProbandInnen ausgewertet. Hierbei wurden zwischen 2019 und 2021 erwachsene PatientInnen aus der Leberambulanz der Uniklinik Mainz mit dem Verdacht auf NAFLD rekrutiert. Diese wurden zur geplanten Leberbiopsie zur Differenzierung einer NAFLD/NASH vorstellig. Im Rahmen dieser Vorstellung wurden weitere anamnestische Daten, sowie körperliche, laborchemische und Daten der Leberfunktion durch die LiMAX-Messung erhoben.

Zusammenfassung

Eine NAFLD hatte im untersuchten Kollektiv eine Prävalenz von 52,4%, eine NASH von 26,2% und eine Leberzirrhose von 19%.

In der vorliegenden Arbeit konnte ein signifikanter Einfluss des Erkrankungsstadiums der Fettlebererkrankung auf die maximale Leberfunktionskapazität gezeigt werden. Je weiter fortgeschritten die Erkrankung war, desto geringere Messwerte wurden im LiMAx-Test ermittelt. Eine NAFLD wirkt sich demnach nicht so stark auf die maximale Leberfunktion aus wie eine fortgeschrittene Fibrose mit entzündlicher Aktivität im Rahmen einer NASH oder Zirrhose. Besonders die Abgrenzung einer leichten Fibrose von einer fortgeschritteneren Fibrose im Stadium 3-4 konnte in der Gesamtschau mit Hilfe des LiMAx getroffen werden. Mit einer Sensitivität von 60% und einer Spezifität von 82% kann durch den Test eine leichte Fibrose im Stadium F0-2 von einer fortgeschrittenen Fibrose im Stadium 3-4, bei einem Grenzwert von $<297,5\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ im LiMAx-Test differenziert werden. Eine genaue Abgrenzung einer NAFLD von einer NASH konnte durch den LiMAx-Test in dieser Arbeit nicht signifikant vorgenommen werden. Ein signifikanter Einfluss des Steatosegrades, sowie der Inflammation auf die Leberfunktion konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden. Es konnten keine Zusammenhänge zwischen der Ausprägung der Steatose und der maximalen Leberfunktionskapazität gezeigt werden. Ebenso scheint sich die entzündliche Aktivität der Erkrankung allein nicht signifikant auf die Leberfunktion auszuwirken.

Insgesamt bietet der LiMAx-Test, der bereits in anderen Bereichen der Medizin eingesetzt wird, eine gute Möglichkeit die maximale Leberfunktionskapazität bei PatientInnen mit NAFLD zu bewerten. Ebenso kann eine fortgeschrittene Schädigung der Leber durch Fibrose oder Zirrhose dargestellt werden. Eine genaue histologische Einteilung und Bewertung des Krankheitsfortschrittes im Hinblick auf Steatose, Inflammation und Fibrose, sowie eine Differenzierung zwischen NAFLD und NASH kann mittels LiMAx nicht erfolgen. Hier sollte weiterhin eine Leberbiopsie durchgeführt werden. Um eine genauere Risikostratifizierung der Fibrose der Leber durchzuführen, könnte der LiMAx-Test zusammen mit den bereits etablierten Laborscores oder der Elastografie kombiniert werden, sodass die Aussagekraft über die Schädigung der Leber verstärkt wird und als eine Entscheidungshilfe zur weiteren Diagnostik

Zusammenfassung

eingesetzt werden kann. Hier liefern allerdings sowohl der Fib-4 als auch der NFS Laborscore, als nicht-invasive Parameter mit negativen prädiktiven Werten von >90% (49, 52) möglicherweise in Kombination mit der VCTE bereits sehr valide Einschätzungen der fortgeschrittenen Fibrose der Leber. Sowohl die Laborscores als auch die VCTE finden neben der Leberbiopsie im klinischen Alltag bereits Anwendung. Sie werden im diagnostischen Algorithmus der aktuellen Leitlinien für NAFLD im klinischen Alltag empfohlen (51). Der LiMAX-Test findet aktuell keine Verwendung in der klinischen Diagnostik oder zum Screening der NAFLD.

Die vorliegende Studie konnte eine Kausalität zwischen der Krankheitsaktivität der NAFLD mit der maximalen Leberfunktionskapazität nachweisen. In vorangegangenen Studien konnten nicht nur Zusammenhänge zwischen Fibrose und Leberfunktion, sondern auch zwischen Steatose und Inflammation mit der Leberfunktion dargelegt werden. Ebenso konnte in ergänzenden Studien ein Zusammenhang von einer verminderten maximalen Leberfunktionskapazität mit einer erhöhten Sterblichkeit bei PatientInnen mit einer Leberzirrhose gezeigt werden.

Die hier vorliegenden Daten haben auf Grund der geringen Fallzahl (n=42) möglicherweise keine ausreichende Power erzeugt, sodass der Zusammenhang zwischen Steatose und Leberfunktion, sowie Inflammation und Leberfunktion nicht dargestellt werden konnte. Die Durchführung weiterer Studien mit höheren Fallzahlen könnten womöglich eine dementsprechende Kausalität zeigen. Insgesamt ist der LiMAX-Test bisher nur in Kombination mit anderen nichtinvasiven Diagnostika ausreichend aussagekräftig, könnte aber in anderen Bereichen, wie beispielsweise der Risikoeinschätzung der Sterblichkeit, klinische Anwendung finden. Hierzu sollten weitere Daten erhoben werden.

7 Literaturverzeichnis

1. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73-84.
2. Younossi ZM, Stepanova M, Afendy M, Fang Y, Younossi Y, Mir H, et al. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988 to 2008. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011;9(6):524-30 e1; quiz e60.
3. Sheka AC, Adeyi O, Thompson J, Hameed B, Crawford PA, Ikramuddin S. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Review. *Jama*. 2020;323(12):1175-83.
4. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, Perumpail RB, Harrison SA, Younossi ZM, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology*. 2015;148(3):547-55.
5. Charlton MR, Burns JM, Pedersen RA, Watt KD, Heimbach JK, Dierkhising RA. Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology*. 2011;141(4):1249-53.
6. Murphy SL, Xu J, Kochanek KD, Arias E, Tejada-Vera B. Deaths: Final Data for 2018. *Natl Vital Stat Rep*. 2021;69(13):1-83.
7. Kochanek KD, Murphy SL, Xu J, Arias E. Deaths: Final Data for 2017. *Natl Vital Stat Rep*. 2019;68(9):1-77.
8. Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, Sanyal AJ. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med*. 2018;24(7):908-22.
9. Naga Chalasani ZY, Joel E Lavine, Michael Charlton , Kenneth Cusi, Mary Rinella , Stephen A Harrison, Elizabeth M Brunt, Arun J Sanyal The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018;67, No. 1.
10. Bedossa P. Diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: Why liver biopsy is essential. *Liver Int*. 2018;38 Suppl 1:64-6.
11. Iqbal U, Perumpail BJ, Akhtar D, Kim D, Ahmed A. The Epidemiology, Risk Profiling and Diagnostic Challenges of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Medicines (Basel)*. 2019;6(1).
12. Younossi ZM, Blissett D, Blissett R, Henry L, Stepanova M, Younossi Y, et al. The economic and clinical burden of nonalcoholic fatty liver disease in the United States and Europe. *Hepatology*. 2016;64(5):1577-86.
13. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(1):11-20.
14. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34(3):274-85.
15. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018;67(1):328-57.

16. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*. 2004;40(6):1387-95.
17. Estes C, Anstee QM, Arias-Loste MT, Bantel H, Bellentani S, Caballeria J, et al. Modeling NAFLD disease burden in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, United Kingdom, and United States for the period 2016-2030. *J Hepatol*. 2018;69(4):896-904.
18. Weiß J, Rau M, Geier A. Non-alcoholic fatty liver disease: epidemiology, clinical course, investigation, and treatment. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2014;111(26):447.
19. Bahar A, Kashi Z, Kheradmand M, Hedayatizadeh-Omran A, Moradinazar M, Ramezani F, et al. Prevalence of metabolic syndrome using international diabetes federation, National Cholesterol Education Panel- Adult Treatment Panel III and Iranian criteria: results of Tabari cohort study. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2020;19(1):205-11.
20. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J, Group IDFETFC. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet*. 2005;366(9491):1059-62.
21. Kim CH, Younossi ZM. Nonalcoholic fatty liver disease: a manifestation of the metabolic syndrome. *Cleve Clin J Med*. 2008;75(10):721-8.
22. Sunil G, Sheth FDG, and Sanjiv Chopra. Nonalcoholic Steatohepatitis: Reply. *Annals of Internal Medicine*. 1997;127(5):411.
23. Paternostro R, Staufer K, Traussnigg S, Stattermayer AF, Halilbasic E, Keritam O, et al. Combined effects of PNPLA3, TM6SF2 and HSD17B13 variants on severity of biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Int*. 2021.
24. Ting YW, Kong AS, Zain SM, Chan WK, Tan HL, Mohamed Z, et al. Loss-of-function HSD17B13 variants, non-alcoholic steatohepatitis and adverse liver outcomes: results from a multi-ethnic Asian cohort. *Clin Mol Hepatol*. 2021.
25. Wang P, Wu CX, Li Y, Shen N. HSD17B13 rs72613567 protects against liver diseases and histological progression of nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24(17):8997-9007.
26. Safari Z, Gerard P. The links between the gut microbiome and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Cell Mol Life Sci*. 2019;76(8):1541-58.
27. Boursier J, Mueller O, Barret M, Machado M, Fizanne L, Araujo-Perez F, et al. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology*. 2016;63(3):764-75.
28. Patt M, Massier L, Kovacs P, Blüher M, Chakaroun R. Erhöhte Darmpermeabilität: Pathomechanismus für metabolische Erkrankungen? *Der Diabetologe*. 2021;17(4):382-90.
29. Arab JP, Arrese M, Trauner M. Recent Insights into the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Annu Rev Pathol*. 2018;13:321-50.
30. Cusi K. Role of obesity and lipotoxicity in the development of nonalcoholic steatohepatitis: pathophysiology and clinical implications. *Gastroenterology*. 2012;142(4):711-25 e6.
31. Hirsova P, Ibrahim SH, Gores GJ, Malhi H. Lipotoxic lethal and sublethal stress signaling in hepatocytes: relevance to NASH pathogenesis. *J Lipid Res*. 2016;57(10):1758-70.

32. Mota M, Banini BA, Cazanave SC, Sanyal AJ. Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016;65(8):1049-61.
33. Neuschwander-Tetri BA. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites. *Hepatology*. 2010;52(2):774-88.
34. Lomonaco R, Ortiz-Lopez C, Orsak B, Webb A, Hardies J, Darland C, et al. Effect of adipose tissue insulin resistance on metabolic parameters and liver histology in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2012;55(5):1389-97.
35. Pal M, Febbraio MA, Lancaster GI. The roles of c-Jun NH2-terminal kinases (JNKs) in obesity and insulin resistance. *J Physiol*. 2016;594(2):267-79.
36. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzenberg SJ, Jessurun J, Boldt MD, Parks EJ. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. 2005;115(5):1343-51.
37. Bedossa P, Poitou C, Veyrie N, Bouillot JL, Basdevant A, Paradis V, et al. Histopathological algorithm and scoring system for evaluation of liver lesions in morbidly obese patients. *Hepatology*. 2012;56(5):1751-9.
38. Bedossa P, Consortium tFP. Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2014;60(2):565-75.
39. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology*. 2011;53(3):810-20.
40. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;41(6):1313-21.
41. Ooi GJ, Earnest A, Kemp WW, Burton PR, Laurie C, Majeed A, et al. Evaluating feasibility and accuracy of non-invasive tests for nonalcoholic fatty liver disease in severe and morbid obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2018;42(11):1900-11.
42. Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E, et al. Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: a meta-analysis. *Hepatology*. 2011;54(3):1082-90.
43. Younossi ZM, Loomba R, Anstee QM, Rinella ME, Bugianesi E, Marchesini G, et al. Diagnostic modalities for nonalcoholic fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, and associated fibrosis. *Hepatology*. 2018;68(1):349-60.
44. Eddowes PJ, Sasso M, Allison M, Tsochatzis E, Anstee QM, Sheridan D, et al. Accuracy of FibroScan Controlled Attenuation Parameter and Liver Stiffness Measurement in Assessing Steatosis and Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2019;156(6):1717-30.
45. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis - 2021 update. *J Hepatol*. 2021;75(3):659-89.

46. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43(6):1317-25.
47. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*. 2007;45(4):846-54.
48. Nakano M, Murohisa T, Imai Y, Hiraishi H. [Validity of the NAFLD fibrosis score in a Japanese population]. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi*. 2012;109(5):751-9.
49. Treeprasertsuk S, Björnsson E, Enders F, Suwanwalaikorn S, Lindor KD. NAFLD fibrosis score: a prognostic predictor for mortality and liver complications among NAFLD patients. *World J Gastroenterol*. 2013;19(8):1219-29.
50. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38(2):518-26.
51. Roeb E CA, Bantel H, Bojunga J, de Laffolie J, Demir M, Denzer UW, Geier A, Hofmann WP, Hudert C, Karlas T, Krawczyk M, Longerich T, Luedde T, Roden M, Schattenberg J, Sterneck M, Tannapfel A, Lorenz P, Tacke F. Aktualisierte S2k-Leitlinie nicht-alkoholische Fettlebererkrankung der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS): AWMF online; 2022 [Available from: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/021-025l_S2k_-NAFLD-Nicht-alkoholische-Fettlebererkrankungen_2022-04.pdf]
52. Shah AG, Lydecker A, Murray K, Tetri BN, Contos MJ, Sanyal AJ. Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7(10):1104-12.
53. Vilar-Gomez E, Martinez-Perez Y, Calzadilla-Bertot L, Torres-Gonzalez A, Gra-Oramas B, Gonzalez-Fabian L, et al. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2015;149(2):367-78.e5; quiz e14-5.
54. van der Windt DJ, Sud V, Zhang H, Tsung A, Huang H. The Effects of Physical Exercise on Fatty Liver Disease. *Gene Expr*. 2018;18(2):89-101.
55. Romero-Gómez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J Hepatol*. 2017;67(4):829-46.
56. Courcoulas AP, Christian NJ, Belle SH, Berk PD, Flum DR, Garcia L, et al. Weight change and health outcomes at 3 years after bariatric surgery among individuals with severe obesity. *Jama*. 2013;310(22):2416-25.
57. Corcoran C, Jacobs TF. Metformin. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.
58. Stumvoll M, Häring HU. Glitazones: clinical effects and molecular mechanisms. *Ann Med*. 2002;34(3):217-24.
59. Cusi K, Orsak B, Bril F, Lomonaco R, Hecht J, Ortiz-Lopez C, et al. Long-Term Pioglitazone Treatment for Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis and Prediabetes or Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Trial. *Ann Intern Med*. 2016;165(5):305-15.
60. Musso G, Cassader M, Paschetta E, Gambino R. Thiazolidinediones and Advanced Liver Fibrosis in Nonalcoholic Steatohepatitis: A Meta-analysis. *JAMA Intern Med*. 2017;177(5):633-40.

61. Croom KF, McCormack PL. Liraglutide: a review of its use in type 2 diabetes mellitus. *Drugs*. 2009;69(14):1985-2004.
62. Saisho Y. SGLT2 Inhibitors: the Star in the Treatment of Type 2 Diabetes? *Diseases*. 2020;8(2).
63. Kuchay MS, Krishan S, Mishra SK, Farooqui KJ, Singh MK, Wasir JS, et al. Effect of Empagliflozin on Liver Fat in Patients With Type 2 Diabetes and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Controlled Trial (E-LIFT Trial). *Diabetes Care*. 2018;41(8):1801-8.
64. Klein EA, Thompson IM, Jr., Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *Jama*. 2011;306(14):1549-56.
65. Schürks M, Glynn RJ, Rist PM, Tzourio C, Kurth T. Effects of vitamin E on stroke subtypes: meta-analysis of randomised controlled trials. *Bmj*. 2010;341:c5702.
66. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, Fredrikson M, Stål P, Kechagias S, et al. Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. *Hepatology*. 2015;61(5):1547-54.
67. Bataller R, Rombouts K, Altamirano J, Marra F. Fibrosis in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2011;25(2):231-44.
68. Sanyal AJ, Van Natta ML, Clark J, Neuschwander-Tetri BA, Diehl A, Dasarathy S, et al. Prospective Study of Outcomes in Adults with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med*. 2021;385(17):1559-69.
69. Sanyal AJ, Harrison SA, Ratziu V, Abdelmalek MF, Diehl AM, Caldwell S, et al. The Natural History of Advanced Fibrosis Due to Nonalcoholic Steatohepatitis: Data From the Simtuzumab Trials. *Hepatology*. 2019;70(6):1913-27.
70. Rubin TM, Heyne K, Luchterhand A, Jan B, F WRV, Polychronidis G, et al. Kinetic validation of the LiMAX test during 10 000 intravenous (¹³C)-methacetin breath tests. *J Breath Res*. 2017;12(1):016005.
71. Stockmann M. Wertigkeit eines neu entwickelten Verfahrens zur Bestimmung der Leberfunktion in der Leberchirurgie (LiMAX-Test) [Habilitationsschrift]: Universitätsmedizin Berlin; 2009
72. Kasicka-Jonderko A, Loska D, Jonderko K, Kaminska M, Błonska-Fajfrowska B. Interference of acute cigarette smoking with [¹³C]methacetin breath test. *Isotopes Environ Health Stud*. 2011;47(1):34-41.
73. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Niehues SM, Seehofer D, Neuhaus P. The LiMAX test: a new liver function test for predicting postoperative outcome in liver surgery. *HPB (Oxford)*. 2010;12(2):139-46.
74. Jara M, Bednarsch J, Valle E, Lock JF, Malinowski M, Schulz A, et al. Reliable assessment of liver function using LiMAX. *J Surg Res*. 2015;193(1):184-9.
75. Buechter M, Thimm J, Baba HA, Bertram S, Willuweit K, Gerken G, et al. Liver Maximum Capacity: A Novel Test to Accurately Diagnose Different Stages of Liver Fibrosis. *Digestion*. 2019;100(1):45-54.
76. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. 2003;37(4):917-23.
77. Stockmann M, Lock J, Malinowski M, Scharfenberg A, Morawietz L, Neuhaus P. 1073 ACCURATE DIAGNOSIS AND GRADING OF CIRRHOSIS USING THE NEW LIMAX TEST. *Journal of Hepatology*. 2012;56:S422.

78. Heucke N. Untersuchung molekularer und strukturell-mechanischer Lebergewebeeigenschaften zur Verbesserung der diagnostischen Wertigkeit eines ¹³C-Leberfunktionstests. Berlin: Charité – Universitätsmedizin Berlin; 2020.
79. Hanada K, Nakai K, Tanaka H, Suzuki F, Kumada H, Ohno Y, et al. Effect of nuclear receptor downregulation on hepatic expression of cytochrome P450 and transporters in chronic hepatitis C in association with fibrosis development. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2012;27(3):301-6.
80. Nakai K, Tanaka H, Hanada K, Ogata H, Suzuki F, Kumada H, et al. Decreased expression of cytochromes P450 1A2, 2E1, and 3A4 and drug transporters Na⁺-taurocholate-cotransporting polypeptide, organic cation transporter 1, and organic anion-transporting peptide-C correlates with the progression of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Drug Metab Dispos.* 2008;36(9):1786-93.
81. Prasad B, Bhatt DK, Johnson K, Chapa R, Chu X, Salphati L, et al. Abundance of Phase 1 and 2 Drug-Metabolizing Enzymes in Alcoholic and Hepatitis C Cirrhotic Livers: A Quantitative Targeted Proteomics Study. *Drug Metab Dispos.* 2018;46(7):943-52.
82. Buechter M, Kersting S, Gerken G, Kahraman A. Enzymatic liver function measured by LiMAX - a reliable diagnostic and prognostic tool in chronic liver disease. *Sci Rep.* 2019;9(1):13577-.
83. Stauber R. Nichtinvasive Diagnostik bei nichtalkoholischer Fettlebererkrankung (NAFLD). *Journal für Gastroenterologische und Hepatologische Erkrankungen.* 2019;17(3):75-81.
84. Alizai PH, Lurje I, Kroh A, Schmitz S, Luedde T, Andruszkow J, et al. Noninvasive Evaluation of Liver Function in Morbidly Obese Patients. *Gastroenterol Res Pract.* 2019;2019:4307462.
85. McPherson S, Stewart SF, Henderson E, Burt AD, Day CP. Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut.* 2010;59(9):1265-9.
86. Staufer K, Halilbasic E, Spindelboeck W, Eilenberg M, Prager G, Stadlbauer V, et al. Evaluation and comparison of six noninvasive tests for prediction of significant or advanced fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *United European Gastroenterol J.* 2019;7(8):1113-23.
87. Jara M, Malinowski M, Lüttgert K, Schott E, Neuhaus P, Stockmann M. Prognostic value of enzymatic liver function for the estimation of short-term survival of liver transplant candidates: a prospective study with the LiMAX test. *Transpl Int.* 2015;28(1):52-8.